
CONJUGADOS QUE COMPRENDEN FÓSFORO (V) Y UNA FRACCIÓN MOLECULAR DE DROGA

REFERENCIA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[001] La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Europea de Patentes N° 21207195.5 presentada el 9 de noviembre de 2021, cuyo contenido está incorporado a la presente como referencia en su totalidad para todos los propósitos

CAMPO TÉCNICO

[002] La presente invención se relaciona con conjugados de una molécula que se une a receptores con una fracción molecular de droga, intermediarios para preparar los mismos, métodos para preparar los mismos, composiciones farmacéuticas que los comprenden, así como usos de los mismos.

ANTECEDENTES

[003] Brentuximab vedotina (marca registrada Adcetris®) es un conjugado anticuerpo-droga que ha sido aprobado para uso médico en 2011. Brentuximab Vedotina consiste en el brentuximab, componente de anticuerpo IgG1 quimérico con diana en un tumor y un enlazador- componente de carga útil que comprende la fracción molecular monometil auristatina E de carga útil, la cual induce apoptosis por suministro intracelular y liberación.

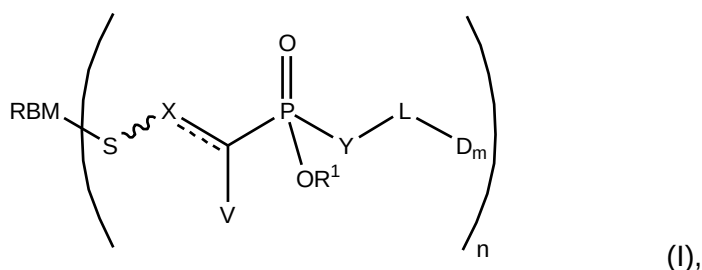
[004] Sin embargo, aunque Brentuximab vedotina es un ADC (conjugado de anticuerpo droga por sus siglas en inglés), aprobado y comercializado, permanecen ciertos inconvenientes. Como ejemplo, se ha demostrado que en el caso del brentuximab vedotina el número de moléculas de droga que pueden unirse al anticuerpo está sujeto a ciertas limitaciones; ver por ej., Hamblett et al., *"Effects of Drug Loading on the Antitumor Activity of a Monoclonal Antibody Drug Conjugate"*, Clinical Cancer Research vol. 10, págs.7063 a 7070, Octubre 15, 2004, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0789>. Los desarrollos incluyen, por e j., variación del enlazador que conecta el anticuerpo con la carga útil, y la introducción de un sustituyente polietilenglicol; ver, por ej., Lyon et al., *"Reducing hydrophobicity of homogeneous antibody-drug conjugates improves pharmacokinetics y therapeutic index"*, Nature Biotechnology volumen 33, págs. 733-735 (2015), doi: 10.1038/nbt.3212; WO 2015/057699 ; Burke et al., *"Optimization of a PEGylated Glucuronide-Monomethylauristatina E Linker for Antibody-Drug Conjugates"*, Molecular Cancer Therapeutics 2017, 16(1), 116-123, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0343; y Simmons et al., *"Reducing the antigen-independent toxicity of antibody-drug conjugates by minimizing their non-specific clearance through*

[005] En consecuencia, existe aún una necesidad de conjugados adicionales que tengan buenas propiedades para aplicaciones farmacéuticas.

RESUMEN

[006] Esta necesidad es encarada por el objeto como se define en las reivindicaciones y en las formas de realización descriptas en la presente.

[007] En concordancia, la presente invención se relaciona con un conjugado que tiene la fórmula (I):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

RBM es una molécula de unión a receptor;

es un doble enlace; o

es un enlace;

V está ausente cuando es un doble enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un enlace;

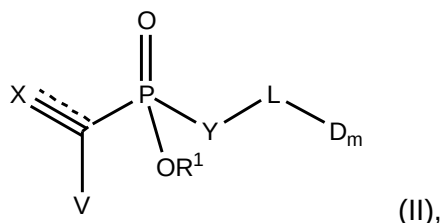
X es R₃-C cuando es un doble enlace; o

X es $\begin{matrix} R_4 \\ | \\ R_3-C \end{matrix}$ cuando es un enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

- R^1 es una primera unidad R^F de polialquilenglicol que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;
- R^3 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^4 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^5 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^6 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^7 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción molecular de droga;
- m es un entero en el rango de 1 a 10; y
- n es un entero en el rango de 1 a 20.

[008] La presente invención también se relaciona con un compuesto que tiene la fórmula (II):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:



es un triple enlace; o



es un doble enlace;

V está ausente cuando es un triple enlace; o

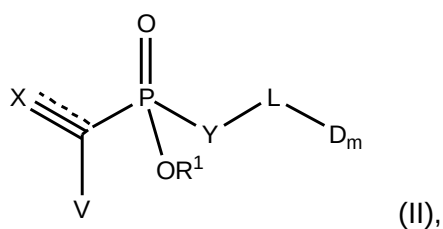
V es H o (C_1-C_8) alquilo cuando es un doble enlace;

X es R_3-C cuando es un enlace triple; o

- X es $\text{R}_3-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}$ cuando  es un enlace doble;
- Y es NR^5 , S, O, o CR^6R^7 ;
- R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;
- R^3 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^4 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^5 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^6 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^7 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción molecular de droga; y
- m es un entero en el rango de 1 a 10.

[009] La presente invención también se relaciona con un método de preparación de un conjugado de la fórmula (I), comprendiendo dicho método:

hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

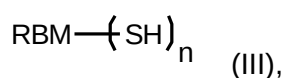
en donde:

 es un triple enlace; o

 es un doble enlace;

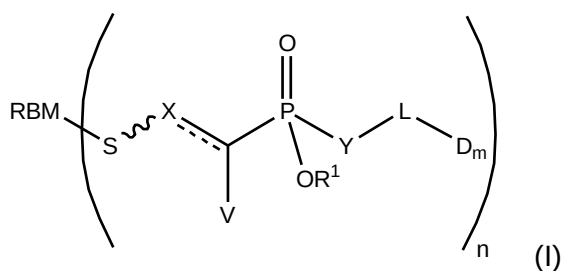
- V está ausente cuando  es un triple enlace; o
- V es H o (C₁-C₈)alquilo cuando  es un doble enlace;
- X es R₃-C cuando  es un enlace triple; o
- X es $\text{R}_3-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}$ cuando  es un doble enlace;
- Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;
- R¹ es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;
- R³ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁴ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁵ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁶ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁷ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción molecular de droga; y
- m es un entero en el rango de 1 a 10;

con una molécula que contiene tioles de la fórmula (III)



en donde RBM es una molécula de unión a receptor; y
n es un entero en el rango de 1 a 20;

dando como resultado un compuesto de la fórmula (I)



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

es un doble enlace cuando en un compuesto de la fórmula (II) es un triple enlace; o

es un enlace cuando en un compuesto de la fórmula (II) es un doble enlace;

V está ausente cuando es un doble enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un enlace;

X es R₃-C cuando es un enlace doble; o

X es $\begin{matrix} R_4 \\ | \\ R_3-C \end{matrix}$ cuando es un enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

R¹ es una primera unidad R^F de polialquilenglicol que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;

R³ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁴ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁵ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁶ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

- R⁷ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción molecular de droga;
- m es un entero en el rango de 1 a 10; y
- n es un entero en el rango de 1 a 20.

[0010] La presente invención también se relaciona con un conjugado de la fórmula (I) obtenible u obtenido mediante un método de la invención.

[0011] La presente invención también se relaciona con una composición farmacéutica que comprende un conjugado de la invención.

[0012] La presente invención también se relaciona con un conjugado de la invención para uso en un método de tratamiento de una enfermedad. La enfermedad puede ser cáncer.

[0013] La presente invención también se relaciona con una composición farmacéutica de la invención para uso en un método de tratamiento de una enfermedad. La enfermedad puede ser cáncer.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0014] La **Figura 1** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto 4-azido-2-(dodecaetilenglicol)benzoato de metilo. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0015] La **Figura 2** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto 4-azido-2-(dodecaetilenglicol)benzoato de metilo. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0016] La **Figura 3** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12)-COOH.

[0017] La **Figura 4** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24)-OSu. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0018] La **Figura 5** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12,PEG24)-COOH. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0019] La **Figura 6** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24,PEG24)-COOH. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0020] La **Figura 7** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto sal de NH₂-VC-PAB-MMAE TFA. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0021] La **Figura 8** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0022] La **Figura 9** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0023] La **Figura 10** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[0024] La **Figura 11** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12,PEG24)-VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0025] La **Figura 12** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24,PEG24)-VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

[0026] La **Figura 13** muestra un cromatograma de SEC analítica de Trastuzumab. SEC significa cromatografía por exclusión de tamaños.

[0027] La **Figura 14** muestra un cromatograma de HIC analítica de Trastuzumab. HIC significa cromatografía de interacción hidrófoba.

[0028] La **Figura 15** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab.

[0029] La **Figura 16** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab.

[0030] La **Figura 17** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0031] La **Figura 18** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0032] La **Figura 19** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR4).

[0033] La **Figura 20** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE(DAR8).

[0034] La **Figura 21** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0035] La **Figura 22** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG12, PEG24)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0036] La **Figura 23** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG12, PEG24)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0037] La **Figura 24** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG24, PEG24)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0038] La **Figura 25** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG24, PEG24)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0039] La **Figura 26** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF (DAR8).

[0040] La **Figura 27** muestra un cromatograma de SEC analítica de Trastuzumab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR8).

[0041] La **Figura 28** muestra un cromatograma de HIC analítica de Trastuzumab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE(DAR8).

[0042] La **Figura 29** muestra un cromatograma de SEC analítica de Trastuzumab - P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF(DAR8).

[0043] La **Figura 30** muestra un cromatograma de HIC analítica de Trastuzumab - P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF(DAR8).

[0044] La **Figura 31** muestra un experimento de detección para identificar las condiciones óptimas para las modificaciones de anticuerpos con fosfonoamidatos PEGilados. Se ha medido la Proporción Droga a Anticuerpo (DAR, por sus siglas en inglés) mediante MS. Gráfico de la izquierda: se han utilizado 10 eq. de P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE bajo las condiciones anteriormente establecidas y se variaron los equivalentes de TCEP. Se alcanzó un grado máximo de modificación con 8 equivalentes de TCEP. Gráfico de la derecha: Aquellos 8 equivalentes han sido llevados a un segundo experimento en el cual los equivalentes de P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE se aumentaron adicionalmente a fin de alcanzar un máximo DAR de 8. Se identificaron las condiciones óptimas para lograr DAR8 como 8 eq. de TCEP y 12 eq. de P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE con respecto al anticuerpo (= solo 1,5 eq. por Cys).

[0045] La **Figura 32** muestra un Cromatografía de Interacción Hidrófoba de Brentuximab conjugado a P5(PEG2)-, P5(PEG12)- y P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE en comparación directa con Adcetris comercialmente disponible (Brentuximab-Maleimidocapril-VC-PAB-MMAE, DAR4av, negro).

[0046] La **Figura 33** muestra una Cromatografía de Interacción Hidrófoba de Brentuximab conjugado a P5(PEG24,PEG12)-, P5(PEG24,PEG24)- y P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE en comparación directa con Adcetris comercialmente disponible (Brentuximab-Maleimidocapril-VC-PAB-MMAE, DAR4av, negro). # Picos adicionales no identificados.

[0047] La **Figura 34** muestra una Cromatografía analítica por exclusión de tamaño (SEC) (izquierda) y HIC (derecha) después de almacenamiento de un Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE de DAR 8 a lo largo de varias semanas. No hay agregados visibles en el SEC y no hay pérdida de droga en la HIC.

[0048] La **Figura 35** muestra la citotoxicidad *in vitro* de ADCs de Brentuximab (anti-CD30) sobre una línea celular antígeno positiva (Karpas 299, izquierda) y una línea celular antígeno negativa (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de 3 diferentes ADC de DAR8 que

solo difieren en la longitud del sustituyente PEG (PEG2 vs. PEG12 vs. PEG24) contra Brentuximab no modificado

[0049] La **Figura 36** muestra la citotoxicidad *in vitro* de ADCs de Brentuximab (anti-CD30) sobre una línea celular antígeno positiva (Karpas 299, izquierda) y una línea celular antígeno negativa (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE (DAR8) contra Adcetris comercial (DAR4).

[0050] La **Figura 37** muestra citotoxicidad *in vitro* de ADCs de Brentuximab (anti-CD30) sobre una línea celular antígeno positiva (Karpas 299, izquierda) y una línea celular antígeno negativa (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE, modificado con ya sea 4 (DAR4) o 8 (DAR8) moléculas de enlazador carga útil por anticuerpo.

[0051] La **Figura 38** muestra la citotoxicidad *in vitro* de ADCs de Brentuximab (anti-CD30) sobre una línea celular antígeno positiva (Karpas 299, izquierda) y una línea celular antígeno negativa (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR8) versus el mismo constructo, que lleva una carga útil de MMAF.

[0052] La **Figura 39** muestra la citotoxicidad *in vitro* de ADCs de Trastuzumab (anti-Her2) sobre una línea celular antígeno positiva (SKBR3, izquierda) y una línea celular antígeno negativa (MDAMB, derecha). Se muestra una comparación de Trastuzumab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF (DAR8) versus Trastuzumab no modificado.

[0053] La **Figura 40** muestra la evaluación del efecto espectador (bystander) dependiendo de constructos de Brentuximab-P5-VC-PAB-MMAE PEGilados de diferentes maneras. Arriba: citotoxicidad *in vitro* de ADCs de Brentuximab (anti-CD30) sobre dos líneas celulares antígeno positivas (Karpas 299, izquierda y L-540, derecha) y una línea celular antígeno negativa (HL-60, abajo a la izquierda). Se ha realizado transferencia del sobrenadante después de incubación de L-540 con los ADCs a HL-60 a fin de evaluar la muerte de las espectadoras (HL60, abajo derecha).

[0054] La **Figura 41** muestra la evaluación *in vivo* de Brentuximab-(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR8 y DAR4), Adcetris (DAR4) y un control no tratado en un modelo de injerto de tumor basado en Karpas299 en ratones SCID con 10 animales por grupo. Los ratones fueron tratados con 0,5 mg/kg de los constructos cuatro veces, cada cuatro días. El gráfico Izquierdo

muestra el volumen promedio de tumor de todos los 10 ratones por grupo. Se ha adelantado el último punto de observación de animales sacrificados. (LOCF). El gráfico de la derecha muestra el gráfico de sobrevida de Kaplan-Meier en cada grupo.

[0055] La **Figura 42** muestra la cuantificación de la cantidad de anticuerpo total en la circulación sanguínea después del tratamiento de ratas hembra Sprague-Dawley con tanto Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE como Adcetris vía ELISA.

[0056] La **Figura 43** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-VC-PAB-SB743921 y P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 a Trastuzumab; B) Eficiencia de conjugación estimada vía espectrometría de masa (MS). Se calculó la Relación Droga-a-Anticuerpo a partir de intensidades de MS de las especies modificadas y no modificada de cadena pesada y liviana; es de notar que en este ejemplo solo se observó pequeña o lenta conjugación cuando se utiliza un residuo corto de PEG2 (por ej. un residuo de PEG que comprende 2 unidades PEG), mientras que se pudo lograr una más eficiente reacción de conjugación cuando se utiliza PEG12 (es decir, un residuo PEG que comprende 12 unidades PEG), y aún más cuando se utiliza PEG24 (es decir un residuo PEG que comprende 24 unidades PEG) como indicado mediante la mayor proporción de droga a anticuerpo (DAR). C) Espectros de MS de ejemplo de la conjugación de P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 a Trastuzumab. El espectro de masa muestra cadena liviana no modificada (23438 Da), cadena liviana modificada (25439 Da), cadena pesada no modificada (49149 Da), triple cadena pesada modificada (55452 Da).

[0057] La **Figura 44** muestra eficacia del ADC Trastuzumab-P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 sobre una línea celular negativa para diana (L-540) y diversas líneas celulares Her2+. Trastuzumab-P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 muestra solo un efecto sobre la L-540 no diana a la mayor concentración ensayada, mientras que se pudo mostrar una mucho mejor eficacia sobre todas las líneas celulares diana positivas.

[0058] La **Figura 45** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina a Trastuzumab; B) Eficiencia estimada de conjugación vía espectrometría de masa (MS). La Relación Droga-a-Anticuerpo fue calculada a partir de las intensidades de MS de las especies de cadena pesada y liviana modificadas y no modificadas; C) Espectros de HIC de ejemplo de la conjugación de 16 equivalentes de P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina a Trastuzumab, brindando un ADC DAR 8.0. Fue visible Trastuzumab no conjugado al tiempo de retención conocido del anticuerpo no modificado (ca. 8-9 minutos).

[0059] La **Figura 46** muestra cromatogramas de HIC normalizados de Tras-P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina DAR8 y Adcetris (Brentuximab vedotina).

[0060] La **Figura 47** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-VC-PAB-AT7519 a Trastuzumab; B) Análisis de ADC DAR8 purificados mediante Cromatografía por exclusión de tamaños (SEC) y cromatografía de interacción hidrófoba (HIC); C) análisis de MS de la conjugación de 16 equivalentes de P5(PEG12)-VC-PAB-AT7519 a Trastuzumab, rindiendo un ADC DAR 8.0. Se observó Trastuzumab no conjugado.

[0061] La **Figura 48** muestra A) conjugación de P5(PEG24)-VA-PAB-Panobinostat a Trastuzumab; B) Análisis de los ADC DAR8 purificados mediante Cromatografía de Interacción Hidrófoba (HIC).

[0062] La **Figura 49** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-GlcA-AT7519 a Trastuzumab; B) Eficiencia de la conjugación estimada vía MS en dependencia de los equivalentes de P5(PEG12)-GlcA-AT7519. La reacción fue llevada a cabo como se describe en la presente con 8 eq. de TCEP. La Relación Droga-a-Anticuerpo fue calculada a partir de Intensidades MS de las especies de cadena pesada y cadena liviana modificada y no modificada; C) Espectro de ejemplo de MS de la conjugación de 6 eq. P5(PEG12)-GlcA-AT7519 a Trastuzumab para brindar un ADC de DAR 3.9.

[0063] La **Figura 50** muestra cromatogramas de HIC normalizados de Tras-P5(PEG12)-GlcA-AT7519 y Adcetris (Brentuximab vedotina); y un cromatograma SEC de Tras-P5(PEG12)-GlcA-AT7519.

[0064] La **Figura 51** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-GlcA-MMAE a Brentuximab; B) Eficacia sobre una línea celular negativa para diana (HL-60, abajo) y una línea celular positiva para diana (Karpas299, arriba); Brentuximab-P5(PEG12)-GlcA-MMAE no muestra ningún efecto sobre la línea celular negativa para diana (HL-60), mientras que se pudo mostrar una mejor eficacia sobre la línea celular positiva para diana Karpas299.

[0065] La **Figura 52** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-GlcA-SB743921 a Trastuzumab; B) Eficiencia de conjugación estimada vía espectrometría de masa (MS) en dependencia de los equivalentes de P5(PEG12)-GlcA-SB743921. La reacción fue llevada a cabo como se describe en la presente con 8 eq. de TCEP. La Relación Droga-a- Anticuerpo fue calculada a partir de intensidades de MS de las especies de cadena pesada y liviana modificada y no

modificada. C) Análisis de los ADCs de DAR8 purificados mediante Cromatografía por exclusión de tamaño (SEC) y Cromatografía de interacción hidrófoba (HIC).

[0066] La **Figura 53** muestra los resultados de ensayos de eficacia de Trastuzumab-P5(PEG12)GlcA-SB743921 sobre una línea celular negativa para diana (MDA-MB468) y una línea celular positiva para diana (SKBR3). Trastuzumab-P5(PEG12)-GlcA-SB743921 no muestra ningún efecto sobre la línea celular negativa para diana (MDA-MB468), mientras que se pudo mostrar una mejor eficacia sobre SKBR-3.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0067] La presente invención se describe en detalle en lo siguiente y será ilustrada adicionalmente mediante los Ejemplos y Figuras anexos.

Definiciones

[0068] A menos que se indique de otra manera, el término “alquilo” en sí mismo o como parte de otro término se refiere en general a un radical hidrocarbonado saturado, de cadena recta o ramificada, sustituido o insustituido, que tiene el número indicado de átomos de carbono; por ej. “alquilo (C₁-C₈)” o “alquilo (C₁-C₁₀)” se refieren a un grupo alquilo que tiene de 1 a 8 o de 1 a 10 átomos de carbono, respectivamente). Cuando el número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alquilo puede tener desde 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos alquilo (C₁-C₈) de cadena recta representativos incluyen, pero no están limitados a, -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo, -n-hexilo, -n-heptilo y -n-octilo; los grupos alquilo (C₁-C₈) ramificados incluyen, pero no están limitados a, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -tert-butilo, -isopentilo, y -2-metilbutilo. En algunos aspectos, un grupo alquilo puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alquilo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0069] A menos que se indique de otra manera, el término “alquilenos” como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un radical hidrocarbonado saturado, de cadena recta o ramificada, sustituido o insustituido, del número indicado de átomos de carbono, preferiblemente 1-10 átomos de carbono (-alquilenos (C₁-C₁₀)-) o preferiblemente 1 a 8 átomos de carbono (-alquilenos (C₁-C₈)-), y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o de dos diferentes átomos de carbono de un alcano parental. Cuando el número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alquilenos puede tener de 1 a 8 átomos de carbono. Los radicales alquilenos típicos incluyen, pero no están limitados a: metileno (-CH₂-), 1,2-etileno (-CH₂CH₂-), 1,3-n-propileno

(-CH₂CH₂CH₂-), y 1,4-n-butileno (-CH₂CH₂CH₂CH₂-). En algunos aspectos, un grupo alquileo puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alquileo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0070] A menos que se indique de otra manera, el término “alqueno” como tal o como parte de otro término se refiere en general a un radical hidrocarbonado insaturado, de cadena recta o ramificada, que tiene un doble enlace y el número indicado de átomos de carbono; por ej. “alqueno (C₂-C₈)” o “alqueno (C₂-C₁₀)” se refieren a un grupo alqueno que tiene de 2 a 8 o de 2 a 10 átomos de carbono, respectivamente). Cuando el número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alqueno puede tener de 2 a 8 átomos de carbono. Los grupos alqueno (C₂-C₈) representativos incluyen, pero no están limitados a, -etenilo, -1-propenilo, -2-propenilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -isobutenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, -3-metil-1-butenilo, -2-metil-2-butenilo, y -2,3-dimetil-2-butenilo. En algunos aspectos, un grupo alqueno puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alqueno puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0071] A menos que se indique de otra manera, el término “alqueno” como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un radical hidrocarbonado de cadena ramificada o recta, insaturado, sustituido o insustituido del número indicado de átomos de carbono, preferiblemente de 2-10 átomos de carbono (-alqueno (C₂-C₁₀)-) o preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono (-alqueno (C₂-C₈)-), y que tiene un doble enlace, y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o de dos diferentes átomos de carbono de un alqueno parental. Cuando el número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alqueno puede tener de 2 a 8 átomos de carbono. Los radicales alqueno típicos incluyen, pero no están limitados a: -etenilo-, -1-propenilo-, -2-propenilo-, -1-butenilo-, -2-butenilo-, -isobutenilo-, -1-pentenilo-, -2-pentenilo-, -3-metil-1-butenilo-, -2-metil-2-butenilo-, y -2,3-dimetil-2-butenilo-. En algunos aspectos, un grupo alqueno puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alqueno puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0072] A menos que se indique de otra manera, el término “alquino” como tal o como parte de otro término se refiere en general a un radical hidrocarbonado insaturado, de cadena recta o ramificada, sustituido o insustituido, que tiene un triple enlace y el número indicado de átomos de carbono; por ej. “alquino (C₂-C₈)” o “alquino (C₂-C₁₀)” se refieren a un grupo alquino que tiene de 2 a 8 o de 2 a 10 átomos de carbono, respectivamente). Cuando el

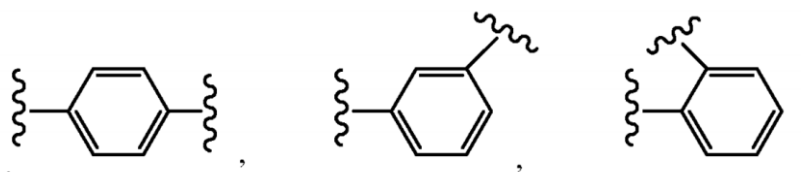
número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alquinilo puede tener de 2 a 8 átomos de carbono. Los grupos alquinilo (C_2-C_8) representativos incluyen, pero no están limitados a, -acetilenilo, -1-propinilo, -2-propinilo, -1-butinilo, -2-butinilo, -1-pentinilo, -2-pentinilo y -3-metil-1-butinilo. En algunos aspectos, un grupo alquinilo puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alquinilo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0073] A menos que se indique de otra manera, el término “alquinileno” como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un radical hidrocarbonado, insaturado, de cadena ramificada o recta, sustituido o insustituido del número indicado de átomos de carbono, preferiblemente de 2-10 átomos de carbono (-alquinileno (C_2-C_{10})-) o preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono (-alquinileno (C_2-C_8)-), y que tiene un triple enlace, y que tiene dos centros radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o de dos diferentes átomos de carbono de un alquino parental. Cuando el número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alquinileno puede tener de 2 a 8 átomos de carbono. Los radicales alquinileno típicos incluyen, pero no están limitados a: -etinileno-, -1-propinileno-, -2-propinileno-, -1-butinileno-, -2-butinileno-, -1-pentinileno-, -2-pentinileno- y -3-metil-1-butinileno-. En algunos aspectos, un grupo alquinileno puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alquinileno puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0074] A menos que se indique de otra manera, el término “arilo”, como tal o como parte de otro término, significa en general un radical hidrocarbonado aromático carbocíclico monovalente, sustituido o insustituido de 6 a 20 átomos de carbono (preferiblemente de 6 a 14 átomos de carbono, más preferiblemente de 6 a 10 átomos de carbono, en formas de realización muy preferidas 6 átomos de carbono) derivados por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un sistema de anillos aromático parental. Algunos grupos arilo están representados en las estructuras a modo de ejemplo como “Ar”. Los grupos arilo típicos incluyen, pero no están limitados a, radicales derivados de benceno, benceno sustituido, naftaleno, antraceno, y bifenilo. Un grupo arilo a modo de ejemplo es un grupo fenilo. En algunos aspectos, un grupo arilo puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo arilo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0075] A menos que se indique de otra manera, el término “arileno”, como tal o como parte de otro término, en general es un grupo arilo como se define anteriormente en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo arilo está reemplazado por un enlace (es decir es divalente)

y puede estar en orientaciones para, meta u orto como se muestra en las siguientes estructuras, con fenilo como un grupo a modo de ejemplo:



En formas de realización seleccionadas, por ej. cuando una unidad conectora paralela comprende un arileno, el arileno es un grupo arilo como se define anteriormente en donde dos o más de los átomos de hidrógeno del grupo arilo están reemplazados por un enlace (es decir el arileno puede ser trivalente). En algunos aspectos, un grupo arileno puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo alquinileno puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0076] A menos que se indique de otra manera, el término “heterociclo” o “anillo heterocíclico”, como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un sistema de anillo monocíclico o bicíclico, monovalente, aromático o no aromático, sustituido o no sustituido, que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ej. “heterociclo (C₃-C₈)” o “heterociclo (C₃-C₁₀)” se refieren a un heterociclo que tiene de 3 a 8 o de 3 a 10 átomos de carbono, respectivamente) y uno a cuatro heteroátomos como miembros de anillo independientemente seleccionados de N, O, P o S, y derivado por eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de anillo de un sistema de anillo parental. Uno o más átomos de N, C o S en el heterociclo pueden estar oxidados. El anillo que incluye el heteroátomo puede ser aromático o no aromático. A menos que se indique de otra manera, el heterociclo está unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono dé como resultado una estructura estable. Los ejemplos representativos de un heterociclo (C₃-C₈) incluyen, pero no están limitados a, pirrolidinilo, azetidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, benzofurano, benzotiofeno, indolilo, benzopirazolilo, pirrolilo, tiofenilo (tiofeno), furano, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, pirimidinilo, piridinilo, pirazinilo, piridazinilo, isotiazolilo, e isoxazolilo. En algunos aspectos, un grupo heterociclo puede estar insustituido. Opcionalmente, un grupo heterociclo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0077] A menos que se indique de otra manera, el término “heterociclo” o “anillo heterocíclico”, como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un grupo heterociclo como se

define anteriormente y que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ej. heterociclo (C_3-C_8) o heterociclo (C_3-C_{10})) en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo heterociclo está reemplazado por un enlace (es decir es divalente). En formas de realización seleccionadas, por ej. cuando una unidad conectora paralela comprende un heterociclo, el heterociclo es un grupo heterociclo como se define anteriormente en donde dos o más de los átomos de hidrógeno del grupo heterociclo están reemplazados por un enlace (es decir el heterociclo puede ser trivalente). En algunos aspectos, un heterociclo o anillo heterocíclico puede estar insustituido. Opcionalmente, un heterociclo o anillo heterocíclico puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0078] A menos que se indique de otra manera, el término “carbociclo” o “anillo carbocíclico” como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un sistema de anillo carbocíclico monocíclico o bicíclico, monovalente, aromático o no aromático, sustituido o no sustituido, que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ej. “carbociclo (C_3-C_8)” o “carbociclo (C_3-C_{10})” se refieren a un carbociclo que tiene de 3 a 8 o de 3 a 10 átomos de carbono, respectivamente) derivados por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de anillo de un sistema de anillo parental. Como ejemplos ilustrativos pero no limitantes, el carbociclo puede ser un carbociclo de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros. Los carbociclos (C_3-C_8) representativos incluyen, pero no están limitados a, fenilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, 1,4-ciclohexadienilo, cicloheptilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, ciclooctilo, y ciclooctadienilo. En algunos aspectos, un carbociclo puede estar insustituido. Opcionalmente, un carbociclo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0079] A menos que se indique de otra manera, el término “carbociclo” o “anillo carbocíclico”, como tal o como parte de otro término, se refiere en general a un grupo carbociclo como se define anteriormente que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ej. “carbociclo (C_3-C_8)” o “carbociclo (C_3-C_{10})” se refieren a un carbociclo o anillo carbocíclico que tiene de 3 a 8 o de 3 a 10 átomos de carbono, respectivamente), en donde otro de los átomos de hidrógeno de los grupos carbociclo está reemplazado por un enlace (es decir es divalente). En formas de realización seleccionadas, por ej. cuando una unidad conectora paralela comprende un carbociclo o anillo carbocíclico, el carbociclo o anillo carbocíclico es un grupo carbociclo como se define anteriormente, en donde dos o más de los átomos de hidrógeno del grupo carbociclo están reemplazados por un enlace (es decir el carbociclo o anillo carbocíclico puede ser trivalente). En algunos aspectos, un carbociclo o anillo carbocíclico puede estar insustituido.

Opcionalmente, un heterociclo o anillo heterocíclico puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0080] A menos que se indique de otra manera, el término “heteroalquilo”, tomo tal o en combinación con otro término, puede significar, a menos que se indique de otra manera, un radical hidrocarbonado estable de cadena recta o ramificada, o combinaciones de los mismos, completamente saturada o que contiene de 1 a 3 grados de insaturación, que consiste en el número indicado de átomos de carbono (por ej. heteroalquilo (C₁-C₈) o heteroalquilo (C₁-C₁₀)) y desde uno a diez, preferiblemente uno a tres, heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N, Si y S, y en donde los átomos de nitrógeno y azufre pueden opcionalmente estar oxidados y el heteroátomo nitrógeno puede opcionalmente estar cuaternizado. El(los) heteroátomo(s) O, N y S pueden estar situados en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo o en la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. El heteroátomo Si puede estar situado en cualquier posición del grupo heteroalquilo, incluyendo la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos incluyen -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -Si(CH₃)₃, -CH₂-CH=N-O-CH₃, y -CH=CH-N(CH₃)-CH₃. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tal como por ejemplo -CH₂-NH-OCH₃ y -CH₂-O-Si(CH₃)₃. En formas de realización preferidas, un heteroalquilo o heteroalquileo (C₁-C₄) tiene de 1 a 4 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos y un heteroalquilo o heteroalquileo (C₁-C₃) tiene de 1 a 3 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos. En algunos aspectos, un heteroalquilo o heteroalquileo es saturado. En algunos aspectos, un heteroalquilo o heteroalquileo puede estar insustituido. Opcionalmente, un heteroalquilo o heteroalquileo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0081] A menos que se indique de otra manera, el término “heteroalquileo” como tal o como parte de otro sustituyente significa un grupo divalente derivado de un heteroalquilo (como se describe anteriormente) que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ej. heteroalquileo (C₁-C₈) o heteroalquileo (C₁-C₁₀)), como se ejemplifica mediante -CH₂-CH₂-S-CH₂-CH₂- y -CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-. Para los grupos heteroalquileo, los heteroátomos pueden ocupar también cualquiera o ambos de los extremos de la cadena. Aún adicionalmente, para los grupos de unión a alquileo y heteroalquileo, no está implicada ninguna orientación de los grupos de unión. En formas de realización seleccionadas, por ej. cuando una unidad conectora paralela comprende un heteroalquileo, el heteroalquileo es un grupo heteroalquilo definido anteriormente en donde dos o más de los átomos de hidrógeno

del grupo heteroalquilo están reemplazados por un enlace (es decir el heteroalquileo puede ser trivalente). En algunos aspectos, un heteroalquilo o heteroalquileo pueden estar saturados. En algunos aspectos, un heteroalquileo está insustituido. Opcionalmente, un heteroalquileo puede estar sustituido, tal como por ej. con uno o más grupos.

[0082] El término “halógeno”, a menos que se defina de otra manera, se refiere en general a elementos del 7° grupo principal; preferiblemente flúor, cloro, bromo y yodo; más preferiblemente flúor, cloro y bromo; aún más preferiblemente, flúor y cloro.

[0083] El término “sustituido”, “opcionalmente sustituido”, “opcionalmente puede estar sustituido” o lo similar, a menos que se indique de otra manera, significa en general que uno o más átomos de hidrógeno pueden estar cada uno independientemente reemplazados por un sustituyente. Los sustituyentes típicos incluyen, pero no están limitados a, -X, -R, -O⁻, -OR, -SR, -S⁻, -NR₂, -NR₃, =NR, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -NRC(=O)R, -C(=O)R, -C(=O)NR₂, -SO₃⁻, -SO₃H, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NR, -S(=O)R, -OP(=O)(OR)₂, -P(=O)(OR)₂, -PO₄³⁻, -PO₃H₂, -C(=O)R, -C(=O)X, -C(=S)R, -CO₂R, -CO₂H, -C(=S)OR, -C(=O)SR, -C(=S)SR, -C(=O)NR₂, -C(=S)NR₂, o -C(=NR)NR₂, en donde cada X es independientemente un halógeno: -F, -Cl, -Br, o -I; y cada R es independientemente -H, -alquilo (C₁-C₂₀) (tal como por ej. -alquilo (C₁-C₁₀) o -alquilo (C₁-C₈)), -arilo (C₆-C₂₀), (tal como por ej. -arilo (C₆-C₁₀) o, preferiblemente, -arilo C₆), -heterociclo (C₃-C₁₄) (tal como por ej. -heterociclo (C₃-C₁₀) o -heterociclo (C₃-C₈)), un grupo protector, o una fracción de prodroga. Los sustituyentes típicos también incluyen (=O).

El término “residuo alifático o aromático”, como se utiliza en la presente, se refiere en general a un sustituyente alifático, tal como por ej. pero no limitados a, un residuo alquilo, el cual, sin embargo, puede estar opcionalmente sustituido por sustituyentes alifáticos y/o aromáticos adicionales. Como ejemplos no limitantes, un residuo alifático puede ser un ácido nucleico, una enzima, una coenzima, un nucleótido, un oligonucleótido, un monosacárido, un polisacárido, un polímero, un fluoróforo, opcionalmente benceno sustituido, etc., siempre que sea alifático el enlace directo de dicha molécula a la estructura central (en el caso de R⁵ por ej. el enlace al átomo nitrógeno a Y) es alifático. Un residuo aromático es un sustituyente, en donde el enlace directo a la estructura central es parte de un sistema aromático, por ej. un fenilo o triazolilo o piridilo o nucleótido opcionalmente sustituido; como ejemplo no limitante, si el enlace directo del nucleótido a la estructura central es por ejemplo mediante un residuo fenilo. El término “residuo aromático”, como se utiliza en la presente, también incluye un residuo heteroaromático.

[0084] El término “péptido”, a menos que se indique de otra manera, se refiere en general a un compuesto orgánico que comprende dos o más aminoácidos covalentemente unidos mediante enlaces peptídicos (enlace amida). Los péptidos pueden ser referidos con respecto al número de aminoácidos constituyentes, es decir un dipéptido contiene dos residuos aminoácidos, un tripéptido contiene tres, etc. Los péptidos que contienen diez o menos aminoácidos pueden ser referidos como oligopéptidos, mientras que aquellos con más de diez residuos aminoácidos, por ej. con hasta aproximadamente 30 residuos aminoácidos, son polipéptidos.

[0085] El término “aminoácido”, como se utiliza en la presente, se refiere en general a un compuesto orgánico que tiene un grupo $-\text{CH}(\text{NH}_3)-\text{COOH}$. En una forma de realización, el término “aminoácido” se refiere a un aminoácido natural. Como ejemplos ilustrativos, los aminoácidos naturales incluyen arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, asparagina, histidina, serina, treonina, tirosina, cisteína, metionina, triptofano, alanina, isoleucina, leucina, fenilalanina, valina, prolina y glicina. Sin embargo, el término en su significado más amplio abarca también aminoácidos no naturales.

[0086] Los aminoácidos y péptidos de acuerdo con la descripción pueden también estar modificados en los grupos funcionales. Los ejemplos no limitantes son sacáridos, por ej. N-acetilgalactosamina (GalNAc), o grupos protectores, por ej. modificaciones Fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc) o ésteres.

[0087] El término “anticuerpo”, como se utiliza en la presente, está destinado a referirse a moléculas de inmunoglobulina, preferiblemente que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas livianas (L) que están típicamente interconectadas mediante enlaces disulfuro. Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente como VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada puede comprender por ej. tres dominios CH1, CH2 y CH3. Cada cadena liviana comprende una región variable de cadena liviana (abreviada en la presente como VL) y una región constante de cadena liviana. La región constante de cadena liviana comprende un dominio (CL). Las regiones VH y VL pueden subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL están compuestas típicamente por tres

CDR y hasta cuatro FR dispuestas desde el amino terminal hacia el carboxi terminal, por ej. en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0088] Como se utiliza en la presente, el término “Regiones Determinantes de la Complementariedad” (CDR; por ej. CDR1, CDR2 y CDR3) se refiere a los residuos aminoácidos de un dominio variable de anticuerpo, cuya presencia es necesaria para la unión al antígeno. Cada dominio variable tiene típicamente tres regiones CDR identificada como CDR1, CDR2 y CDR3. Cada región determinante de complementariedad puede comprender residuos aminoácidos de una “región determinante de complementariedad” como define Kabat (por ej. aproximadamente residuos 23-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de la cadena liviana y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de la cadena pesada; y/o esos residuos de un “bucle hipervariable” (por ej. aproximadamente residuos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de la cadena liviana y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de la cadena pesada). En algunas instancias, una región determinante de la complementariedad puede incluir aminoácidos tanto de una región CDR definida de acuerdo con Kabat como de un bucle hipervariable.

[0089] 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 varios de estos pueden dividirse adicionalmente en “subclases” (isotipos), por ej. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, e IgA2. Una clase preferida de inmunoglobulinas para uso en la presente invención es IgG.

[0090] Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se denominan [alfa], [delta], [épsilon], [gamma], y [mu], respectivamente. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas. Como se utilizan en la presente, los anticuerpos son anticuerpos convencionalmente conocidos y fragmentos funcionales de los mismos.

[0091] Un “fragmento funcional” o “fragmento de anticuerpo de unión a antígeno” de un anticuerpo/inmunoglobulina, o “fragmento de unión antígeno de un anticuerpo” o “un fragmento de anticuerpo” o un “fragmento de un anticuerpo” en general se relaciona con un fragmento de un anticuerpo/inmunoglobulina (por ej. una región variable de una IgG) que retiene la región de unión a antígeno. Una “región de unión a antígeno” de un anticuerpo se halla típicamente en una o más regiones hipervariables de un anticuerpo, por ej. las regiones CDR1, -2 y/o -3; sin embargo, las regiones de “marco” variables también pueden jugar un rol

importante en la unión a antígeno, tal como proporcionar un andamiaje para las CDR. Preferiblemente, la “región de unión a antígeno” comprende al menos los residuos aminoácidos 4 a 103 de la cadena liviana (VL) variable y 5 a 109 de la cadena pesada (VH) variable, más preferiblemente los residuos aminoácidos 3 a 107 de la VL y 4 a 111 de la VH, y particularmente preferidas son las cadenas VL y VH completas (posiciones de aminoácidos 1 a 109 de la VL y 1 a 113 de la VH; numeración de acuerdo con la WO 97/08320).

[0092] “Fragmentos funcionales”, “fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno”, “fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo”, o “fragmentos de anticuerpo” o “fragmentos de un anticuerpo” de la descripción pueden incluir, pero no están limitados a, aquellos que contienen al menos un enlace disulfuro que puede reaccionar con un agente reductor como se describe en la presente. Los ejemplos de fragmentos adecuados incluyen los fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, y Fv; diacuerpos; anticuerpos de dominio único (DABs), anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo de cadena única (scFv); y multiespecíficos, tales como bi- y triespecíficos, anticuerpos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. Un anticuerpo distinto de un anticuerpo "multiespecífico" o "multifuncional" se entiende que tiene cada uno de sus sitios de unión idénticos. El F(ab')₂ o Fab puede ser modificado por ingeniería para minimizar o eliminar completamente las interacciones disulfuro intermoleculares que ocurren entre los dominios CH1 y CL.

[0093] El término "región Fc " en la presente se utiliza en general para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. En una forma de realización, una región Fc de cadena pesada de IgG humana se extiende desde Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo terminal de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede o no estar presente. A menos que se especifique de otra manera en la presente, la numeración de los residuos aminoácidos en la región Fc o región constante es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado índice EU.

[0094] Las variantes de los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno contempladas en la presente son moléculas en las cuales se mantiene la actividad de unión del anticuerpo o fragmento de anticuerpo de unión a antígeno.

[0095] Las “proteínas de unión” o “moléculas de unión proteináceas con propiedades de unión de tipo anticuerpo, como se utiliza en la presente, son conocidas generalmente para una

persona experta en el arte. Los ejemplos ilustrativos, no limitantes, incluyen aficuerpos, adnectinas, anticalinas, DARPinas y avímeros.

[0096] Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo “humano” se define en general como uno que no es quimérico (por ej. no “humanizado”) y no a partir de (ya sea totalmente o en parte) una especie no humana. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo humano puede derivarse de un ser humano o puede ser un anticuerpo humano sintético. Un “anticuerpo humano sintético” se define en la presente como un anticuerpo que tiene una secuencia derivada, totalmente o en parte, *in silico* a partir de secuencias sintéticas que están basadas en el análisis de secuencias de anticuerpos humanos conocidas. El diseño *in silico* de una secuencia de anticuerpo humano o fragmento de la misma puede lograrse, por ejemplo, analizando una base de datos de secuencias de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, y concibiendo una secuencia polipeptídica que utiliza los datos obtenidos de allí. Otro ejemplo de un anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno del mismo es uno que es codificado por un ácido nucleico aislado de una biblioteca de secuencias de anticuerpos de origen humano (por ej. estando basada dicha biblioteca en anticuerpos tomados de una fuente natural humana).

[0097] Un “anticuerpo humanizado” o fragmento de unión a antígeno del mismo humanizado se define en general en la presente como uno que es (i) derivado de una fuente no humana (por ej. un ratón transgénico que lleva un sistema inmune heterólogo), el cual anticuerpo está basado en una secuencia germinal humana; (ii) en donde los aminoácidos de las regiones marco de un anticuerpo no humano están parcialmente intercambiadas con secuencias de aminoácidos humanas mediante ingeniería genética o (iii) injerto de CDR, en donde las CDR del dominio variable son de un origen no humano, mientras que uno o más marcos del dominio variable son de origen humano y el dominio constante (si existe) es de origen humano.

[0098] Un “anticuerpo quimérico” o fragmento de unión a antígeno del mismo se define en general en la presente como uno en donde los dominios variables se derivan de un origen no humano y alguno o todos los dominios constantes se derivan de un origen humano.

[0099] El término “anticuerpo monoclonal” como se utiliza en la presente se refiere en general a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir los anticuerpos individuales comprendidos en la población son idénticos excepto por posibles mutaciones, por ej. mutaciones naturales, que pueden estar presentes en cantidades menores. Así, el término “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo como no siendo una

mezcla de anticuerpos discretos. En contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopes), cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales está dirigido contra un único determinante de un antígeno. Además de su especificidad, las preparaciones de anticuerpos monoclonales son ventajosas en el sentido de que están típicamente no contaminadas con otras inmunoglobulinas. El término "monoclonal" no debe ser interpretado como que requiere la producción del anticuerpo por algún método particular. El término anticuerpo monoclonal incluye específicamente anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos.

[00100] Un anticuerpo "aislado" es en general uno que ha sido identificado y separado de un componente de la célula que lo expresó. Componentes contaminantes de la célula son materiales que interferirían con los usos de diagnóstico o terapéuticos del anticuerpo y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos.

[00101] Como se utiliza en la presente, un anticuerpo "se une específicamente a", es "específico para" o "reconoce específicamente" un antígeno de interés, por ej. una diana de antígeno polipeptídico asociado a un tumor, es en general uno que se une al antígeno con suficiente afinidad de modo que el anticuerpo es útil como un agente terapéutico en hacer diana en una célula o tejido que expresa el antígeno, y no reacciona en forma cruzada significativamente con otras proteínas o no reacciona en forma cruzada significativamente con proteínas distintas de ortólogos y variantes (por ej. formas mutantes, variantes de empalme, o formas proteolíticamente truncadas) de la diana de antígeno anteriormente mencionada. El término "reconoce específicamente" o "se une específicamente a" o es "específico para" un polipéptido particular o un epítipo de una diana polipeptídica particular como se utiliza en la presente puede ser exhibido, por ejemplo, por un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que tiene una K_D monovalente para el antígeno de menos de aproximadamente 10^{-4} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-5} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-6} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-7} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-8} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-9} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-10} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-11} M, alternativamente menos de aproximadamente 10^{-12} M, o menos. Un anticuerpo "se une específicamente a", es "específico para" o "reconoce específicamente" un antígeno si dicho anticuerpo es capaz de discriminar entre dicho antígeno y uno o más antígenos de referencia. En su forma más general, "unión específica", "se une específicamente a", es "específico para" o "reconoce específicamente" se

refieren a la capacidad del anticuerpo para discriminar entre el antígeno de interés y un antígeno no relacionado, como se determina, por ejemplo, de acuerdo con uno de los siguientes métodos. Dichos métodos comprenden, pero no están limitados a, resonancia de plasmones superficiales (SPR), Western Blots, ensayos ELISA, RIA, ECL, IRMA, y escaneos de péptidos. Por ejemplo puede realizarse un ensayo ELISA estándar. La calificación puede realizarse mediante el desarrollo de color estándar (por ej. anticuerpo secundario con peroxidasa de rábano picante y tetrametil bencidina con peróxido de hidrógeno). La reacción en ciertos pocillos es calificada mediante la densidad óptica, por ejemplo, a 450 nm. El trasfondo típico (= reacción negativa) puede ser de 0,1 DO; la reacción positiva típica puede ser de 1 DO. Esto significa que la diferencia positiva/negativa es más de 5 veces, 10 veces, 50 veces y preferiblemente más de 100 veces. Típicamente, la determinación de la especificidad de unión se realiza no utilizando un único antígeno de referencia sino un conjunto de tres a cinco antígenos no relacionados, tales como leche en polvo, BSA, transferrina o lo similar.

[00102] "Afinidad de unión" o "afinidad" se refiere en general a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula y su compañero de unión. A menos que se indique de otra manera, como se utiliza en la presente, "afinidad de unión" se refiere a afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (por ej. un anticuerpo y un antígeno). La constante de disociación " K_D " se utiliza comúnmente para describir la afinidad entre una molécula (tal como un anticuerpo) y su compañero de unión (tal como un antígeno), es decir cuán fuertemente se une un ligando a una proteína en particular. Las afinidades ligando-proteína están influenciadas por las interacciones intermoleculares no covalentes entre las dos moléculas. La afinidad puede medirse mediante métodos comunes conocidos en el arte, incluyendo aquellos descritos en la presente. En una forma de realización, el valor de " K_D " o " K_D de acuerdo con esta invención se mide utilizando ensayos de resonancia de plasmones superficiales utilizando dispositivos adecuados que incluyen, pero no están limitados a, los instrumentos de Biacore tales como Biacore T100, Biacore T200, Biacore 2000, Biacore 4000, Biacore 3000 (GE Healthcare Biacore, Inc.), o un instrumento ProteOn XPR36 (Bio-Rad Laboratories, Inc.).

[00103] El término "conjugado anticuerpo droga" o abreviadamente ADC es bien conocido para una persona experta en el arte, y, como se utiliza en la presente, se refiere en general a la unión de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo con una

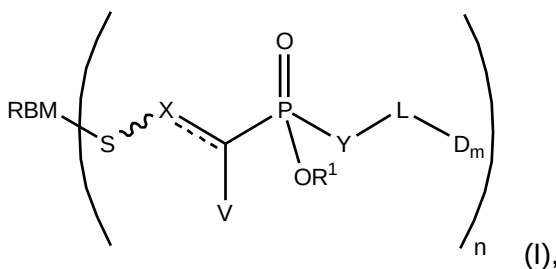
droga, tal como un agente quimioterapéutico, una toxina, un agente inmunoterapéutico, una sonda de toma de imágenes, y lo similar.

[00104] La presente descripción también se relaciona con una “sal farmacéuticamente aceptable”. Puede utilizarse cualquier sal farmacéuticamente aceptable. En particular la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de un conjugado o compuesto de la presente invención que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto parental. En particular, dichas sales tienen una toxicidad baja y pueden ser sales de adición de ácido inorgánico u orgánico y sales de adición de bases. Específicamente, dichas sales incluyen, pero no están limitadas a: (1) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y lo similar; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanpropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido 1,2-etandisulfónico, ácido 2-hidroxietansulfónico, ácido bencensulfónico, ácido 4-clorobencensulfónico, ácido 2-naftalensulfónico, ácido 4-toluensulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido terbutilacético, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, y lo similar; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parental ya sea es reemplazado por un ion de metal, por ej. un ion de metal alcalino, un ion alcalinotérreo, o un ion de aluminio; o bien se coordina con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina y lo similar. Las sales incluyen además, solamente a modo de ejemplo, de sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio, y lo similar; y cuando el compuesto contiene una funcionalidad básica, sales de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos, tales como clorhidrato, bromhidrato, tartrato, mesilato, acetato, maleato, oxalato y lo similar. Puede utilizarse un contraión o contraión aniónico en una amina cuaternaria para mantener neutralidad electrónica. Los contraiones a modo de ejemplo incluyen iones haluro (por ej. F^- , Cl^- , Br^- , I^-), NO_3^- , ClO_4^- , OH^- , $H_2PO_4^-$, HSO_4^- , iones sulfonato (por ej. metansulfonato, trifluorometansulfonato, p-toluensulfonato, bencensulfonato, 10-canforsulfonato, naftalen-2-sulfonato, ácido naftalen-1-sulfónico-5-sulfonato, y lo similar), y iones carboxilato (por ej. acetato, etanoato, propanoato, benzoato de, glicerato, lactato, tartrato, glicolato, y lo similar).

[00105] Como se utiliza en la presente, el término “solvato” puede referirse a un agregado que comprende uno o más moléculas de un conjugado o compuesto descrito en la presente con uno o más moléculas de solvente. El solvente puede ser agua, en cuyo caso el solvato puede ser un hidrato. Alternativamente, el solvente puede ser un solvente orgánico. Así, el conjugado o compuestos de la presente descripción puede existir como un hidrato, incluyendo un monohidrato, dihidrato, hemihidrato, sesquihidrato, trihidrato, tetrahidrato, y lo similar, así como las correspondientes formas solvatadas. Los compuestos de la invención pueden ser solvatos verdaderos, mientras que en otros casos, los compuestos de la invención pueden retener meramente agua adventicia o ser una mezcla de agua más algún solvente adventicio.

Conjugado de la Fórmula (I)

[00106] Como se expresó anteriormente, la presente invención se relaciona con un conjugado que tiene la fórmula (I):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo,

en donde:

RBM es una molécula de unión a receptor;

es un doble enlace; o

es un enlace;

V está ausente cuando es un doble enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un enlace;

X es R₃-C cuando es un doble enlace; o

- X es $\text{R}_3-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}$ cuando  es un enlace;
- Y es NR^5 , S, O, o CR^6R^7 ;
- R^1 es una primera unidad R^F de polialquilenglicol que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;
- R^3 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^4 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^5 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^6 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^7 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción molecular de droga;
- m es un entero en el rango de 1 a 10; y
- n es un entero en el rango de 1 a 20.

[00107] Los conjugados de fórmula (I) comprenden una molécula de un ion al receptor los cuales están conectados con una fracción molecular de droga vía una fracción molecular de fósforo (V) (también a veces mencionado como “P5”) y un enlazador. El residuo R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol la cual se une al átomo de oxígeno, el cual está unido al átomo de fósforo de la fracción molecular de fósforo (V). Además, también se describen conjugados que portan un segundo polialquilenglicol, ortogonal a la orientación de RBM y D dentro del enlazador L.

[00108] Los inventores han encontrado que conjugados de fórmula (I) tienen varias propiedades ventajosas, como se muestra a continuación. Se han preparado y se han ensayado conjugados de fórmula (I) con diferentes ligandos y drogas, (la tabla del **Ejemplo 2**, por ej., muestra una visión general de los conjugados preparados y ensayados en los **Ejemplos 3 a 7**, y se describen conjugados con enlazadores y drogas adicionales en los **Ejemplos 8 a 14**). Se ha encontrado que conjugados de fórmula (I) tienen Buena hidrofiliidad y muestran agregación lenta en solución (**Ejemplo 2** y **Figuras 13 a 30**, **Ejemplo 9** y **Figuras 45 y 46**, **Ejemplo 10** y **Figura 47**, **Ejemplo 12** y **Figura 50**, y **Ejemplo 14** y **Figura 52**). Además, conjugados de fórmula (I) muestran una buena citotoxicidad hacia células de cáncer

diana positivas (**Ejemplo 4 y Figuras 35 a 39, Ejemplo 8 y Figura 44, Ejemplo 13 y Figura 51, y Ejemplo 14 y Figura 53**). Conjugados de fórmula (I) muestran también un favorable efecto espectador (**Ejemplo 5 y Figura 40**). También, conjugados de fórmula (I) muestran favorable eficacia in vivo, en particular cuando se compara directamente con la eficacia del producto comercial Adcetris (**Ejemplo 6 y Figura 41**). Además, conjugados de fórmula (I) muestran buen comportamiento farmacocinético in vivo, ejemplificado por los cursos de concentración muy estrechos de anticuerpos totales y cuantificación de ADC intacto a lo largo del tiempo, claramente hablando para un conjugado altamente estable in vivo. La estabilidad excede aquel del producto comercial Adcetris. Más aún, la limpieza de ADC de la circulación sanguínea para un constructo de VC-PAB-MMAE DAR8 no está potenciada y similar a Adcetris, el cual es solo DAR4. (**Ejemplo 7 y Figura 42**). También, los conjugados de fórmula (I) pueden ser preparados eficientemente con varias proporciones de la fracción molecular de droga a la molécula que se une al receptor (**Ejemplos 2 y 3 y Figura 31, Ejemplo 9 y Figura 45, Ejemplo 12 y Figura 49, y Ejemplo 14 y Figura 52**). Conjugados de fórmula (I) puede ser también preparado con varias longitudes de cadena de unidad(es) de polietilenglicol (**Ejemplos 2 y 3, y Figura 32, y Ejemplo 8 y Figura 43**). En este contexto, los inventores han encontrado también que la eficiencia de la reacción de conjugación de la molécula de unión al receptor con la molécula enlazador-droga que da por resultado conjugados de fórmula (I), en particular el rendimiento y la relación droga-anticuerpo (DAR), podrían mejorarse cuando se usan residuos de PEG más largos (como ejemplos ilustrativos, PEG12 que tiene 12 unidades de PEG en el átomo de fósforo, y aún cuando se utilice PEG24 que tiene 24 unidades de PEG en el átomo de fósforo) (**Ejemplo 8 y Figura 43**). En suma, los inventores han encontrado de manera sorprendente que los conjugados de fórmula (I) exhiben excelentes propiedades que hacen de ellos agentes farmacéuticos útiles, tales como, por ej., buena eficiencia en la reacción de conjugación, buena citotoxicidad contra células de cáncer diana positivas, un favorable efecto espectador, excelente eficacia in vivo y farmacocinética in vivo. Es de destacar que conjugados, que comprenden una fracción molecular de fósforo (V) y una fracción molecular de droga, son por ej. descritos en WO 2018/041985 A1, WO 2019/170710, y Kasper et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2019, vol. 58, págs. 11631 a 11636, los que se incorporan a la presente como referencia.

[00109] Preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H. Preferiblemente R^4 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^5 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^5 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^6 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^6 , cuando está presente, es H.

Preferiblemente R^7 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^7 , cuando está presente, es H.

[00110] Preferiblemente,  es un doble enlace; V está ausente; X es R_3-C ; y R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H.

[00111] Más preferiblemente,  representa un doble enlace; V está ausente; X representa R_3-C , y R_3 representa H o alquilo (C_1-C_8). Preferiblemente, R^3 representa H o alquilo (C_1-C_6), más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_4), aún más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_2). En formas de realización preferidas, R_3 es H.

[00112] En algunas formas de realización,  puede ser un enlace; V es H o alquilo (C_1-C_8), preferiblemente V es H; X es $R_3-\overset{R_4}{\underset{|}{C}}$; R_3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; más preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8), más preferiblemente R^3 es H; R^4 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente, R^4 es H o alquilo (C_1-C_8), preferiblemente R^4 es H.

[00113] En algunas formas de realización,  puede representar un enlace; V puede ser H o alquilo (C_1-C_8); X puede representar $R_3-\overset{R_4}{\underset{|}{C}}$; y R_3 y R_4 pueden independientemente representar H o alquilo (C_1-C_8). Preferiblemente, R_3 y R_4 representan independientemente H o alquilo (C_1-C_6), más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_4), aún más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_2). Preferiblemente, R_3 y R_4 son iguales; aún más preferiblemente, R_3 , R_4 y V son iguales. Más preferiblemente, R_3 y R_4 son ambos H. Preferiblemente, V es H o alquilo (C_1-C_6), más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_4), aún más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_2). Incluso más preferiblemente, V es H. En formas de realización preferidas, R_3 , R_4 y V son cada uno H.

[00114] El entero m está en el rango de 1 a 10. En concordancia, el entero m puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Preferiblemente, el entero m está en el rango de 1 a 4. Más preferiblemente, el entero m es 1 o 2. Incluso más preferiblemente, el entero m es 1.

[00115] El entero n está en el rango de 1 a 20. En concordancia, el entero n puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20. Preferiblemente, el entero n está en el rango de 1 a 10. Más preferiblemente, el entero n está en el rango de 2 a 10. Aún más preferiblemente, el entero n está en el rango de 4 a 10. Aún más preferiblemente, el entero n está en el rango de 6 a 10. Aún más preferiblemente, el entero n es 6, 7, 8, 9 o 10. Aún más preferiblemente, el entero n está en el rango de 7 a 10. Aún más preferiblemente, el entero n es 7, 8 o 9. Aún más preferiblemente, el entero n es 7 o 8. Aún más preferiblemente, el entero n está en el rango de 7 a 10. Aún más preferiblemente, el entero n es 8.

[00116] El entero n está en el rango de 1 a 20. Preferiblemente, el entero n está en el rango de 1 a 10. Más preferiblemente, el entero n está en el rango de 2 a 8. Aún más preferiblemente, el entero n es 2, 3, 4, 5 o 6. Aún más preferiblemente, el entero n está en el rango de 3 a 6. Aún más preferiblemente, el entero n es 3, 4 o 5. Aún más preferiblemente, el entero n puede ser 4 o 5. Aún más preferiblemente, el entero n es 4.

[00117] Preferiblemente, m es un entero en el rango de 1 a 4, más preferiblemente 1 o 2, aún más preferiblemente 1; y preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 20, más preferiblemente de 1 a 10, aún más preferiblemente de 2 a 10, aún más preferiblemente de 4 a 10, aún más preferiblemente de 6 a 10, aún más preferiblemente n es 6, 7, 8, 9 o 10, aún más preferiblemente n está en el rango de 7 a 10; aún más preferiblemente n es 7, 8 o 9, aún preferiblemente n es 7 o 8, aún más preferiblemente n es 8.

[00118] Preferiblemente, m es un entero en el rango de 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1; y preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 20, más preferiblemente de 1 a 10, aún más preferiblemente de 2 a 8; aún más preferiblemente n es 2, 3, 4, 5 o 6; aún más preferiblemente n está en el rango de 3 a 6; aún más preferiblemente n es 3, 4 o 5; aún más preferiblemente n es 4 o 5, incluso más preferiblemente n es 4.

[00119] Preferiblemente, m es 1; y preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 20, más preferiblemente de 1 a 10, aún más preferiblemente de 2 a 10, aún más preferiblemente de 4 a 10, aún más preferiblemente de 6 a 10, aún más preferiblemente n es

6, 7, 8, 9 o 10, aún más preferiblemente n está en el rango de 7 a 10, aún más preferiblemente n es 7, 8 o 9, aún más preferiblemente n es 7 o 8, incluso más preferiblemente n es 8. En concordancia, preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 1 a 20. Más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 1 a 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 2 a 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 4 a 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 6 a 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es 6, 7, 8, 9 o 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 7 a 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es 7, 8 o 9. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es 7 o 8. Incluso más preferiblemente, m es 1 y n es 8.

[00120] Preferiblemente, m es 1; y en algunas formas de realización n es un entero en el rango de 1 a 20, más preferiblemente desde 1 a 10, aún más preferiblemente desde 2 a 8; aún más preferiblemente n es 2, 3, 4, 5 o 6, aún más preferiblemente n está en el rango de 3 a 6; aún más preferiblemente n es 3, 4 o 5; aún más preferiblemente n es 4 o 5, incluso más preferiblemente n es 4. En concordancia, preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 1 a 20. Más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 1 a 10. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es un entero en el rango de 2 a 8. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es 2, 3, 4, 5 o 6. Aún más preferiblemente, m es 1 y n está en el rango de 3 a 6. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es 3, 4 o 5. Aún más preferiblemente, m es 1 y n es 4 o 5. Incluso más preferiblemente, m es 1 y n es 4.

[00121] Preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor puede ser desde 1 a 20. More preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 1 a 14. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 2 a 14. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 4 a 14. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 5 a 12. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 6 a 12. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 7 a 10. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es 8.

[00122] Preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor puede ser desde 1 a 20. Más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 1 a 14. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 1 a 12. Aún más

preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 2 a 10. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 2 a 8. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 2 a 6. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 3 a 5. Aún más preferiblemente, el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es 4.

Molécula de Unión a Receptor (RBM, por sus siglas en inglés)

[00123] RBM es una molécula de unión a receptor. El término “molécula de unión a receptor” se refiere en general a cualquier molécula que es capaz de unirse a un receptor. Como ejemplo ilustrativo pero no limitante, el receptor, al cual puede unirse una molécula de unión a receptor, puede ser expresado en la superficie de una célula. Como ejemplo ilustrativo pero no limitante, la célula que expresa el receptor, puede ser una célula cancerosa. Una persona experta en el arte sabe seleccionar una molécula de unión a receptor adecuada.

[00124] El receptor puede ser un antígeno de superficie asociado a un tumor. En concordancia, la molécula de unión a receptor puede ser capaz de unirse específicamente a un antígeno de superficie asociado a un tumor. El término “antígeno de superficie asociado a un tumor” como se utiliza en la presente se refiere en general a un antígeno que es o puede ser presentado sobre una superficie que está situada sobre o dentro de células tumorales. Estos antígenos pueden ser presentados sobre la superficie celular con una parte extracelular, que a menudo está combinada con una parte transmembrana y citoplásmica de la molécula. Estos antígenos pueden, en algunas formas de realización, ser presentados solamente mediante células tumorales y no mediante células normales, es decir no tumorales. Los antígenos tumorales pueden ser expresados exclusivamente en células tumorales o pueden representar una mutación específica del tumor comparando con células no tumorales. En dicha forma de realización, un antígeno respectivo puede ser referido como un antígeno específico de tumor. Algunos antígenos son presentados tanto por células tumorales como por células no tumorales, los cuales pueden ser referidos como antígenos asociados con tumor. Estos antígenos asociados a tumor pueden ser sobreexpresados en células tumorales cuando se compara con células no tumorales o son accesibles para unión a anticuerpo en células tumorales debido a la estructura menos compacta del tejido tumoral comparando con un tejido no tumoral. En algunas formas de realización el antígeno de superficie asociado a un tumor está situado en la vasculatura de un tumor. Los ejemplos ilustrativos pero no limitantes de un antígeno de superficie asociado a un tumor incluyen CD19, CD30, Her2 o PMSA. Los antígenos de superficies asociados a un tumor son conocidos para una persona

experta en el arte. En particular, se describen aquellos que se hallaron útiles para el desarrollo de los ADC, por ej. en el artículo de revisión de Criscitello et al., “*Antibody-drug conjugates in solid tumors: a look into novel targets*”, Journal of Hematology y Oncology, (2021) 14:20 (<https://doi.org/10.1186/s13045-021-01035-z>).

[00125] La molécula de unión a receptor puede estar seleccionada del grupo que consiste en un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, y una molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo.

[00126] Preferiblemente, la molécula de unión a receptor es un anticuerpo. Más preferiblemente, el anticuerpo es seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, y un anticuerpo de dominio único, tal como un anticuerpo de dominio único de camélido o tiburón. Aún más preferiblemente, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. Preferiblemente, el anticuerpo es capaz de unirse específicamente a un antígeno de superficie asociado a un tumor. En algunas formas de realización, el anticuerpo puede ser Brentuximab. En algunas formas de realización, el anticuerpo puede ser Trastuzumab.

[00127] La molécula de unión a receptor puede ser un fragmento de anticuerpo. Preferiblemente, el fragmento de anticuerpo es un fragmento de anticuerpo divalente. Más preferiblemente, el fragmento de anticuerpo divalente es seleccionado del grupo que consiste en un fragmento (Fab)₂’, un fragmento Fv de cadena simple divalente, un anticuerpo redireccionante de afinidad dual (DART), y un diacuerpo. Alternativamente, preferiblemente el fragmento de anticuerpo es un fragmento de anticuerpo monovalente. Más preferiblemente el fragmento de anticuerpo monovalente es seleccionado del grupo que consiste en un fragmento Fab, un fragmento Fv, y un fragmento Fv de cadena simple (scFv). También es posible que el fragmento de anticuerpo monovalente es un fragmento de un anticuerpo de dominio único de camélido o un anticuerpo de dominio único de tiburón. Preferiblemente, el fragmento de anticuerpo es capaz de unirse específicamente a un antígeno de superficie asociado a un tumor.

[00128] La molécula de unión a receptor puede ser una molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo. Los ejemplos de moléculas proteináceas de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo que pueden utilizarse como molécula de unión a receptor incluyen, pero no están limitadas a, un aptámero, una muteína basada en un polipéptido de la familia lipocalina, un glucuerpo, una proteína basada en la estructura de

anquirina, una proteína basada en la estructura cristalina, una adnectina, un avímero, un dominio de tipo EGF, un dominio de Kringle, un dominio tipo I de fibronectina, un dominio tipo II de fibronectina, un dominio de tipo III de fibronectina, un dominio PAN, un dominio G1a, un dominio SRCR, un dominio del inhibidor de tripsina pancreática Bovina/Kunitz, tendamistat, un dominio del inhibidor de serina proteasa de tipo Kazal, un dominio de Trefoil (tipo P), un dominio tipo C del factor de von Willebrand, un dominio de tipo Anafilatoxina, un dominio CUB, una repetición de tipo I de tiroglobulina, un dominio de clase A del receptor LDL, un dominio de Sushi, un dominio de Link, un dominio de tipo I de Trombospondina, un dominio de inmunoglobulina o un dominio de tipo inmunoglobulina (por ejemplo, anticuerpos de dominio o anticuerpos de cadena pesada de camello), un dominio de lectina tipo C, un dominio MAM, un dominio de tipo A del factor de von Willebrand, un dominio de Somatomedina B, un dominio central de cuatro disulfuros de tipo WAP, un dominio de tipo C de F5/8, un dominio de Hemopexina, un dominio SH2, un dominio SH3, un dominio de tipo EGF de tipo Laminina, un dominio C2, "Kappacuerpos" (Ill. et al. "Design and construction of a hybrid immunoglobulin domain with properties of both heavy y light chain variable regions" *Protein Eng* 10:949-57 (1997)), "Minibodies" (Martin et al. "The affinity-selection of a minibody polypeptide inhibitor of human interleukin-6" *EMBO J* 13:5303-9 (1994)), "Janusinas" (Traunecker et al. "Bispecific single chain molecules (Janusins) target cytotoxic lymphocytes on HIV infected cells" *EMBO J* 10:3655-3659 (1991) y Traunecker et al. "Janusin: new molecular design for bispecific reagents" *Int J Cancer Suppl* 7:51-52 (1992), un nanocuerpo, una adnectina, una tetranectina, un microcuerpo, una affilina, un afficuerpo o una anquirina, una cristalina, una knottina, ubiquitina, una proteína de dedos de zinc, una proteína autofluorescente, una anquirina o proteína de repetición de anquirina o una proteína de repetición rica en leucina, un avímero (Silverman, Lu Q, Bakker A, To W, Duguay A, Alba BM, Smith R, Rivas A, Li P, Le H, Whitehorn E, Moore KW, Swimmer C, Perlroth V, Vogt M, Kolkman J, Stemmer WP 2005, *Nat Biotech*, Dec; 23(12):1556-61, E-Publication en *Nat Biotech*. Edición 20 Nov 2005); así como proteínas avímeras multivalentes evolucionadas mediante barajado de exones de una familia de dominios de receptores humanos como también se describe en Silverman J, Lu Q, Bakker A, To W, Duguay A, Alba BM, Smith R, Rivas A, Li P, Le H, Whitehorn E, Moore KW, Swimmer C, Perlroth V, Vogt M, Kolkman J, Stemmer WP, *Nat Biotech*, Dic; 23(12):1556-61, E-Publication en *Nat. Biotechnology*. Edición 20 Nov 2005. Preferiblemente la molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo está seleccionada del grupo que consiste en una muteína basada en un polipéptido de la familia lipocalina, un glucuerpo, una proteína basada en la estructura de la anquirina, una proteína basada en la estructura cristalina, una adnectina, un avímero, una DARPin y un afficuerpo. Preferiblemente, la

molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo es capaz de unirse específicamente a un antígeno de superficie asociado a un tumor.

Grupo Y

[00129] El grupo Y está seleccionado del grupo que consiste en NR^5 , S, O, y CR^6R^7 . R^5 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^5 es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^5 es H. R^6 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^6 es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^6 es H. R^7 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^7 es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$), más preferiblemente R^7 es H.

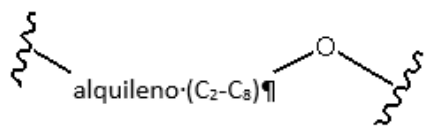
[00130] Preferiblemente, Y es seleccionado del grupo que consiste en NH, S, O y CH_2 . Más preferiblemente, Y es NH, S o O. En algunas formas de realización, Y es CH_2 . En algunas formas de realización, Y es O. En algunas formas de realización, Y es S.

[00131] En formas de realización muy preferidas, Y es NH.

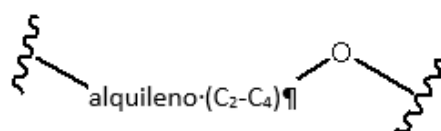
Grupo R^1 :

Primera unidad de Polialquilenglicol R^F

[00132] R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol R^F . La expresión “primera unidad de polialquilenglicol”, como se utiliza en la presente, se refiere a una unidad de polialquilenglicol unida al átomo de O, que está unido a la fracción molecular de fósforo (V). La primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol. Preferiblemente, la primera unidad de R^F comprende tres o más subunidades de alquilenglicol que tienen la siguiente estructura:

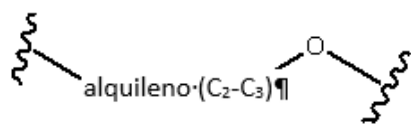


Más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende tres o más subunidades de alquilenglicol que tienen la



siguiente estructura: . En concordancia, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de politetrametilenglicol, una unidad de polipropilenglicol o una unidad de polietilenglicol. Aún más preferiblemente, la primera unidad

de polialquilenglicol R^F comprende tres o más subunidades de alquilenglicol que tienen la

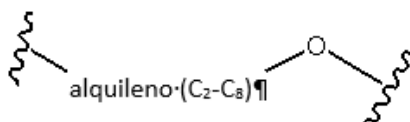


siguiente estructura:

[00133] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 1 a 100 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 3 a 50 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Aún más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 3 a 45 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Aún más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 4 a 40 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Aún más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 6 a 35 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Incluso más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 8 a 30 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente.

[00134] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 3 a 20 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 3 a 12 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Aún más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende desde 3 a 11 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente.

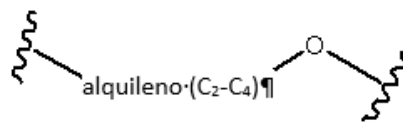
[00135] La primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 3 a 100, preferiblemente desde 3 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades que



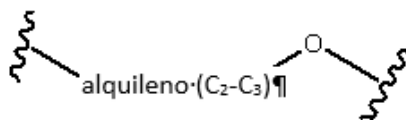
tienen la estructura:

Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 3 a 100, preferiblemente desde 3 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a

30 subunidades que tienen la estructura:

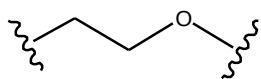


Más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 3 a 100, preferiblemente desde 3 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades que

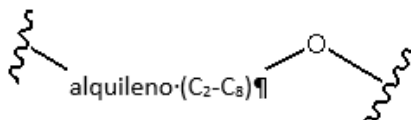


tienen la estructura:

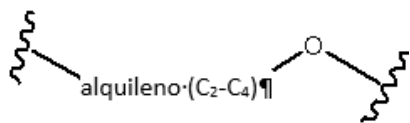
. En una forma de realización preferida, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polietilenglicol que comprende desde 3 a 100, preferiblemente de desde 3 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente de desde 4 a 40, aún más preferiblemente de desde 6 a 35, aún más preferiblemente de desde 8 a 30 subunidades que tienen cada una la estructura:



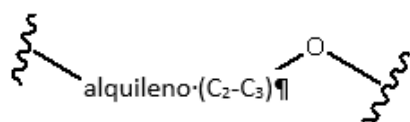
[00136] La primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polialquilenglicol que comprende de desde 3 a 20, preferiblemente de desde 3 a 12, más preferiblemente de desde 3 a 11 subunidades que tienen la estructura:



. Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polialquilenglicol que comprende de desde 3 a 20, preferiblemente de desde 3 a 12, más preferiblemente de desde 3 a 11 subunidades que tienen la estructura:



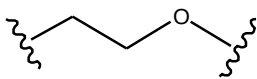
Más preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polialquilenglicol que comprende de desde 3 a 20, preferiblemente de desde 3 a 12, más preferiblemente de desde 3 a 11 subunidades que tienen la estructura:



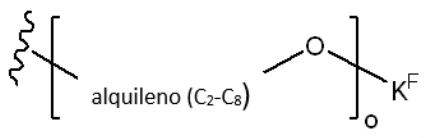
. En formas de realización muy preferidas, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una unidad de polietilenglicol que comprende de desde 3 a

20, preferiblemente de desde 3 a 12, más preferiblemente de desde 3 a 11 subunidades que

tienen cada una la estructura:



[00137] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F es:



en donde:



indica la posición del O unido al fósforo;

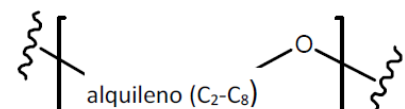
R^F es H o un primer grupo de terminación; preferiblemente R^F es seleccionado del grupo que consiste en -H (hidrógeno), $-PO_3H$, -alquilo (C_1-C_{10}), -alquil (C_1-C_{10}) $-SO_3H$, -alquil (C_2-C_{10})- CO_2H , -alquil (C_2-C_{10})-OH, -alquil (C_2-C_{10})- NH_2 , -alquil (C_2-C_{10})-NH-alquilo (C_1-C_3) y -alquil (C_2-C_{10})-N(alquilo (C_1-C_3))₂; más preferiblemente R^F es H; y

o es un entero en el rango desde 3 a 100.

[00138] El “primer grupo de terminación”, cuando se refiere en la presente, puede ser cualquier fracción que es capaz de funcionar como un grupo terminal de la primera unidad polialquilenglicol. Los ejemplos para los primeros grupos de terminación, que pueden utilizarse en la presente descripción, incluyen $-PO_3H$, -alquilo (C_1-C_{10}), -alquil (C_1-C_{10})- SO_3H , -alquil (C_2-C_{10})- CO_2H , -alquil (C_2-C_{10})-OH, -alquil (C_2-C_{10})- NH_2 , -alquil (C_2-C_{10})-NH-alquilo (C_1-C_3) y -alquil (C_2-C_{10})-N(alquilo (C_1-C_3))₂. En algunas formas de realización, el primer grupo de terminación puede ser -alquilo (C_1-C_{10}), en particular metilo.

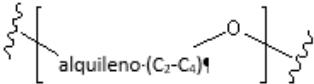
[00139] Preferiblemente, R^F es H (hidrógeno).

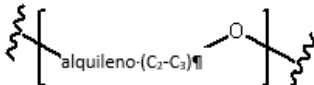
[00140] El entero o denota el número de unidades de repetición



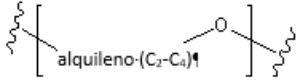
en la primera unidad de polialquilenglicol. El entero o puede estar en el rango desde 3 a 100. Preferiblemente, o está en el rango desde 3 a 50. Más preferiblemente, o está en el rango desde 3 a 45. Aún más preferiblemente, o está en el rango desde 4 a 40. Aún más preferiblemente, o está en el rango desde 6 a 35. Aún más

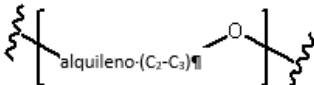
preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango desde 8 a 30. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango desde 4 a 16. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango de desde 8 a 16. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ es 10, 11, 12, 13 o 14. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ es 11, 12 o 13. En formas de realización preferidas, $\underline{q}$ es 12 o aproximadamente 12. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango de desde 16 a 30. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango de desde 20 a 28. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ es 22, 23, 24, 25 o 26. Aún más preferiblemente, $\underline{q}$ es 23, 24 o 25. En formas de realización preferidas, $\underline{q}$ es 24 o aproximadamente 24. Preferiblemente,

la unidad de repetición es . Más preferiblemente, la unidad de

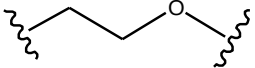
repetición es .

En la primera unidad de polialquilenglicol, el entero $\underline{q}$ puede estar en el rango desde 3 a 20. Preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango desde 3 a 12. Más preferiblemente, $\underline{q}$ está en el rango

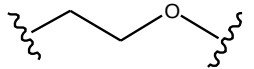
desde 3 a 11. Preferiblemente, la unidad de repetición es . Más

preferiblemente, la unidad de repetición es .

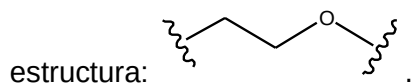
[00141] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende

subunidades de etilenglicol cada una que tienen la siguiente estructura: , es decir esta subunidad es indicada como “subunidad de etilenglicol”. En concordancia, preferiblemente la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol. La primera unidad de polietilenglicol comprende al menos una subunidad de etilenglicol.

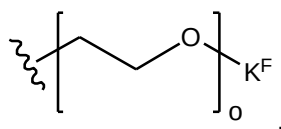
[00142] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una primera unidad de polietilenglicol que comprende desde 3 a 100, preferiblemente desde 3 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades de

etilenglicol que tienen cada una la estructura: .

[00143] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F puede ser una primera unidad de polietilenglicol que comprende desde 3 a 20, preferiblemente desde 3 a 12, más preferiblemente desde 3 a 11 subunidades de etilenglicol que tienen cada una la



[00144] Preferiblemente, la primera unidad de polialquilenglicol R^F es una primera unidad de polietilenglicol que tiene la estructura:



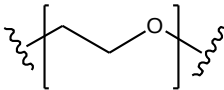
en donde:



indica la posición del O unido al fósforo;

K^F es H (hidrógeno) o un primer grupo de terminación como se describe en la presente; preferiblemente K^F está seleccionada del grupo que consiste en -H, - PO_3H , -alquilo (C_1-C_{10}), -alquil (C_1-C_{10})- SO_3H , -alquil (C_2-C_{10})- CO_2H , -alquil (C_2-C_{10})-OH, - alquil (C_2-C_{10})- NH_2 , -alquil (C_2-C_{10})-NH-alquilo (C_1-C_3) y -alquil (C_2-C_{10})-N(alquilo (C_1-C_3))₂; más preferiblemente K^F es H; y

$\underline{0}$ es un entero en el rango de 3 a 100.

El entero $\underline{0}$ denota el número de unidades de repetición  en la primera unidad de polietilenglicol. El entero $\underline{0}$ puede estar en el rango desde 3 a 100. Preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 3 a 50. Más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 3 a 45. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 4 a 40. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 6 a 35. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 8 a 30. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 4 a 16. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 8 a 16. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ es 10, 11, 12, 13 o 14. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ es 11, 12 o 13. En formas de realización preferidas, $\underline{0}$ es 12 o aproximadamente 12. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango de desde 16 a 30. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ está en el rango desde 20 a 28. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ es 22, 23, 24, 25 o 26. Aún más preferiblemente, $\underline{0}$ es 23, 24 o 25. En formas de realización preferidas, $\underline{0}$ es 24 o aproximadamente 24.

[00145] En la primera unidad de polietilenglicol, el entero $\underline{g}$ puede estar en el rango de 3 a 20. Preferiblemente, $\underline{g}$ está en el rango de 3 a 12. Más preferiblemente, $\underline{g}$ está en el rango de 3 a 11.

[00146] En general, en la primera unidad de polialquilenglicol R^F , (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol), pueden utilizarse polialquilenglicoles polidispersos (preferiblemente, polietilenglicoles polidispersos), polialquilenglicoles monodispersos (preferiblemente, polietilenglicol monodisperso), y polialquilenglicoles discretos (preferiblemente, polietilenglicoles discretos). Los polialquilenglicoles polidispersos (preferiblemente, polietilenglicoles polidispersos) son una mezcla heterogénea de tamaños y pesos moleculares, mientras que los polialquilenglicoles monodispersos (preferiblemente, polietilenglicol monodisperso) están típicamente purificados a partir de mezclas heterogéneas y en consecuencia proporcionan una única longitud de cadena y peso molecular. Las primeras unidades de polialquilenglicol preferidas son polialquilenglicoles discretos (preferiblemente, polietilenglicoles discretos), es decir compuestos que son sintetizados de manera en etapas y no mediante un proceso de polimerización. Los polialquilenglicoles discretos (preferiblemente, polietilenglicoles discretos) proporcionan una única molécula con longitud de cadena definida y especificada.

[00147] La primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) proporcionada en la presente comprende una o múltiples cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol). Las cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) pueden estar unidas entre sí, por ejemplo, en una configuración lineal, ramificada o con forma de estrella. Opcionalmente, al menos una de las cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) puede estar derivatizada en un extremo para unión covalente al átomo de oxígeno unido al fósforo.

[00148] La primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) estará unida al conjugado (o intermediario del mismo) en el átomo de oxígeno que está unido al fósforo. El otro extremo (o extremos) de la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) estará libre y sin ligaduras y puede tomar la forma de un hidrógeno, metoxi, ácido carboxílico, alcohol u otro grupo funcional adecuado, tal como por ej. cualquier primer grupo de terminación como se describe en la presente. El metoxi, ácido carboxílico, alcohol u otro grupo funcional adecuado actúa como una terminación para la subunidad de polialquilenglicol terminal (preferiblemente,

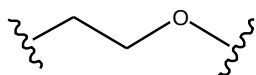
subunidad de polietilenglicol) de la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol). Por “sin ligaduras”, se quiere significar que la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) no estará unida en ese sitio sin ligaduras a una fracción molecular de droga (D), a una molécula de unión a receptor, o a un componente del enlazador (L) que une una fracción molecular de droga y/o una molécula de unión a receptor. Para aquellas formas de realización en donde la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) comprende más de una cadena de polialquilenglicol (preferiblemente, cadena de polietilenglicol), las múltiples cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) pueden ser las mismas o diferentes fracciones químicas (por ej. polialquilenglicoles, en particular polietilenglicoles, de diferente peso molecular o número de subunidades). Las múltiples primeras cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, primeras cadenas de polietilenglicol) están unidas al átomo de oxígeno unido al fósforo en un único sitio de unión. La persona experta comprenderá que la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) además de comprender subunidades de polialquilenglicol repetidas (preferiblemente, subunidades de polietilenglicol) pueden contener también material distinto de polialquilenglicol (preferiblemente, material distinto de polietilenglicol) (por ej. para facilitar el acoplamiento de múltiples cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) entre sí o para facilitar el acoplamiento al átomo de oxígeno unido al fósforo. Material distinto de polialquilenglicol (preferiblemente, material distinto de polietilenglicol) se refiere a los átomos en la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) que no son parte de las subunidades de alquilenglicol repetidas (preferiblemente, subunidades $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$). En las formas de realización proporcionadas en la presente, la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) pueden comprender dos cadenas de polialquilenglicol monoméricas (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) unidas entre sí mediante elementos distintos de polialquilenglicol (distintos de polietilenglicol). En otras formas de realización proporcionadas en la presente, la primera unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, primera unidad de polietilenglicol) puede comprender dos cadenas de polialquilenglicol lineales (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) unidas a una estructura central que está unida al átomo de oxígeno unido al fósforo (es decir la unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, unidad de polietilenglicol) es ramificada).

[00149] Existe una cantidad de métodos de unión de polialquilenglicol (preferiblemente, polietilenglicol) disponibles para aquellos expertos en el arte, [ver por ej. EP 0 401 384 (acoplamiento de PEG a G-CSF); U.S. Pat. N° 5.757.078 (PEGilación de péptidos EPO); U.S.

Pat. N°. 5.672.662 (Polietilenglicol) y polímeros relacionados mono sustituidos con ácidos propiónico o butanoico y derivados funcionales de los mismos para aplicaciones biotécnicas); U.S. Pat. N° 6.077.939 (PEGilación de un N- terminal .alfa.-carbono de un péptido); y Veronese (2001) Biomaterials 22:405-417 (Artículo de revisión de PEGilación de péptidos y proteínas)].

[00150] En formas de realización preferidas, la primera unidad de polialquilenglicol, más preferiblemente la primera unidad de polietilenglicol, está directamente unida al átomo de oxígeno unido al fósforo. En estas formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol, preferiblemente primera unidad de polietilenglicol no comprende un grupo funcional para unión al átomo de oxígeno unido al fósforo, es decir el átomo de oxígeno está directamente unido a un átomo de carbono de la primera unidad de polialquilenglicol, preferiblemente a un CH₂ de la primera unidad de polietilenglicol.

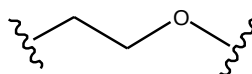
[00151] En un grupo de formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 4 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 6 subunidades de alquilenglicol, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En algunas de dichas formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol comprende no más de aproximadamente 100 subunidades de alquilenglicol, preferiblemente no más de aproximadamente 50 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de aproximadamente 45 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de aproximadamente 40 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de aproximadamente 35 subunidades, incluso más preferiblemente no más de aproximadamente 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tiene la siguiente estructura:



. Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol.

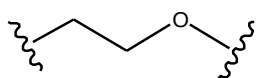
[00152] En un grupo de formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol comprende una o más cadenas de polialquilenglicol lineales que tiene cada una al menos 3 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 4 subunidades de

alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 6 subunidades de alquilenglicol, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En formas de realización preferidas, la primera unidad de polialquilenglicol comprende un total combinado de al menos 3, aún más preferiblemente al menos 4, aún más preferiblemente al menos 6, o incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En algunas de dichas formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol comprende no más de un total combinado de aproximadamente 100 subunidades de alquilenglicol, preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 50 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 45 subunidades, aún más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 40 subunidades, aún más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 35 subunidades, incluso más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 30 subunidades. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad



de etilenglicol que tiene la siguiente estructura: . Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol que comprende una o más cadenas lineales de cadenas de polietilenglicol.

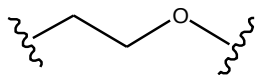
[00153] En otro grupo de formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol comprende un total combinado desde 3 a 100, preferiblemente desde 3 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tiene la siguiente estructura:



. Preferiblemente, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol.

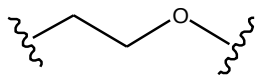
[00154] En otro grupo de formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol comprende una o más cadenas de polialquilenglicol lineales que tienen un total combinado

desde 3 a 100, preferiblemente 3 a 50, más preferiblemente 3 a 45, aún más preferiblemente 4 a 40, aún más preferiblemente 6 a 35, incluso más preferiblemente 8 a 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la siguiente estructura:



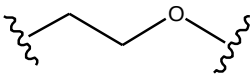
. Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol que comprende una o más cadenas de polietilenglicol lineales.

[00155] En otro grupo de formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol es una cadena de polialquilenglicol única lineal que tiene al menos 3 subunidades, aún más preferiblemente al menos 6 subunidades, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la siguiente estructura:



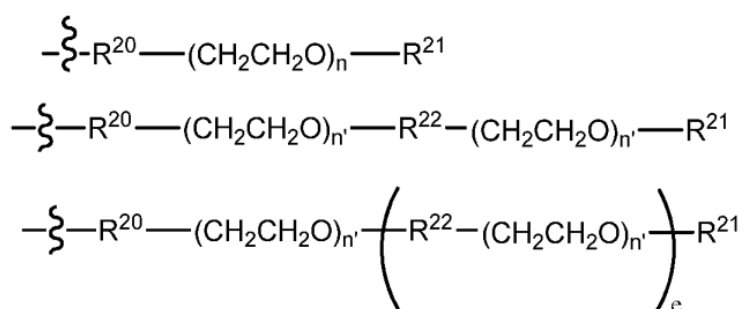
. Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol que es una cadena de polietilenglicol lineal única. Opcionalmente, en una cualquiera de estas formas de realización la cadena de polietilenglicol lineal única puede estar derivatizada.

[00156] En otro grupo de formas de realización, la unidad de polialquilenglicol es una cadena de polialquilenglicol única lineal que tiene de 3 a 100, preferiblemente 3 a 50, más preferiblemente 3 a 45, más preferiblemente 4 a 40, más preferiblemente 6 a 35, más preferiblemente 8 a 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la

siguiente estructura:  . Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de

realización la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol que es una cadena de polietilenglicol lineal única. Opcionalmente, en una cualquiera de estas formas de realización la cadena de polietilenglicol lineal única puede estar derivatizada.

[00157] Las unidades de polietilenglicol lineales a modo de ejemplo que pueden utilizarse como primera unidad de polialquilenglicol, en particular como una primera unidad de polietilenglicol, en una cualquiera de las formas de realización provistas en la presente son como sigue:



en donde la línea ondulada indica el sitio de unión al átomo de oxígeno unido al fósforo;

R^{20} es una unidad de unión a PEG; preferiblemente, R^{20} está ausente;

R^{21} es una unidad de terminación de PEG (en la presente, R^{21} también está indicada como "K^F");

R^{22} es una unidad de acoplamiento de PEG (es decir para acoplar múltiples cadenas de subunidades PEG en conjunto);

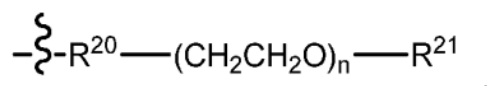
n está independientemente seleccionado de 3 a 100, preferiblemente de 3 a 50, más preferiblemente de 3 a 45, más preferiblemente de 4 a 40, aún más preferiblemente de 6 a 35, incluso más preferiblemente de 8 a 30;

e es 2 a 5;

cada n' está independientemente seleccionado de 1 a 100, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 3 a 45, más preferiblemente de 4 a 40, aún más preferiblemente de 6 a 35, incluso más preferiblemente de 8 a 30. En formas de realización preferidas, hay al menos 3, más preferiblemente al menos 4, más preferiblemente al menos 6, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de etilenglicol en la unidad de polietilenglicol. En algunas formas de realización, no hay más de 100, preferiblemente no más de 50, más preferiblemente no más de 45, más preferiblemente no más de 40, más preferiblemente no más de 35, incluso más preferiblemente no más de 30 subunidades de etilenglicol en la unidad

de polietilenglicol. Cuando R²⁰ está ausente, una subunidad (CH₂CH₂O) está directamente unido al átomo de oxígeno que está unido al fósforo.

[00158] Preferiblemente, la unidad de polietilenglicol lineal es



en donde la línea ondulada indica el sitio de unión al átomo de oxígeno unido al fósforo; R²⁰, R²¹ (también indicado en la presente como “K^F”) y n son como se define en la presente; más preferiblemente R²⁰ está ausente. En formas de realización preferidas, n es 12 o aproximadamente 12. En formas de realización preferidas, n es 24 o aproximadamente 24. Preferiblemente, R²¹ es H.

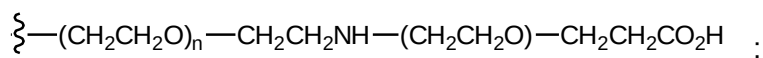
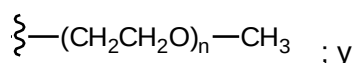
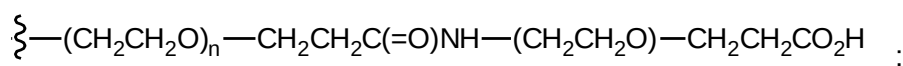
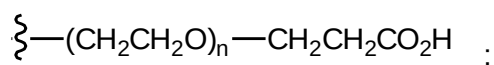
[00159] La unidad de unión a polietilenglicol R²⁰, cuando está presente, es parte de la primera unidad de polietilenglicol y actúa para ligar la primera unidad de polietilenglicol al átomo de oxígeno unido al fósforo. En este sentido, el átomo de oxígeno unido al fósforo forma un enlace con la primera unidad de polietilenglicol. En formas de realización a modo de ejemplo, la unidad de unión a PEG R²⁰, cuando está presente, está seleccionada del grupo que consiste en *-alquil (C₁-C₁₀)-[#], *-arilen-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-O-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)O-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-NH-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-S-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)-NH-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-NH-C(O)-[#], y *-CH₂-CH₂SO₂-alquil(C₁-C₁₀)-[#]; en donde * indica el punto de unión al oxígeno unido al fósforo, y # indica el punto de unión a la unidad de etilenglicol.

[00160] La unidad de acoplamiento de PEG R²², cuando está presente, es parte de la unidad de polietilenglicol y es material distinto de PEG que actúa para conectar dos o más cadenas de subunidades -CH₂CH₂O- en repetición. En formas de realización a modo de ejemplo, la unidad de acoplamiento de PEG R²², cuando está presente, está independientemente seleccionada del grupo que consiste en *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)-NH-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-NH-C(O)-[#], *-alquil (C₂-C₁₀)-NH-[#], *-alquil (C₂-C₁₀)-O-[#], *-alquil (C₁-C₁₀)-S-[#], o *-alquil (C₂-C₁₀)-NH-[#]; en donde * indica el punto de unión a un átomo de oxígeno de una subunidad de etilenglicol, y # indica el punto de unión a un átomo de carbono de otra subunidad de etilenglicol.

[00161] El grupo R²¹, también indicado en la presente como “K^F”, en formas de realización a modo de ejemplo es H (hidrógeno), o puede ser un primer grupo de terminación,

como se describe en la presente; preferiblemente, R^{21} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -H, -PO₃H, -alquilo (C₁-C₁₀), -alquil (C₁-C₁₀)-SO₃H, -alquil (C₂-C₁₀)-CO₂H, -alquil (C₂-C₁₀)-OH, -alquil (C₂-C₁₀)-NH₂, -alquil (C₂-C₁₀)-NH-alquilo (C₁-C₃) y -alquil (C₂-C₁₀)-N(alquilo (C₁-C₃))₂. En algunas formas de realización R^{21} puede ser -alquilo (C₁-C₁₀), en particular metilo. Más preferiblemente, R^{21} es H.

[00162] Primeras unidades de polietilenglicol lineales ilustrativas, que pueden utilizarse como primeras unidades de polialquilenglicol en una cualquiera de las formas de realización provistas en la presente, son como sigue.



en donde la línea ondulada indica el sitio de unión al átomo de oxígeno que está unido al fósforo; y cada n es de 3 a 100, preferiblemente de 3 a 50, más preferiblemente de 3 a 45, aún más preferiblemente de 4 a 40, aún más preferiblemente de 6 a 35, incluso más preferiblemente de 8 a 30. En algunas formas de realización, n es aproximadamente 12. En algunas formas de realización, n es aproximadamente 24.

[00163] En algunas formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol es desde aproximadamente 300 daltons a aproximadamente 5 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 4 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 3 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 2 kilodaltons; o desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 1 kilodalton. En algunos de dichos aspectos, la primera unidad de polialquilenglicol puede tener al menos 6 subunidades de alquilenglicol o al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En algunos de dichos aspectos, la primera unidad de polialquilenglicol puede tener al menos 6 subunidades de alquilenglicol o al menos 8 subunidades de alquilenglicol pero no más de

100 subunidades de alquilenglicol, preferiblemente no más de 50 subunidades de alquilenglicol. En algunas formas de realización, la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol que es desde aproximadamente 300 daltons a aproximadamente 5 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 4 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 3 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 2 kilodaltons; o desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 1 kilodalton. En algunos de dichos aspectos, la primera unidad de polietilenglicol puede tener al menos 6 subunidades de etilenglicol o al menos 8 subunidades de etilenglicol. En algunos de dichos aspectos, la primera unidad de polietilenglicol tiene al menos 6 subunidades de etilenglicol o al menos 8 subunidades de etilenglicol pero no más de 100 subunidades de etilenglicol, preferiblemente no más de 50 subunidades de etilenglicol.

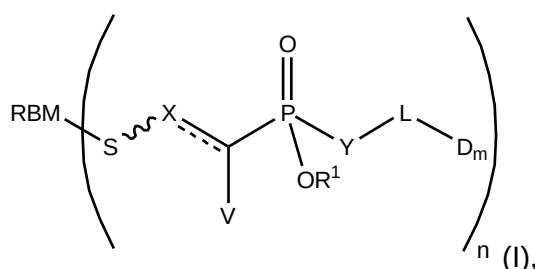
[00164] En algunas formas de realización, cuando R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol R^F , no hay otras subunidades de alquilenglicol presentes en el conjugado de la Fórmula (I) (es decir ninguna subunidad de alquilenglicol está presente en cualquiera de los otros componentes del conjugado, tal como por ej. en el enlazador L como se proporciona en la presente). En otros aspectos, cuando R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol, no hay más de 8, no más de 7, no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 de otras subunidades de alquilenglicol presentes en el conjugado de la Fórmula (I) (es decir no más de 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1 de otras subunidades de alquilenglicol están presentes en otros componentes del conjugado, tal como por ej. en el enlazador L como se proporciona en la presente).

[00165] Preferiblemente, en otras formas de realización, cuando R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol R^F , el conjugado comprende además una segunda unidad de polialquilenglicol R^S , como se describe en la presente. Preferiblemente, cuando R^1 es una primera unidad de polietilenglicol y el conjugado comprende además una segunda unidad de polialquilenglicol R^S , la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol, como se describe en la presente.

[00166] Se apreciará que cuando se hace referencia a subunidades de alquilenglicol, en particular subunidades de etilenglicol, y dependiendo del contexto, el número de subunidades puede representar un número promedio, por ej. cuando se hace referencia a una población de conjugados o compuestos intermediarios, y se utilizan polialquilenglicoles polidispersos, en particular polietilenglicoles polidispersos.

“L”: Enlazador

[00167] La presente descripción proporciona conjugados, en donde una molécula de unión a receptor, como se describe en la presente, está unida a una fracción de droga. De acuerdo con la presente descripción, la molécula de unión a receptor puede estar ligada, mediante el grupo Y y unión covalente mediante un enlazador L, a la fracción de droga. Como se utiliza en la presente, un “enlazador” L es cualquier fracción química que es capaz de unir un grupo Y, tal como por ej. NH, a otra fracción, tal como una fracción de droga. En este sentido, se hace referencia nuevamente a la fórmula (I) descripta en la presente:



En concordancia, la fracción de droga D puede estar ligada a Y a través de un enlazador L.

En la fórmula (I) RBM, , V, X, Y, R¹, L, D, m y n son como se define en la presente. El enlazador L sirve para conectar Y con la fracción de droga (D). El enlazador L es cualquier fracción química que es capaz de unir Y a la fracción de droga D. En particular, el enlazador L une Y a la fracción de droga D a través de enlace(s) covalente(s). El reactivo enlazador es una fracción bifuncional o multifuncional que puede ser utilizada para ligar una fracción de droga D e Y para formar los conjugados de la fórmula (I). Los términos “reactivo enlazador”, “reactivo entrecruzador”, “enlazador derivado de un reactivo entrecruzador” y “enlazador” puede ser utilizados indistintamente a lo largo de la presente descripción.

[00168] Los enlazadores pueden ser susceptibles de escisión (enlazador escindible) tal como escisión enzimática, escisión inducida por ácidos, escisión fotoinducida y escisión de enlaces disulfuro. La escisión enzimática incluye, pero no está limitada a, escisión inducida por proteasas, escisión inducida por peptidasas, escisión inducida por esterasas, escisión inducida por glicosidasas, escisión inducida por fosfatasas, y escisión inducida por sulfatasas, preferiblemente en condiciones bajo las cuales la fracción de droga y/o la molécula de unión a receptor permanecen activas. Alternativamente, los enlazadores pueden ser sustancialmente resistentes a la escisión (por ej. enlazador estable o enlazador no escindible). En algunos aspectos, el enlazador puede ser un enlazador procargado, un enlazador hidrófilo,

un enlazador basado en PEG, o un enlazador basado en ácido dicarboxílico. En concordancia, en algunas formas de realización de uno cualquiera de los conjugados anticuerpo-droga descritos en la presente el enlazador (L) está seleccionado del grupo que consiste en un enlazador escindible, un enlazador no escindible, un enlazador hidrófilo, un enlazador basado en PEG, un enlazador procargado, un enlazador peptídico y un enlazador basado en ácido dicarboxílico. Preferiblemente, el enlazador L es un enlazador escindible. En algunas formas de realización, el enlazador L es un enlazador no escindible.

[00169] Preferiblemente, como se describe en la presente, el enlazador L es escindible. En algunas formas de realización, L es un enlazador susceptible de escisión enzimática. En algunas formas de realización, L es un enlazador lábil frente a ácidos, un enlazador foto-lábil, un enlazador escindible por peptidasas, un enlazador escindible por proteasas, un enlazador escindible por esterases, un enlazador escindible por glicosidasas, un enlazador escindible por fosfatasas, un enlazador escindible por sulfatasas, un enlazador reducible de enlaces disulfuro, un enlazador hidrófilo, un enlazador procargado, un enlazador basado en PEG, o un enlazador basado en ácido dicarboxílico. Preferiblemente, el enlazador L es escindible por una proteasa, una glucuronidasa, una sulfatasa, una fosfatasa, una esterasa, o mediante reducción de disulfuros. Preferiblemente, el enlazador es un enlazador escindible por peptidasas. Otros enlazadores preferidos son escindibles por una proteasa.

[00170] Un enlazador no escindible es cualquier fracción química capaz de unir una fracción de droga a Y de una manera covalente, estable y que está comprendida en las categorías listadas en la presente como enlazadores escindibles. Así, los enlazadores no escindibles son sustancialmente resistentes a escisión inducida por ácidos, escisión foto-inducida, escisión inducida por peptidasas, escisión inducida por proteasas, escisión inducida por glicosidasas, escisión inducida por fosfatasas, escisión inducida por esterases y escisión de enlaces disulfuro. Adicionalmente, no escindible se refiere a la capacidad del enlace químico en el enlazador o del colinde con el enlazador de resistir la escisión inducida por un ácido, un agente de escisión fotolábil, una peptidasa, una proteasa, una glicosidasa, una fosfatasa, una esterasa o un compuesto químico o fisiológico que escinde un enlace disulfuro, en condiciones bajo las cuales la fracción de droga o la molécula de unión a receptor no pierde su actividad.

[00171] Los enlazadores ácido-lábiles son enlazadores escindibles a pH ácido. Por ejemplo, ciertos compartimentos intracelulares, tales como endosomas y lisosomas, tienen un

pH ácido (pH 4-5), y proporcionan condiciones adecuadas para escindir los enlaces ácido-lábiles.

[00172] Algunos enlaces pueden ser escindidos por peptidasas, es decir enlaces escindibles por peptidasas. En este sentido, ciertos péptidos son fácilmente escindidos dentro o fuera de las células, ver por ej. Trout et al., 79 Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 626-629 (1982) y Umemoto et al. 43 Int. J. Cancer, 677-684 (1989). Los péptidos están compuestos de α -aminoácidos y enlaces peptídicos, que químicamente son enlaces de amida entre el carboxilato de un aminoácido y el grupo amino de un segundo aminoácido.

[00173] Algunos enlaces pueden ser escindidos por esterasas, es decir enlaces escindibles por esterasas. En este sentido, ciertos ésteres pueden ser escindidos por esterasas presentes dentro o fuera de las células. Los ésteres están formados por la condensación de un ácido carboxílico y un alcohol. Los ésteres simples son ésteres producidos con alcoholes simples, tales como alcoholes alifáticos y pequeños alcoholes cíclicos y pequeños alcoholes aromáticos.

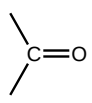
[00174] Los enlaces procargados se derivan de entrecruzadores reactivos cargados que retienen su carga después de la incorporación dentro de un conjugado anticuerpo droga. Pueden hallarse ejemplos de enlaces procargados en la US 2009/0274713.

[00175] Preferiblemente, como se describe en la presente, el enlace L es escindible. Como ejemplos ilustrativos, el enlace puede ser escindible por una proteasa, una glucuronidasa, una sulfatasa, una fosfatasa, una esterasa, o mediante reducción de disulfuros. Preferiblemente, el enlace L es escindible por una proteasa. Más preferiblemente, el enlace es escindible por una catepsina, tal como, en particular, catepsina B. El enlace puede comprender una fracción de dipéptido, tal como por ej. una fracción valina-citrulina o una fracción valina-alanina, que puede ser escindida por una catepsina tal como catepsina B. En concordancia, en algunas formas de realización el enlace comprende una fracción valina-citrulina. En algunas formas de realización el enlace comprende una fracción valina-alanina. El enlace puede comprender un sitio de escisión. El término "sitio de escisión" puede referirse a una fracción química que es reconocida por una enzima, seguido por escisión, por ej. mediante hidrólisis. Como un ejemplo ilustrativo, un sitio de escisión es una secuencia de aminoácidos, que es reconocida por una proteasa o una peptidasa, e hidrolizada por dicha proteasa o peptidasa. En algunas formas de realización, el sitio de escisión es un

dipéptido. En algunas formas de realización, el sitio de escisión es una fracción valina-citrulina. En algunas formas de realización, el sitio de escisión es una fracción valina-alanina.

Segunda Unidad Espaciadora

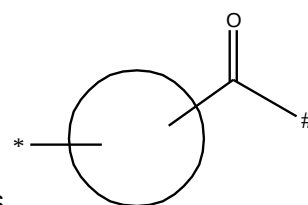
[00176] En formas de realización preferidas, el enlazador (L) comprende una segunda unidad espaciadora -A- que está unida a -Y-. La segunda unidad espaciadora sirve para conectar -Y- a otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D). Como aprecia fácilmente una persona experta en el arte, esto depende de si otra parte del enlazador está presente o no. La segunda unidad espaciadora (-A-) puede ser cualquier grupo o fracción química que es capaz de conectar -Y- a otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. En este sentido, -Y-, como se describe en la presente, está unida a la segunda unidad espaciadora (-A-). La segunda unidad espaciadora (-A-) puede comprender o puede ser un grupo funcional que es capaz de formar un enlace con otra parte del enlazador, cuando está presente, o con la fracción de droga (-D). Nuevamente, esto depende de si la otra parte del enlazador está presente o no. Preferiblemente, el grupo funcional, que es capaz de formar un enlace con otra parte del enlazador, o a una fracción de droga (-C), es un grupo carbonilo

que está representado como, por ej.  o -C(O)-.

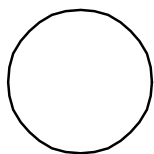
[00177] La segunda unidad espaciadora puede ser cualquier espaciador conocido para una persona experta en el arte, por ejemplo, una fracción basada en un radical hidrocarbonado recto o ramificado. La segunda unidad espaciadora puede comprender también fracciones cíclicas, tal como por ej., pero no limitadas a, fracciones aromáticas. Si la segunda unidad espaciadora es una fracción basada en un radical hidrocarbonado, la cadena principal de la segunda fracción espaciadora puede comprender solamente átomos de carbono pero también puede contener heteroátomos tales como átomos de oxígeno (O), nitrógeno (N) o azufre (S), y/o puede contener grupos carbonilo (C=O). La segunda unidad espaciadora puede comprender o puede ser, por ejemplo, una cadena de átomos de carbono (C₁-C₂₀). En formas de realización típicas de las segundas unidades espaciadoras basadas en radicales hidrocarbonados, la fracción espaciadora comprende entre 1 a aproximadamente 150, 1 a aproximadamente 100, 1 a aproximadamente 75, 1 a aproximadamente 50, o 1 a aproximadamente 40, o 1 a aproximadamente 30, o 1 a aproximadamente 20, incluyendo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 19 átomos de la cadena principal. Una persona experta en el arte sabe seleccionar segundas unidades espaciadoras adecuadas.

[00178] En algunas formas de realización, la segunda unidad espaciadora (–A–), cuando está presente, está seleccionada del grupo que consiste en *-alquileo (C1-C10)-C(O)- #, *-carbociclo (C3-C8)-C(O)-#, *-arileno-C(O)-#, *-alquileo (C1-C10)-arileno-C(O)-#, *-arileno-alquileo (C1-C10)-C(O)-#, *-alquileo (C1-C10)-carbociclo (C3-C8)-C(O)-#, *-carbociclo (C3-C8)-alquileo (C1-C10)-C(O)-#, *-heterociclo (C3-C8)-C(O)-#, *-alquileo (C1-C10)-heterociclo (C3-C8)-C(O)-#, y *-heterociclo (C3-C8)-alquileo (C1-C10)-C(O)-#; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Preferiblemente, la segunda unidad espaciadora (–A_a–), cuando está presente, está seleccionada del grupo que consiste en *-carbociclo (C3-C8)-C(O)-#, *-arileno-C(O)-#, y *-heterociclo (C3-C8)-C(O)-#; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

[00179] En otras formas de realización, la segunda unidad espaciadora (–A–), cuando está presente, puede estar seleccionada del grupo que consiste en *-alquileo (C₁-C₁₀)-#, *-carbociclo (C₃-C₈)-#, *-arileno-#, *-alquileo (C₁-C₁₀)-arileno-#, *-arileno-alquileo (C₁-C₁₀)-#, *-alquileo (C₁-C₁₀)-carbociclo (C₃-C₈)-#, *-carbociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-#, *-heterociclo (C₃-C₈)-#, *-alquileo (C₁-C₁₀)-heterociclo (C₃-C₈)-#, y *-heterociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-#; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Preferiblemente, la segunda unidad espaciadora (–A–), cuando está presente, puede estar seleccionada del grupo que consiste en *-carbociclo (C₃-C₈)-#, *-arileno-#, y *-heterociclo (C₃-C₈)-#; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

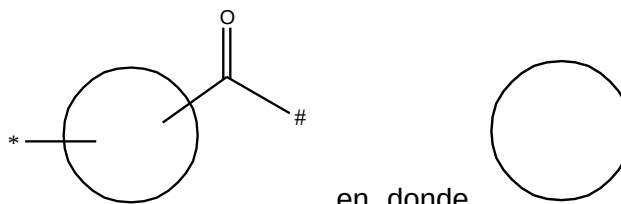


[00180] Preferiblemente, la segunda unidad espaciadora -A- es

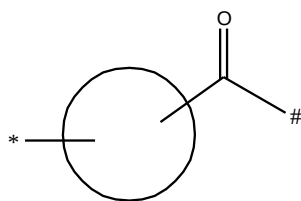


, en donde es un anillo carbocíclico de cinco o seis miembros; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente,

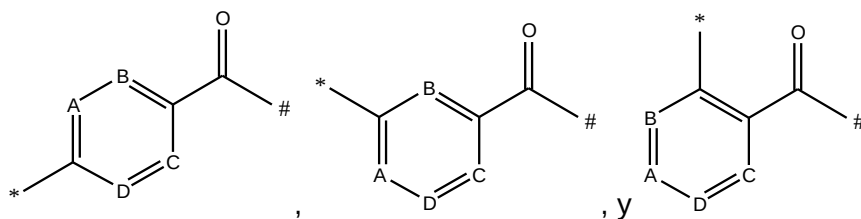
o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. El anillo carbocíclico puede ser aromático o no aromático. Preferiblemente, la segunda



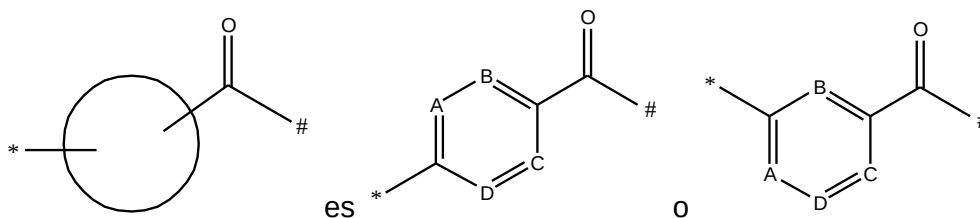
unidad espaciadora -A- es , en donde es un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros que comprende 1, 2, o 3 heteroátomos independientemente seleccionados del grupo que consiste en N, O y S; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. El anillo heterocíclico puede ser aromático o no aromático.



[00181] Más preferiblemente, está seleccionado del grupo que consiste en

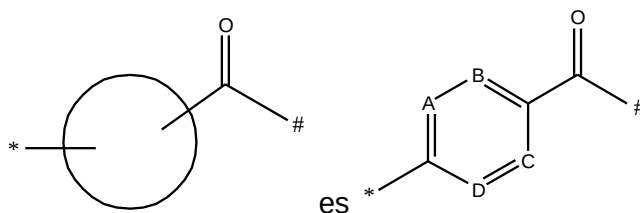


, y , en donde cada uno de A, B, C y D está independientemente seleccionado de N (nitrógeno) y C-H; preferiblemente, al menos uno de A, B, C y D es C-H; más preferiblemente, al menos dos de A, B, C y D son C-H; aún más preferiblemente, al menos tres de A, B, C y D son C-H, aún más preferiblemente, cada uno de A, B, C y D son C-H; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Aún más preferiblemente,

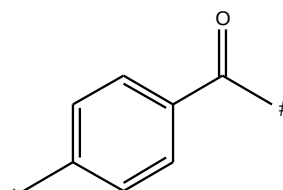


es o , en donde cada uno de A, B, C y D está independientemente seleccionado de N (nitrógeno) y C-H; preferiblemente, al menos uno de A, B, C y D es C-H; más preferiblemente, al menos dos de A, B, C y D son C-H; aún más preferiblemente, al menos tres de A, B, C y D son C-H, aún más preferiblemente, cada uno de A, B, C y D son C-H; en donde * indica el punto de unión a

-Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Aún

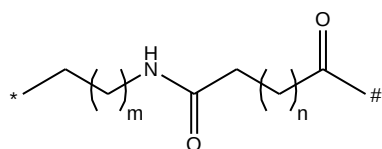


más preferiblemente, es , en donde cada uno de A, B, C y D está independientemente seleccionado de N (nitrógeno) y C-H; preferiblemente, al menos uno de A, B, C y D es C-H; más preferiblemente, al menos dos de A, B, C y D son C-H; aún más preferiblemente, al menos tres de A, B, C y D son C-H, aún más preferiblemente, cada uno de A, B, C y D son C-H; en donde * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. En formas de realización



muy preferidas, la segunda unidad espaciadora A es en donde * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

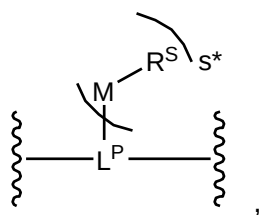
[00182] En otras formas de realización, la segunda unidad espaciadora (-A-) puede ser



; y m y n son cada uno, independientemente, un entero de por ej. desde 0 a 20, 0 a 15, 1 a 10, 1 a 8, 1 a 6, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2, o 1, preferiblemente m es 1 y n es 1; * indica la posición de -Y-, y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Dicha segunda unidad espaciadora puede estar opcionalmente sustituida, por ej. con uno o dos alquilos (C_1 - C_8), en particular en el carbono adyacente al asterisco (*).

Grupo Z

[00183] En formas de realización preferidas, la segunda unidad espaciadora -A- es un grupo Z, en donde el grupo Z tiene la siguiente estructura:



en donde:

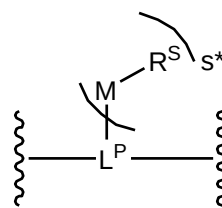
L^P es una unidad conectora paralela;

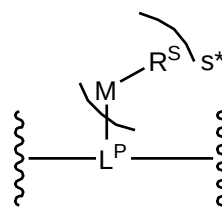
R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol;

M es, cada una independientemente, un enlace o una fracción que une R^S con L^P ;

s^* es un entero en el rango de 1 a 4; y

las líneas onduladas indican el punto de unión a -Y- y a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

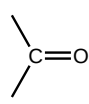


[00184] Como se indica en la fórmula , la segunda unidad de polialquilenglicol R^S está unida a la unidad conectora paralela L^P mediante una fracción adecuada M. En algunas formas de realización, M es un enlace. En algunas formas de realización, M puede ser cualquier fracción que es capaz de unir una unidad de polialquilenglicol con la unidad conectora paralela L^P . Como ejemplos ilustrativos, M puede ser, cada una independientemente, seleccionada del grupo que consiste en -NH-, -O-, S, -C(O)-O-, -C(O)-NH- y -alquileo (C_1 - C_{10}). Preferiblemente, M está cada una independientemente seleccionada del grupo que consiste en -NH-, -O- y -S-. Más preferiblemente, cada M es -O-.

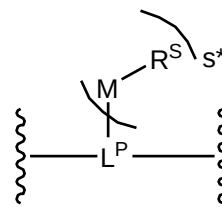
[00185] El entero s^* puede tener un rango de 1 a 4. Preferiblemente, el entero s^* tiene un rango de 1 a 3. Más preferiblemente, el entero s^* es 1 o 2. Aún más preferiblemente, el entero s^* es 1. El entero s^* indica el número de grupos -M- R^S que están unidos a la unidad conectora paralela L^P .

[00186] La unidad conectora paralela (L^P) sirve para conectar -Y- a otra parte del enlazador (L) y, mediante M, a una o más segundas unidades de polialquilenglicol, como se indica mediante el entero s^* . En concordancia, cuando está presente, L^P puede ser cualquier

grupo o fracción química que es capaz de conectar -Y- a otra parte del enlazador y, mediante M, a una segunda unidad de polialquilenglicol. Alternativamente, la unidad conectora paralela (L^P) puede ligar Y a la fracción de droga (D), en caso de que ninguna otra parte del enlazador esté presente, y mediante M, a la segunda unidad de polialquilenglicol. En este sentido, Y, como se describe en la presente, está unida a la unidad conectora paralela (L^P). La unidad conectora paralela (L^P) puede comprender o puede ser un grupo funcional que es capaz de formar un enlace a otra parte del enlazador (L), o a una fracción de droga (D), dependiendo de si la otra parte del enlazador (L) está presente o no. Preferiblemente, el grupo funcional, que es capaz de formar un enlace a otra parte del enlazador (L), o a una fracción de droga (-

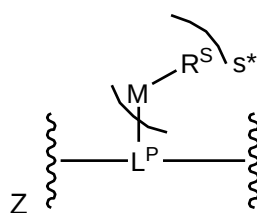
D), es un grupo carbonilo que está representado como, por ej. , o -C(O)-, o -(C=O)-.

[00187] La unidad conectora paralela (L^P) puede ser, por ejemplo, una fracción basada en radical hidrocarbonado recto o ramificado. La unidad conectora paralela (L^P) puede comprender también fracciones cíclicas. Si la unidad conectora paralela (L^P) es una fracción basada en radicales hidrocarbonados, la cadena principal de la segunda fracción espaciadora puede comprender solamente átomos de carbono pero también puede contener heteroátomos tales como átomos de oxígeno (O), nitrógeno (N) o azufre (S), y/o puede contener grupos carbonilo (C=O). La unidad conectora paralela (L^P) puede comprender o puede ser, por ejemplo, una cadena de átomos de carbono (C_1 - C_{20}). En formas de realización típicas de la unidad conectora paralela basada en radicales hidrocarbonados (L^P), la fracción de unión comprende entre 1 a aproximadamente 150, 1 a aproximadamente 100, 1 a aproximadamente 75, 1 a aproximadamente 50, o 1 a aproximadamente 40, o 1 a aproximadamente 30, o 1 a aproximadamente 20, incluyendo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 19 átomos de la cadena principal. La unidad conectora paralela L^P es capaz de unirse a una segunda unidad de polialquilenglicol R^S mediante M. Una persona experta en el arte sabe seleccionar unidades conectoras paralelas adecuadas (L^P).

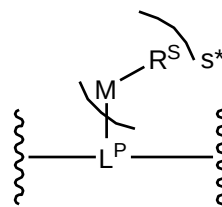


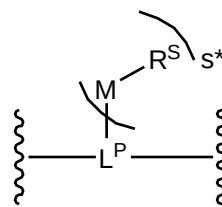
[00188] En algunas formas de realización, el grupo Z , cuando está presente, está seleccionado del grupo que consiste en *-alquileo (C_1 - C_{10})-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 a 3, más preferiblemente 1 o 2, aún más preferiblemente 1 grupo(s) -M- R^S ; *-carbociclo (C_3 - C_8)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M- R^S ;

*-arileno-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-alquileo (C₁-C₁₀)-arileno-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-arileno-alquileo (C₁-C₁₀)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-alquileo (C₁-C₁₀)-carbociclo (C₃-C₈)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-carbociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-heterociclo (C₃-C₈)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-alquileo (C₁-C₁₀)-heterociclo (C₃-C₈)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; y *-heterociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Preferiblemente, el grupo

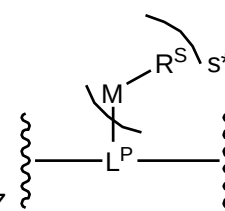


, cuando está presente, está seleccionado del grupo que consiste en *-carbociclo (C₃-C₈)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-arileno-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; y *-heterociclo (C₃-C₈)-C(O)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; * indica el punto de unión a -Y- ; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

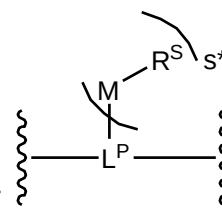


[00189] En otras formas de realización, el grupo Z , cuando está presente, puede estar seleccionado del grupo que consiste en *-alquileo (C₁-C₁₀)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 a 3, más preferiblemente 1 o 2, aún más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-carbociclo (C₃-C₈)-[#] sustituido, cada uno

independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-arileno-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-alquileo (C₁-C₁₀)-arileno-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-arileno-alquileo (C₁-C₁₀)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-alquileo (C₁-C₁₀)-carbociclo (C₃-C₈)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-carbociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-heterociclo (C₃-C₈)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-alquileo (C₁-C₁₀)-heterociclo (C₃-C₈)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; y *-heterociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra

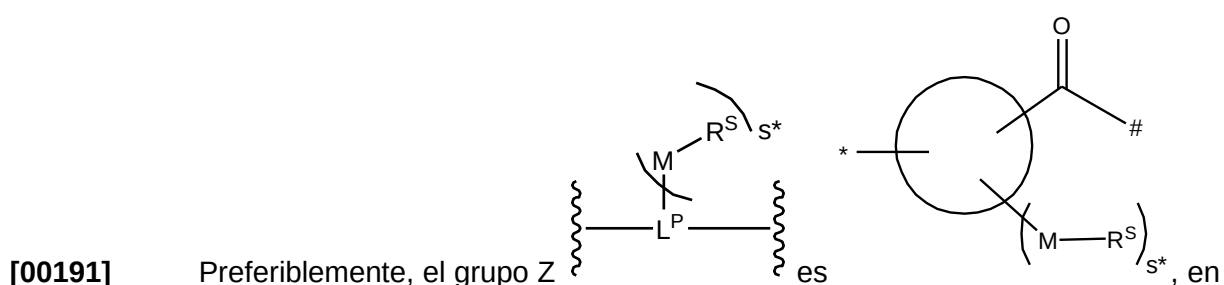


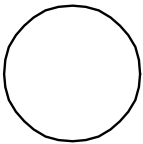
parte del enlazador está presente o no. Preferiblemente, el grupo Z , cuando está presente, puede estar seleccionado del grupo que consiste en *-carbociclo (C₃-C₈)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; *-arileno-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; y *-heterociclo (C₃-C₈)-[#] sustituido, cada uno independientemente, con 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1 grupo(s) -M-R^S; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

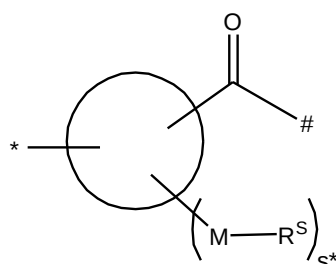


[00190] En algunas formas de realización, L^P en el grupo Z  puede ser uno o más aminoácidos, que comprende una fracción adecuada M de modo que pueda unirse una segunda unidad de polialquilenglicol; preferiblemente s* es 1. El aminoácido puede ser

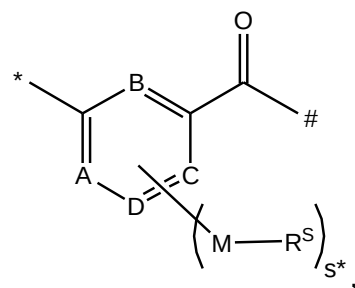
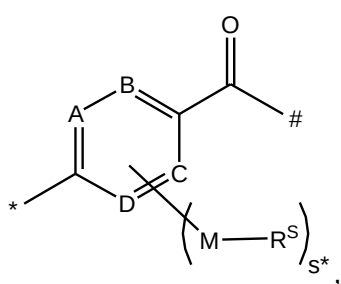
un aminoácido natural o no natural. Por ejemplo, el aminoácido puede estar seleccionado del grupo que consiste en lisina, ácido glutámico, ácido aspártico, serina, tirosina, treonina, cisteína, selenocisteína, glicina, y homoalanina. En particular, el aminoácido puede estar seleccionado del grupo que consiste en tirosina, serina, treonina, ácido glutámico, lisina y glicina. Otras fracciones adecuadas L^P pueden estar seleccionadas del grupo que consiste en aminoalcoholes, amino aldehídos, y poliaminas. Se describen aminoácidos adecuados y grupos adicionales para unirse a una unidad de polialquilenglicol, por ej. en la WO 2015/057699.



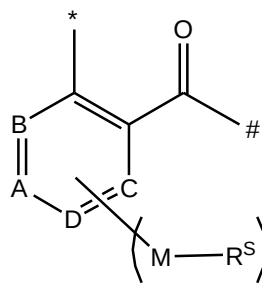
donde  es un anillo carbocíclico de cinco o seis miembros; el anillo carbocíclico puede ser aromático o no aromático; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente, cada M es -O-; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; s^* es un entero en el rango de 1 a 3, preferiblemente s^* es 1 o 2, más preferiblemente s^* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.



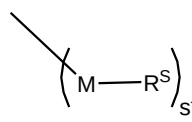
[00192] Más preferiblemente, $(M-R^S)_{s^*}$ está seleccionada del grupo



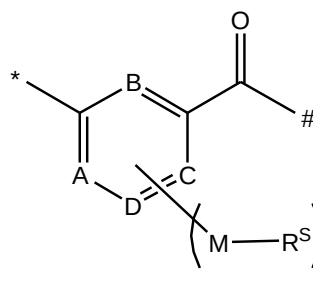
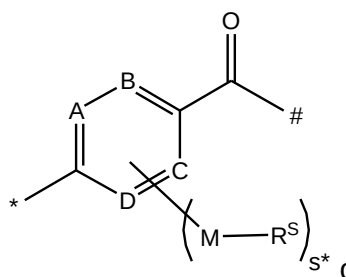
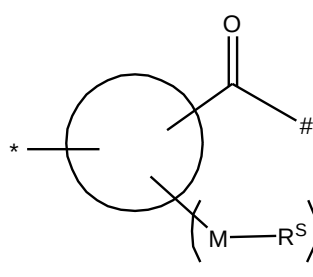
que consiste en



, en donde cada uno de A, B, C y D es C-H; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como



se indica mediante $(M-R^S)_{s^*}$, en dos C-H, independientemente, el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a otra parte del enlazador (por ej. una unidad de aminoácidos - W_w -), cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Aún más preferiblemente,

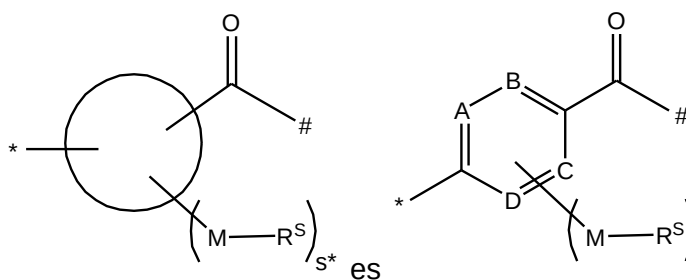


es $(M-R^S)_{s^*}$ o $(M-R^S)_{s^*}$, en donde cada uno de A, B, C y D es C-H; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad

de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M

es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como se indica mediante

, en dos C-H, independientemente el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. Aún más

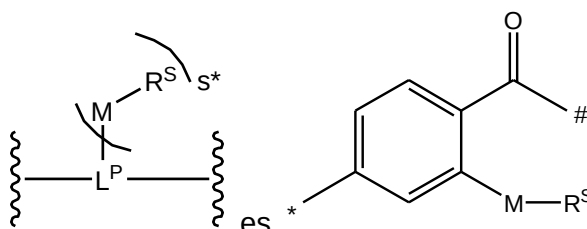


preferiblemente,

de A, B, C y D es C-H; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M

es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como se indica mediante

, en dos C-H, independientemente, el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. En formas

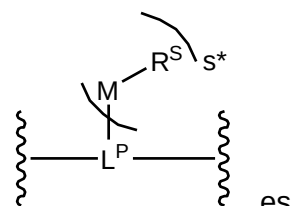


de realización muy preferidas, el grupo Z

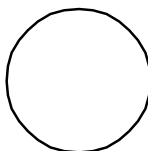
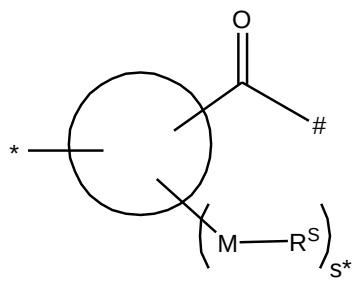
donde R^S es una segunda unidad de polialquilenglicol como se describe en la presente; preferiblemente, R^S es una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es como se describe en la presente; preferiblemente M es -O-; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

[00193]

En algunas formas de realización, el grupo Z



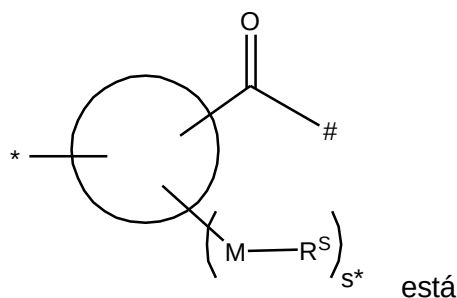
es



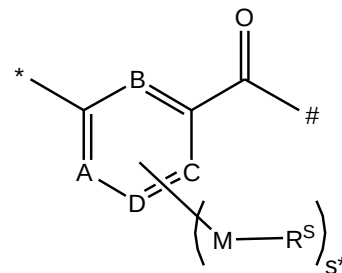
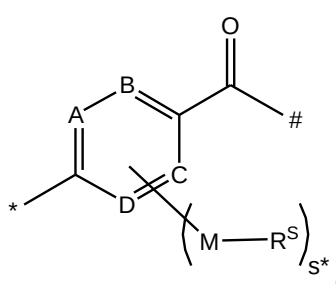
, en donde es un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros que comprende 1 o 2 heteroátomos independientemente seleccionados del grupo que consiste en N, O o S; el anillo heterocíclico puede ser aromático o no aromático; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es - O - ; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; s^* es 1 o 2 (en particular, en el caso de un anillo heterocíclico de seis miembros), preferiblemente s^* es 1 (en particular, en el caso de un anillo heterocíclico de cinco miembros o de seis miembros); * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no.

[00194]

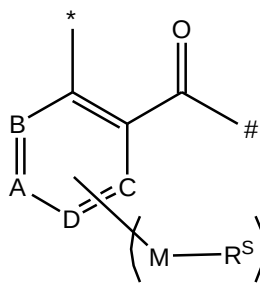
En algunas formas de realización,



está

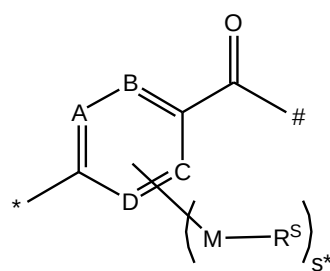
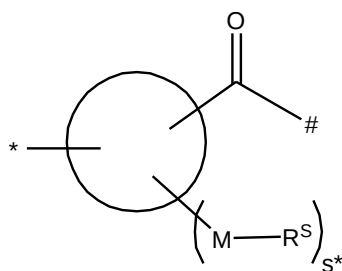


seleccionada del grupo que consiste en

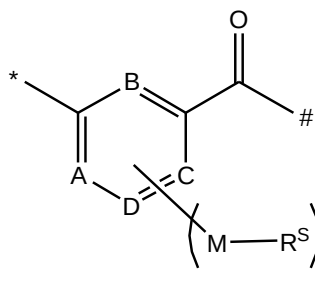


, y $(M-R^S)_{s^*}$, en donde tres de A, B, C y D son, independientemente, C-H, y uno de A, B, C y D es, independientemente, N; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M

es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como se indica mediante $(M-R^S)_{s^*}$, en dos C-H, independientemente, el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. En algunas



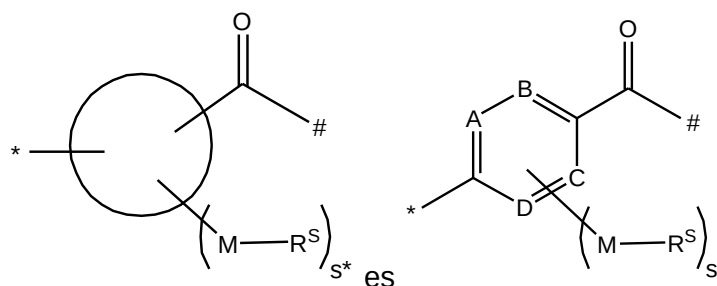
formas de realización,



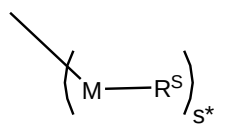
, en donde tres de A, B, C y D son, independientemente, C-H, y uno de A, B, C y D es, independientemente, N; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M

es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como se indica mediante $(M-R^S)_{s^*}$, en dos C-H, independientemente el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 2, o en un

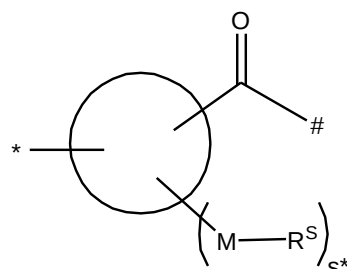
C-H el H está reemplazado con $-M-R^S$ cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a $-Y-$; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no. En algunas



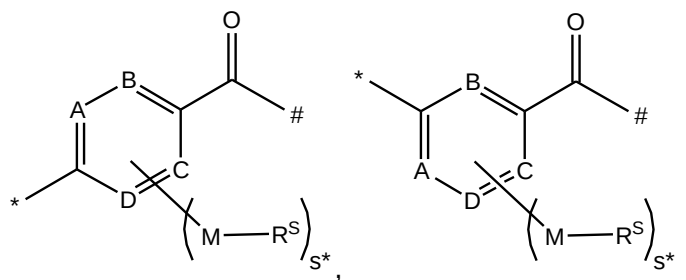
formas de realización, s^* es, en donde tres de A, B, C y D son, independientemente, C-H, y uno de A, B, C y D es, independientemente, N; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es $-O-$; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente



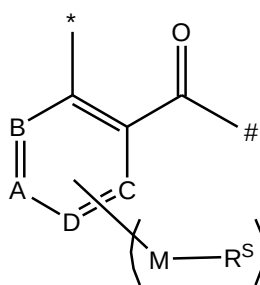
s^* es 1; como se indica mediante s^* , en dos C-H, independientemente, el H está reemplazado con $-M-R^S$ cuando s^* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con $-M-R^S$ cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a $-Y-$; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no



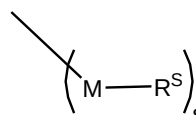
[00195] En algunas formas de realización, s^* está



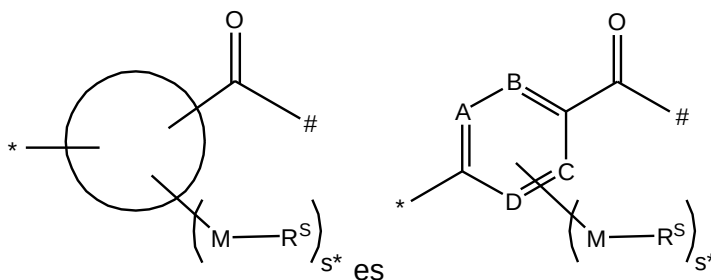
seleccionada del grupo que consiste en



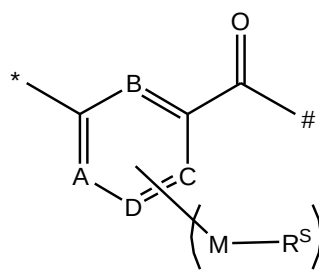
y $(M-R^S)_{s^*}$, en donde dos de A, B, C y D son, independientemente, C-H, y dos de A, B, C y D son, independientemente, N; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como se indica



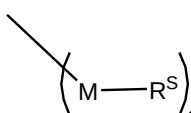
mediante $(M-R^S)_{s^*}$, en dos C-H, independientemente, el H está reemplazado con -M- R^S cuando s^* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con R^S cuando s^* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o

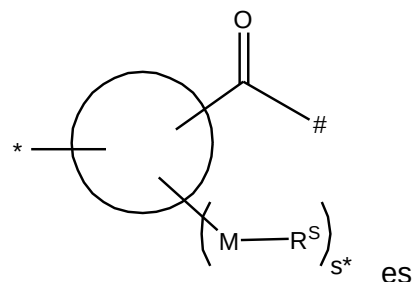


no. En algunas formas de realización,

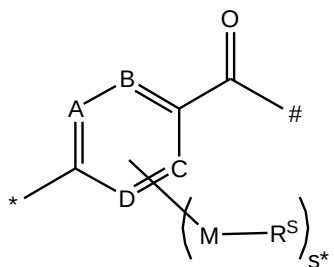


o $(M-R^S)_{s^*}$, en donde dos de A, B, C y D son, independientemente, C-H, y dos de A, B, C y D son, independientemente, N; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es -O-; el entero s^* es 1 o 2, preferiblemente s^* es 1; como se indica

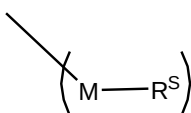
mediante , en dos C-H, independientemente el H está reemplazado con -M-R^S cuando s* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con -M-R^S cuando s* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está



presente o no. En algunas formas de realización,



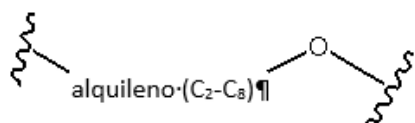
, en donde dos de A, B, C y D son, independientemente, C-H, y dos de A, B, C y D son, independientemente, N; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es -O-; el entero s* es 1 o 2, preferiblemente s* es 1; como se indica

mediante , en dos C-H, independientemente, el H está reemplazado con -M-R^S cuando s* es 2, o en un C-H el H está reemplazado con -M-R^S cuando s* es 1; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga (-D), dependiendo de si la otra parte del enlazador está presente o no

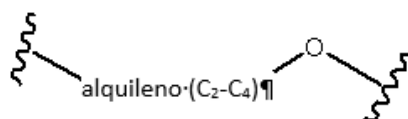
Segunda Unidad de Polialquilenglicol R^S

[00196] El término “segunda unidad de polialquilenglicol”, como se utiliza en la presente, se refiere a una unidad de polialquilenglicol unida a la unidad conectora paralela (L^P), que está presente en el grupo Z, mediante M. La segunda unidad de polialquilenglicol comprende al menos una subunidad de alquilenglicol. Preferiblemente, la segunda unidad de

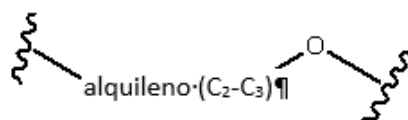
polialquilenglicol R^S comprende una o más subunidades de alquilenglicol que tienen la siguiente estructura:



Más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S comprende una o más subunidades de alquilenglicol que tienen la



siguiente estructura: . En concordancia, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser una unidad de poli(tetrametilenglicol), una unidad de poli(propilenglicol), o una unidad de poli(etilenglicol). Aún más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende una o más subunidades de alquilenglicol que tienen la



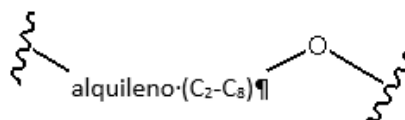
siguiente estructura:

[00197] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S , cada una independientemente, comprende desde 1 a 100 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S , cada una independientemente, comprende desde 2 a 50 subunidades de alquilenglicol. Aún más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende, cada una independientemente, desde 3 a 45 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Aún más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol, cada una independientemente, comprende desde 4 a 40 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Aún más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol, cada una independientemente, comprende desde 6 a 35 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Incluso más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol, cada una independientemente comprende desde 8 a 30 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente.

[00198] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S , cada una independientemente, comprende desde 1 a 20 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente. Más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S comprende, cada una independientemente, desde 2 a 12 subunidades de alquilenglicol. Aún más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende, cada una

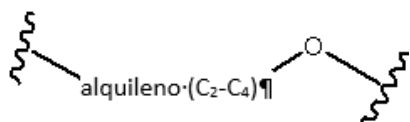
independientemente, desde 3 a 11 subunidades de alquilenglicol como se describe en la presente.

[00199] La segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 1 a 100, preferiblemente desde 2 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a

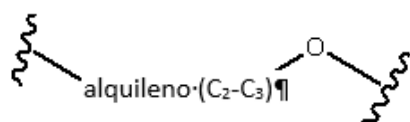


30 subunidades que tienen la estructura: . Preferiblemente,

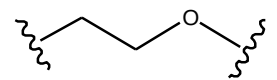
la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 1 a 100, preferiblemente desde 2 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades que tienen la estructura:



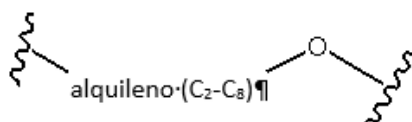
. Más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 1 a 100, más preferiblemente desde 2 a 50, aún más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades que tienen la estructura:



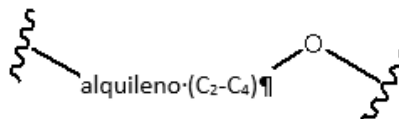
. En formas de realización muy preferidas, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polietilenglicol que comprende desde 1 a 100, preferiblemente desde 2 a 50, más preferiblemente 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades que tienen la estructura:



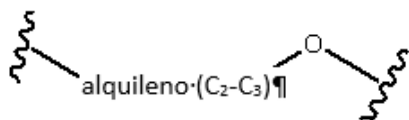
[00200] La segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 1 a 20, preferiblemente desde 2 a 12, más preferiblemente desde 3 a 11 subunidades que tienen la



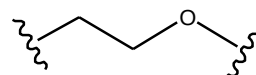
estructura: . Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 1 a 20, preferiblemente desde 2 a 12, más preferiblemente desde 3 a



11 subunidades que tienen la estructura: . Más preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polialquilenglicol que comprende desde 1 a 20, más preferiblemente desde 2 a 12, aún más preferiblemente desde 3 a 11 subunidades que tienen

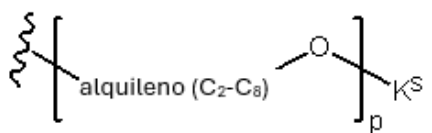


la estructura: . En formas de realización muy preferidas, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una unidad de polietilenglicol que comprende desde 1 a 20, preferiblemente desde 2 a 12, más



preferiblemente 3 a 11 subunidades que tienen la estructura:

[00201] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol RS es, cada una independientemente,



en donde:



indica la posición de M en el grupo Z ;

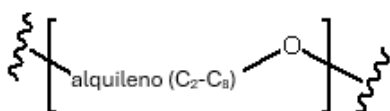
K^S es H o un segundo grupo de terminación; preferiblemente K^S está seleccionado del grupo que consiste en $-H$ (hidrógeno), $-PO_3H$, $-alquilo (C_1-C_{10})$, $-alquil (C_1-C_{10})-SO_3H$, $-alquil (C_2-C_{10})-CO_2H$, $-alquil (C_2-C_{10})-OH$, $-alquil (C_2-C_{10})-NH_2$, $-alquil (C_2-C_{10})-NH-$ $alquilo (C_1-C_3)$ y $-alquil (C_2-C_{10})-N(alquilo (C_1-C_3))_2$; más preferiblemente K^S es H ; y

p es un entero en el rango de 1 a 100.

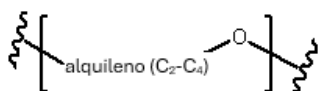
[00202] El “segundo grupo de terminación”, cuando se refiere en la presente, puede ser cualquier fracción que es capaz de funcionar como un grupo terminal de la segunda unidad de polialquilenglicol. Los ejemplos para el segundo grupo de terminación, que puede utilizarse en la presente descripción, incluyen -PO₃H, -alquilo (C₁-C₁₀), -alquil (C₁-C₁₀)-SO₃H, -alquil (C₂-C₁₀)-CO₂H, -alquil (C₂-C₁₀)-OH, -alquil (C₂-C₁₀)-NH₂, -alquil (C₂-C₁₀)-NH-alquilo (C₁-C₃) y -alquil (C₂-C₁₀)-N(alquilo (C₁-C₃))₂. En algunas formas de realización, el primer grupo de terminación puede ser -alquilo (C₁-C₁₀), en particular metilo.

[00203] Preferiblemente, K^S es H (hidrógeno).

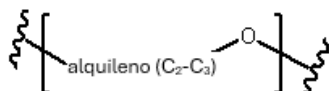
[00204] El entero p indica el número de unidades de repetición



en la segunda unidad de polialquilenglicol. El entero p puede estar en el rango de 1 a 100. Preferiblemente, p está en el rango de 2 a 50. Más preferiblemente, p está en el rango de 3 a 45. Más preferiblemente, p está en el rango de 4 a 40. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 6 a 35. Incluso más preferiblemente, p está en el rango de 8 a 30. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 4 a 16. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 8 a 16. Aún más preferiblemente, p es 10, 11, 12, 13 o 14. Aún más preferiblemente, p es 11, 12 o 13. En formas de realización preferidas, p es 12 o aproximadamente 12. Incluso más preferiblemente, p está en el rango de 16 a 30. Incluso más preferiblemente, p está en el rango de 20 a 28. Incluso más preferiblemente, p es 22, 23, 24, 25 o 26. Incluso más preferiblemente, p es 23, 24 o 25. En formas de realización preferidas, p es 24 o aproximadamente 24. Preferiblemente, la unidad de repetición es

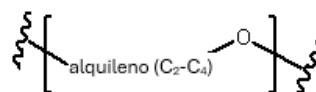


Más preferiblemente, la unidad de repetición es



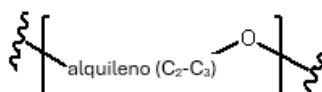
[00205] En la segunda unidad de polialquilenglicol, el entero p puede estar en el rango de 1 a 20. Preferiblemente, p está en el rango de 2 a 12. Más preferiblemente, p está en el

rango de 3 a 11. Preferiblemente, la unidad de repetición es



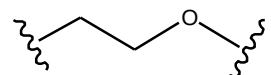
. Más

preferiblemente, la unidad de repetición es



[00206] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S comprende

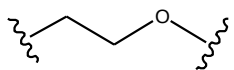
subunidades de etilenglicol que tienen cada una la siguiente estructura:



es decir esta subunidad es indicada como “subunidad de etilenglicol”. En concordancia, preferiblemente la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol. La segunda unidad de polietilenglicol comprende al menos una subunidad de etilenglicol.

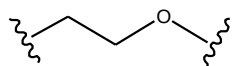
[00207] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol que comprende desde 1 a 100, preferiblemente desde 2 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a

30 subunidades que tienen la estructura:

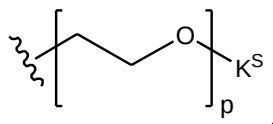


[00208] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S puede ser, cada una independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol que comprende desde 1 a 20, preferiblemente desde 2 a 12, más preferiblemente desde 3 a 11 subunidades que tienen

la estructura:



[00209] Preferiblemente, la segunda unidad de polialquilenglicol R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol que tiene la estructura:



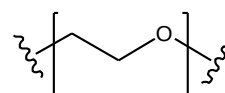
en donde:



indica la posición de M en el grupo Z;

K^S es H (hidrógeno) o un segundo grupo de terminación como se describe en la presente; preferiblemente K^S está seleccionada del grupo que consiste en -H (hidrógeno), $-PO_3H$, -alquilo (C_1-C_{10}), -alquil (C_1-C_{10})- SO_3H , -alquil (C_2-C_{10})- CO_2H , -alquil (C_2-C_{10})-OH, -alquil (C_2-C_{10})- NH_2 , -alquil (C_2-C_{10})-NH-alquilo (C_1-C_3) y -alquil (C_2-C_{10})-N(alquilo (C_1-C_3))₂; más preferiblemente K^S es H; y

p es un entero en el rango de 1 a 100.



[00210] El entero p indica el número de unidades de repetición en la segunda unidad de polietilenglicol. El entero p puede estar en el rango de 1 a 100. Preferiblemente, p está en el rango de 2 a 50. Más preferiblemente, p está en el rango de 3 a 45. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 4 a 40. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 6 a 35. Incluso más preferiblemente, p está en el rango de 8 a 30. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 4 a 16. Aún más preferiblemente, p está en el rango de 8 a 16. Aún más preferiblemente, p es 10, 11, 12, 13 o 14. Aún más preferiblemente, p es 11, 12 o 13. En formas de realización preferidas, p es 12 o aproximadamente 12. Incluso más preferiblemente, p está en el rango de 16 a 30. Incluso más preferiblemente, p está en el rango de 20 a 28. Incluso más preferiblemente, p es 22, 23, 24, 25 o 26. Incluso más preferiblemente, p es 23, 24 o 25. En formas de realización preferidas, p es 24 o aproximadamente 24.

[00211] En la segunda unidad de polietilenglicol, el entero p puede estar en el rango de 1 a 20. Preferiblemente, p está en el rango de 2 a 12. Más preferiblemente, p está en el rango de 3 a 11.

[00212] En general, en la segunda unidad de polialquilenglicol R^S , (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol), pueden utilizarse polialquilenglicoles polidispersos (preferiblemente, polietilenglicoles polidispersos), polialquilenglicoles monodispersos (preferiblemente, polietilenglicol monodisperso), y polialquilenglicoles discretos (preferiblemente, polietilenglicoles discretos). Los polialquilenglicoles polidispersos (preferiblemente, polietilenglicoles polidispersos) son una mezcla heterogénea de tamaños y pesos moleculares, mientras que los polialquilenglicoles monodispersos (preferiblemente, polietilenglicoles monodispersos) están típicamente purificados a partir de mezclas heterogéneas y en consecuencia proporcionan una única longitud de cadena y peso

molecular. Las segundas unidades de polialquilenglicol preferidas son polialquilenglicoles discretos (preferiblemente, polietilenglicoles discretos), es decir compuestos que son sintetizados de manera en etapas y no mediante un proceso de polimerización. Los polialquilenglicoles discretos (preferiblemente, polietilenglicoles discretos) proporcionan una única molécula con longitud de cadena definida y especificada.

[00213] La segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) proporcionada en la presente comprende una o múltiples cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol). Las cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) pueden estar unidas entre sí, por ejemplo, en una configuración lineal, ramificada o con forma de estrella. Opcionalmente, al menos una de las cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) puede estar derivatizada en un extremo para unión covalente a M en el grupo Z.

[00214] La segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) estará unida al conjugado (o intermediario del mismo) en M en el grupo Z. El otro extremo (o extremos) de la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) estará libre y sin ligaduras y puede tomar la forma de un hidrógeno, metoxi, ácido carboxílico, alcohol u otro grupo funcional adecuado, tal como por ej. cualquier segundo grupo de terminación como se describe en la presente. El metoxi, ácido carboxílico, alcohol u otro grupo funcional adecuado actúa como una terminación para la subunidad de polialquilenglicol terminal (preferiblemente, subunidad de polietilenglicol) de la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol). Por “sin ligaduras”, se quiere significar que la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) no estará unida en ese sitio sin ligaduras a una fracción de droga (D), a una molécula de unión a receptor, o a un componente del enlazador (L) que une una fracción de droga y/o una molécula de unión a receptor. Para aquellas formas de realización en donde la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) comprende más de una cadena de polialquilenglicol (preferiblemente, cadena de polietilenglicol), las múltiples cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) pueden ser las mismas o diferentes fracciones químicas (por ej. polialquilenglicoles, en particular polietilenglicoles, de diferente peso molecular o número de subunidades). Las múltiples segundas cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, segundas cadenas de polietilenglicol) están unidas a M en el grupo Z en un único sitio de unión. La persona experta comprenderá que la segunda unidad

de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) además de comprender subunidades de polialquilenglicol repetidas (preferiblemente, subunidades de polietilenglicol) pueden contener también material distinto de polialquilenglicol (preferiblemente, material distinto de polietilenglicol) (por ej. para facilitar el acoplamiento de múltiples cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) entre sí o para facilitar el acoplamiento a M en el grupo Z. Material distinto de polialquilenglicol (preferiblemente, material distinto de polietilenglicol) se refiere a los átomos en la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) que no son parte de las subunidades de alquilenglicol repetidas (preferiblemente, subunidades - CH₂CH₂O-). En las formas de realización proporcionadas en la presente, la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) pueden comprender dos cadenas de polialquilenglicol monoméricas (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) unidas entre sí mediante elementos no polialquilenglicol (preferiblemente, no polietilenglicol). En otras formas de realización proporcionadas en la presente, la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) puede comprender dos cadenas de polialquilenglicol lineales (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) unidas a un núcleo central que está unido a M en el grupo Z (es decir la unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, unidad de polietilenglicol) es ramificada).

[00215] Existe un número de métodos de unión de polialquilenglicol (preferiblemente, polietilenglicol) disponibles para aquellos expertos en el arte, [ver, por ej. EP 0 401 384 (acoplamiento de PEG a G-CSF); U.S. Pat. N° 5.757.078 (PEGilación de péptidos EPO); U.S. Pat. N° 5.672.662 (Polietilenglicol) y polímeros monosustituidos relacionados con ácidos propiónico o butanoico y derivados funcionales de los mismos para aplicaciones biotécnicas); U.S. Pat. N° 6.077.939 (PEGilación de un N- terminal .alfa.-carbono de un péptido); y Veronese (2001) Biomaterials 22:405-417 (Artículo de revisión en PEGilación de péptidos y proteínas)].

[00216] Por ejemplo, polialquilenglicol (preferiblemente, polietilenglicol) puede estar covalentemente unido a residuos aminoácidos mediante un grupo reactivo. Los grupos reactivos son aquellos a los cuales puede unirse una molécula de polialquilenglicol (preferiblemente, molécula de polietilenglicol) activada (por ej. un grupo amino o carboxilo libres). Por ejemplo, residuos aminoácidos N-terminales y residuos lisina (K) tienen un grupo amino libre; y residuos aminoácidos C-terminales tienen un grupo carboxilo libre. También pueden utilizarse grupos sulfhidrilo (por ej. como se hallan en residuos cisteína) como un grupo reactivo para unir polialquilenglicol (preferiblemente, polietilenglicol). Además, se han

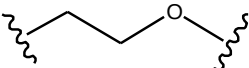
descripto métodos asistidos por enzimas para introducir grupos activados (por ej. grupos hidrazida, aldehído, y amino-aromáticos) específicamente en el extremo C-terminal de un polipéptido (ver Schwarz, et al. (1990) *Methods Enzymol.* 184:160; Rose, et al. (1991) *Bioconjugate Chem.* 2: 154; y Gaertner, et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:7224].

[00217] En algunas formas de realización, al menos una de las cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol) que constituyen la segunda unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, segunda unidad de polietilenglicol) puede ser funcionalizada de modo que pueda unirse a M en el grupo Z, o a la unidad conectora paralela L^P en el grupo Z cuando M es un enlace. La funcionalización puede ser, por ejemplo, mediante una amina, tiol, éster NHS, alquino, azida, carbonilo, u otro grupo funcional. La unidad de polialquilenglicol (preferiblemente, unidad de polietilenglicol) puede comprender además material distinto de polialquilenglicol (preferiblemente, material distinto de polietilenglicol, es decir material que no comprende -CH₂CH₂O-) para facilitar el acoplamiento a M en el grupo Z o a la unidad conectora paralela, cuando M es un enlace, o para facilitar el acoplamiento de dos o más cadenas de polialquilenglicol (preferiblemente, cadenas de polietilenglicol).

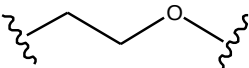
[00218] En formas de realización preferidas, la segunda unidad de polialquilenglicol, más preferiblemente la segunda unidad de polietilenglicol, está directamente unida a M en el grupo Z. En estas formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol, preferiblemente segunda unidad de polietilenglicol no comprende un grupo funcional para unión a M en el grupo Z, es decir M está directamente unida a un átomo de carbono de la segunda unidad de polialquilenglicol, más preferiblemente a un CH₂ de la segunda unidad de polietilenglicol. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización M no es un enlace.

[00219] En un grupo de formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende al menos 1 subunidad de alquilenglicol, preferiblemente al menos 2 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente al menos 3 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 4 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 6 subunidades de alquilenglicol, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En algunas de dichas formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende no más de aproximadamente 100 subunidades de alquilenglicol, preferiblemente no más de aproximadamente 50 unidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de aproximadamente 45 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de aproximadamente 40 subunidades de alquilenglicol, más

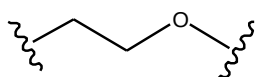
preferiblemente no más de aproximadamente 35 subunidades, incluso más preferiblemente no más de aproximadamente 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que

tienen la siguiente estructura: . Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol.

[00220] En un grupo de formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende una o más cadenas de polialquilenglicol lineales teniendo cada una al menos 1 subunidad de alquilenglicol, preferiblemente al menos 2 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente al menos 3 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 4 subunidades de alquilenglicol, aún más preferiblemente al menos 6 subunidades de alquilenglicol, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En formas de realización preferidas, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende un total combinado de al menos 1 subunidad de alquilenglicol, preferiblemente al menos 2 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente al menos 3, aún más preferiblemente al menos 4, aún más preferiblemente al menos 6, o incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En algunas de dichas formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende no más de un total combinado de aproximadamente 100 subunidades de alquilenglicol, preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 50 subunidades de alquilenglicol, más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 45 subunidades, aún más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 40 subunidades, aún más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 35 subunidades, incluso más preferiblemente no más de un total combinado de aproximadamente 30 subunidades. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que

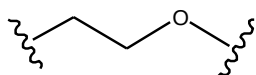
tienen la siguiente estructura: . Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol que comprende una o más cadenas de polietilenglicol lineales.

[00221] En otro grupo de formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende un total combinado desde 1 a 100, preferiblemente desde 2 a 50, más preferiblemente desde 3 a 45, aún más preferiblemente desde 4 a 40, aún más preferiblemente desde 6 a 35, incluso más preferiblemente desde 8 a 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la siguiente estructura:



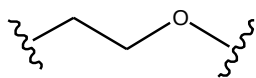
. Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol.

[00222] En otro grupo de formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol comprende una o más cadenas de polialquilenglicol lineales que tienen un total combinado desde 1 a 100, preferiblemente 2 a 50, más preferiblemente 3 a 45, aún más preferiblemente 4 a 40, aún más preferiblemente 6 a 35, incluso más preferiblemente 8 a 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la siguiente estructura:



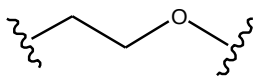
. Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol que comprende una o más cadenas de polietilenglicol lineales.

[00223] En otro grupo de formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol es una cadena de polialquilenglicol única lineal que tiene al menos 1 subunidad, preferiblemente al menos 2 subunidades, más preferiblemente al menos 3 subunidades, aún más preferiblemente al menos 6 subunidades, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la siguiente estructura:



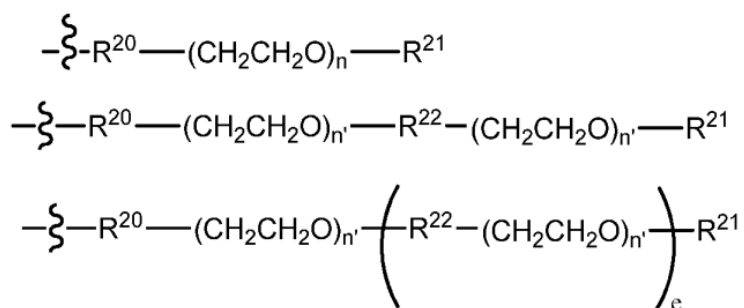
. Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol que es una cadena de polietilenglicol lineal única. Opcionalmente, en una cualquiera de estas formas de realización la cadena de polietilenglicol lineal única puede estar derivatizada.

[00224] En otro grupo de formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol es una cadena de polialquilenglicol única lineal que tiene de 1 a 100, preferiblemente 2 a 50, más preferiblemente 3 a 45, más preferiblemente 4 a 40, más preferiblemente 6 a 35, más preferiblemente 8 a 30 subunidades de alquilenglicol. En una cualquiera de estas formas de realización, la subunidad de alquilenglicol puede ser cualquier subunidad de alquilenglicol como se describe en la presente. Preferiblemente, en una cualquiera de estas formas de realización, cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol que tienen la



siguiente estructura: . Preferiblemente, cuando cada subunidad de alquilenglicol es una subunidad de etilenglicol, en una cualquiera de estas formas de realización la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol que es una cadena de polietilenglicol lineal única. Opcionalmente, en una cualquiera de estas formas de realización la cadena de polietilenglicol lineal única puede estar derivatizada.

[00225] Las unidades de polietilenglicol lineales a modo de ejemplo que pueden utilizarse como segunda unidad de polialquilenglicol, en particular como una segunda unidad de polietilenglicol, en una cualquiera de las formas de realización provistas en la presente son como sigue:



en donde la línea ondulada indica el sitio de unión a M en el grupo Z;

R²⁰ es una unidad de unión PEG; preferiblemente, R²⁰ está ausente; más preferiblemente, M no es un enlace;

R²¹ es una unidad de terminación PEG (en la presente, R²¹ también está indicado como “K^S”);

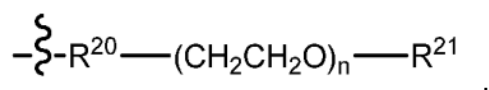
R²² es una unidad de acoplamiento PEG (es decir para acoplar múltiples cadenas de subunidades PEG en conjunto);

n está independientemente seleccionada de 1 a 100, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 3 a 45, más preferiblemente de 4 a 40, aún más preferiblemente de 6 a 35, incluso más preferiblemente de 8 a 30;

e es 2 a 5;

cada n' está independientemente seleccionada de 1 a 100, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 3 a 45, más preferiblemente de 4 a 40, aún más preferiblemente de 6 a 35, incluso más preferiblemente de 8 a 30. En formas de realización preferidas, hay al menos 1, preferiblemente al menos 2, más preferiblemente al menos 3, más preferiblemente al menos 4, más preferiblemente al menos 6, incluso más preferiblemente al menos 8 subunidades de etilenglicol en la unidad de polietilenglicol. En algunas formas de realización, no hay más de 100, preferiblemente no más de 50, más preferiblemente no más de 45, más preferiblemente no más de 40, más preferiblemente no más de 35, incluso más preferiblemente no más de 30 subunidades de etilenglicol en la unidad de polietilenglicol. Cuando R²⁰ está ausente, una subunidad (CH₂CH₂O) está directamente unida a M en el grupo Z; más preferiblemente, en dichas formas de realización M no es un enlace.

[00226] Preferiblemente, la unidad de polietilenglicol lineal es



en donde la línea ondulada indica el sitio de unión a M en el grupo Z; R²⁰, R²¹ (también indicado en la presente como “K^S”) y n son como se define en la presente; más preferiblemente R²⁰ está ausente; aún más preferiblemente, M no es un enlace. En formas de realización preferidas, n es 12 o aproximadamente 12. En formas de realización preferidas, n es 24 o aproximadamente 24. Preferiblemente, R²¹ es H.

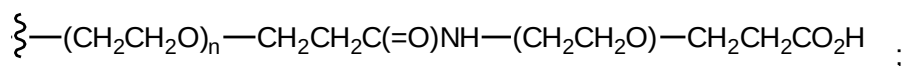
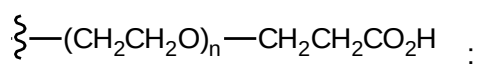
[00227] La unidad de unión de polietilenglicol R²⁰, cuando está presente, es parte de la segunda unidad de polietilenglicol y actúa para ligar la segunda unidad de polietilenglicol a M. En estas formas de realización, preferiblemente M no es un enlace y forma un enlace con la segunda unidad de polietilenglicol. En formas de realización a modo de ejemplo, la unidad de

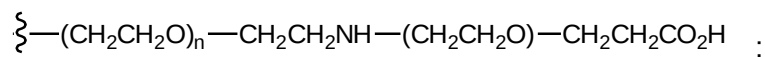
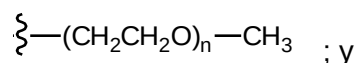
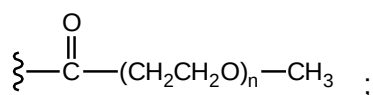
unión PEG R²⁰, cuando está presente, está seleccionada del grupo que consiste en *-C(O)-#, *-S(O)-#, *-C(O)O-#, *-C(O)-alquilo (C₁-C₁₀)-#, *-C(O)-alquil (C₁-C₁₀)-O-#, *-C(O)-alquil (C₁-C₁₀)-CO₂-#, *-C(O)-alquil (C₁-C₁₀)-NH-#, *-C(O)-(C₁-C₁₀) alquil -S-#; *-C(O)-(C₁-C₁₀) alquil -C(O)-NH-#, *-C(O)-(C₁-C₁₀) alquil -NH-C(O)-#; -alquil (C₁-C₁₀)-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-O-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)O-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-NH-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-S-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)-NH-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-NH-C(O)-#, y *-CH₂-CH₂SO₂-alquil (C₁-C₁₀)-#, *-CH₂-C(O)-alquil (C₁-C₁₀)-#; en donde * indica el punto de unión a M en el grupo Z, y # indica el punto de unión a una unidad de etilenglicol..

[00228] La unidad de acoplamiento de PEG R²², cuando está presente, es parte de la segunda unidad de polietilenglicol y es material distinto de PEG que actúa para conectar dos o más cadenas de subunidades -CH₂CH₂O- en repetición. En formas de realización a modo de ejemplo, la unidad de acoplamiento de PEG R²², cuando está presente, está independientemente seleccionada del grupo que consiste en *-alquil (C₁-C₁₀)-C(O)-NH-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-NH-C(O)-#, *-alquil (C₂-C₁₀)-NH-#, *-alquil (C₂-C₁₀)-O-#, *-alquil (C₁-C₁₀)-S-#, o *-alquil (C₂-C₁₀)-NH-#; en donde * indica el punto de unión a un átomo de oxígeno de una subunidad de etilenglicol, y # indica el punto de unión a un átomo de carbono de otra subunidad de etilenglicol.

[00229] El grupo R²¹, también indicado en la presente como “K^S”, en formas de realización a modo de ejemplo es H (hidrógeno), o puede ser un segundo grupo de terminación, como se describe en la presente; preferiblemente, R²¹ está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -H, -PO₃H, -alquilo (C₁-C₁₀), -alquil (C₁-C₁₀)-SO₃H, -alquil (C₂-C₁₀)-CO₂H, -alquil (C₂-C₁₀)-OH, -alquil (C₂-C₁₀)-NH₂, -alquil (C₂-C₁₀)-NH-alquilo (C₁-C₃) y -alquil (C₂-C₁₀)-N(alquilo (C₁-C₃))₂. En algunas formas de realización R²¹ puede ser -alquilo (C₁-C₁₀), en particular metilo. Más preferiblemente R²¹ es H.

[00230] Segundas unidades de polietilenglicoles lineales ilustrativas, que pueden utilizarse como segundas unidades de polialquilenglicol en una cualquiera de las formas de realización provistas en la presente, son como sigue.





en donde la línea ondulada indica el sitio de unión a M en el grupo Z; preferiblemente, M no es un enlace; y cada n es desde 1 a 100, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 3 a 45, aún más preferiblemente de 4 a 40, aún más preferiblemente de 6 a 35, incluso más preferiblemente de 8 a 30. En algunas formas de realización, n es aproximadamente 12. En algunas formas de realización, n es aproximadamente 24.

[00231] En algunas formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol es desde aproximadamente 300 daltons a aproximadamente 5 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 4 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 3 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 2 kilodaltons; o desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 1 kilodalton. En algunos de dichos aspectos, la segunda unidad de polialquilenglicol tiene al menos 6 subunidades de alquilenglicol o al menos 8 subunidades de alquilenglicol. En algunos de dichos aspectos, la segunda unidad de polialquilenglicol puede tener al menos 6 subunidades de alquilenglicol o al menos 8 subunidades de alquilenglicol pero no más de 100 subunidades de alquilenglicol, preferiblemente no más de 50 subunidades de alquilenglicol. En algunas formas de realización, la segunda unidad de polialquilenglicol es una segunda unidad de polietilenglicol que es desde aproximadamente 300 daltons a aproximadamente 5 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 4 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 3 kilodaltons; desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 2 kilodaltons; o desde aproximadamente 300 daltons, a aproximadamente 1 kilodalton. En algunos de dichos aspectos, la segunda unidad de polietilenglicol puede tener al menos 6 subunidades de etilenglicol o al menos 8 subunidades de etilenglicol. En algunos de dichos aspectos, la segunda unidad de polietilenglicol puede tener al menos 6 subunidades de etilenglicol o al menos 8 subunidades de etilenglicol pero no más de 100 subunidades de etilenglicol, preferiblemente no más de 50 subunidades de etilenglicol.

[00232] En algunas formas de realización, cuando una segunda unidad de polialquilenglicol R^S está presente, no hay otras subunidades de alquilenglicol presentes en el conjugado de la Fórmula (I) (es decir ninguna subunidad de alquilenglicol está presente en cualquiera de los otros componentes del conjugado, tal como por ej. en otra parte del enlazador L como se proporciona en la presente). En otros aspectos, cuando una segunda unidad de polialquilenglicol R^S está presente, no hay más de 8, no más de 7, no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 de otras subunidades de alquilenglicol presentes en el conjugado de la Fórmula (I) (es decir no más de 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1 de otras subunidades de alquilenglicol están presentes en otros componentes del conjugado, tal como por ej. en otra parte del enlazador L como se proporciona en la presente).

[00233] Preferiblemente, en otras formas de realización, cuando una segunda unidad de polialquilenglicol R^S está presente, el conjugado comprende además una primera unidad de polialquilenglicol R^F como R^1 , como se describe en la presente. Preferiblemente, cuando R^S es una segunda unidad de polietilenglicol y el conjugado comprende además una primera unidad de polialquilenglicol R^F , la primera unidad de polialquilenglicol es una primera unidad de polietilenglicol, como se describe en la presente.

[00234] Se apreciará que cuando se hace referencia a subunidades de alquilenglicol, en particular subunidades de etilenglicol, y dependiendo de contexto, el número de subunidades puede representar un número promedio, por ej. cuando se hace referencia a una población de conjugados o compuestos intermediarios, y se utilizan polialquilenglicoles polidispersos, en particular polietilenglicoles polidispersos.

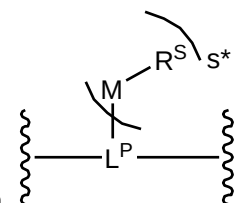
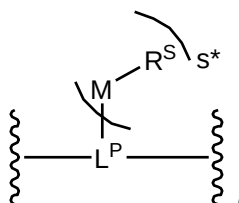
Enlazador $*-A_a-W_w-B_b-##$

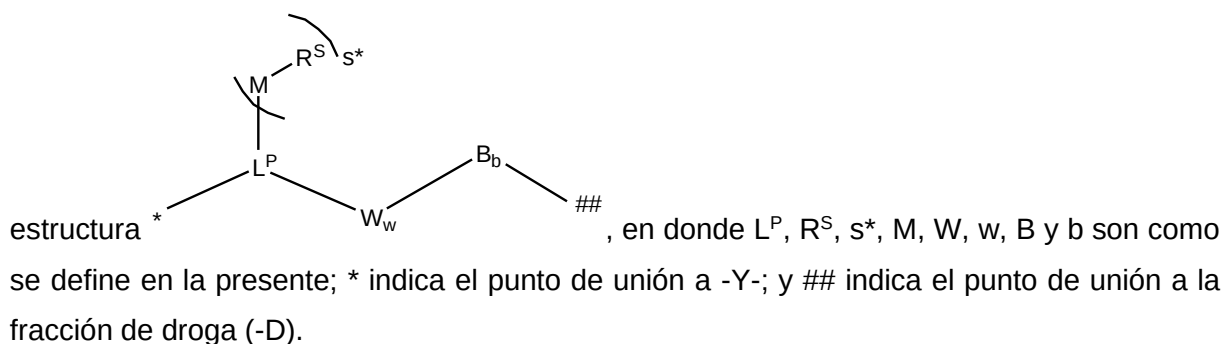
[00235] En algunas formas de realización, el enlazador L tiene la fórmula: $*-A_a-W_w-B_b-##$, en donde: $-A-$ es una segunda unidad espaciadora, como se describe en la presente; a es 0 o 1; cada $-W-$ es independientemente un aminoácido; w es independientemente un entero en el rango de 0 a 12; $-B-$ es una primera unidad espaciadora; y b es 0 o 1; $*$ indica el punto de unión a $-Y-$; y $##$ indica el punto de unión a la fracción de droga. En la presente, la notación " W_w ", o " $-W_w-$ ", o lo similar, es decir la combinación de W y el entero asociado w , también está indicada como "unidad de aminoácidos". Los ejemplos de adecuadas segunda unidad espaciadoras, unidad de aminoácidos y primeras unidades espaciadoras se describen, por ej. en WO 2004/010957 A2.

[00236] En el enlazador que tiene la estructura $*-A_a-W_w-B_b-^{\#}$, la segunda unidad espaciadora sirve para conectar -Y- a la unidad de aminoácidos $-W_w-$. La segunda unidad espaciadora ($-A-$) puede ser cualquier segunda unidad espaciadora como se describe en la presente. Cuando está presente, la segunda unidad espaciadora ($-A-$) puede ser cualquier grupo o fracción química que es capaz de unir -Y- a la unidad de aminoácidos. Alternativamente, la segunda unidad espaciadora puede ligar -Y- a la primera unidad espaciadora, en caso de que ninguna unidad de aminoácidos esté presente. Alternativamente, la segunda unidad espaciadora puede ligar -Y- a la fracción de droga (-D), en caso de que ninguna unidad espaciadora y ninguna unidad de aminoácidos estén presentes. En este sentido, -Y-, como se describe en la presente, está unida a la segunda unidad espaciadora ($-A-$). La segunda unidad espaciadora ($-A-$) puede comprender o puede ser un grupo funcional que es capaz de formar un enlace con una unidad de aminoácidos ($-W_w-$), o con una primera unidad espaciadora ($-B_b-$), o con una fracción de droga (-D), dependiendo de si una unidad de aminoácidos ($-W_w-$) y/o una primera unidad espaciadora ($-B-$) está presente o no. Preferiblemente, el grupo funcional, que es capaz de formar un enlace con una unidad de aminoácidos ($-W_w-$), en particular con el extremo N-terminal de la unidad de aminoácidos, o con una primera unidad espaciadora ($-B-$), o con una fracción de droga (-D), es un grupo carbonilo que está representado como,

por ej.  o $-C(O)-$. El entero $\underline{a}$ asociado con la segunda unidad espaciadora puede ser 0 o 1. Preferiblemente, el entero $\underline{a}$ es 1. Alternativamente, en otras formas de realización la segunda unidad espaciadora está ausente ($a = 0$).

[00237] En el enlazador $*-A_a-W_w-B_b-^{\#}$, la segunda unidad espaciadora -A-, cuando está presente, puede ser cualquier segunda unidad espaciadora como se describe en la presente. En formas de realización preferidas del enlazador $*-A_a-W_w-B_b-^{\#}$, la segunda unidad espaciadora -A-, cuando está presente ($a = 1$), puede ser un grupo Z que tiene la

estructura , en donde  es como se define en la presente. En concordancia, en formas de realización preferidas, el enlazador (L) puede tener la



[00238] La unidad de aminoácidos $(-\text{W}_w-)$, cuando está presente, puede ligar la segunda unidad espaciadora A a la primera unidad espaciadora B en el caso de que la primera unidad espaciadora esté presente. Alternativamente, la unidad de aminoácidos puede ligar la segunda unidad espaciadora a la fracción de droga (D) en el caso de que la primera unidad espaciadora esté ausente. Alternativamente, la unidad de aminoácidos puede ligar Y a la primera unidad espaciadora en caso de que la segunda unidad espaciadora esté ausente. Alternativamente, la unidad de aminoácidos puede ligar Y a la fracción de droga en el caso de que la primera unidad espaciadora y la segunda unidad espaciadora estén ausentes.

[00239] La unidad de aminoácidos $-\text{W}_w-$ puede ser un dipéptido ($w = 2$), un tripéptido ($w = 3$), un tetrapéptido ($w = 4$), un pentapéptido ($w = 5$), un hexapéptido ($w = 6$), un heptapéptido ($w = 7$), un octapéptido ($w = 8$), un nonapéptido ($w = 9$), un decapéptido ($w = 10$), un undecapéptido ($w = 11$) o un dodecapéptido ($w = 12$).

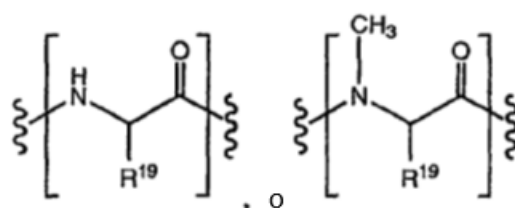
[00240] En algunas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede comprender aminoácidos naturales. En algunas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede comprender aminoácidos no naturales.

[00241] En una cualquiera de las formas de realización descritas en la presente, cada aminoácido de la unidad de aminoácidos, excepto para los aminoácidos que no son quirales tal como por ej. glicina, puede estar independientemente en la configuración L o en la configuración D. Preferiblemente, en una cualquiera de las formas de realización descritas en la presente cada aminoácido de la unidad de aminoácidos, excepto para los aminoácidos que no son quirales tal como por ej. glicina, está en la configuración L (es decir en la configuración natural).

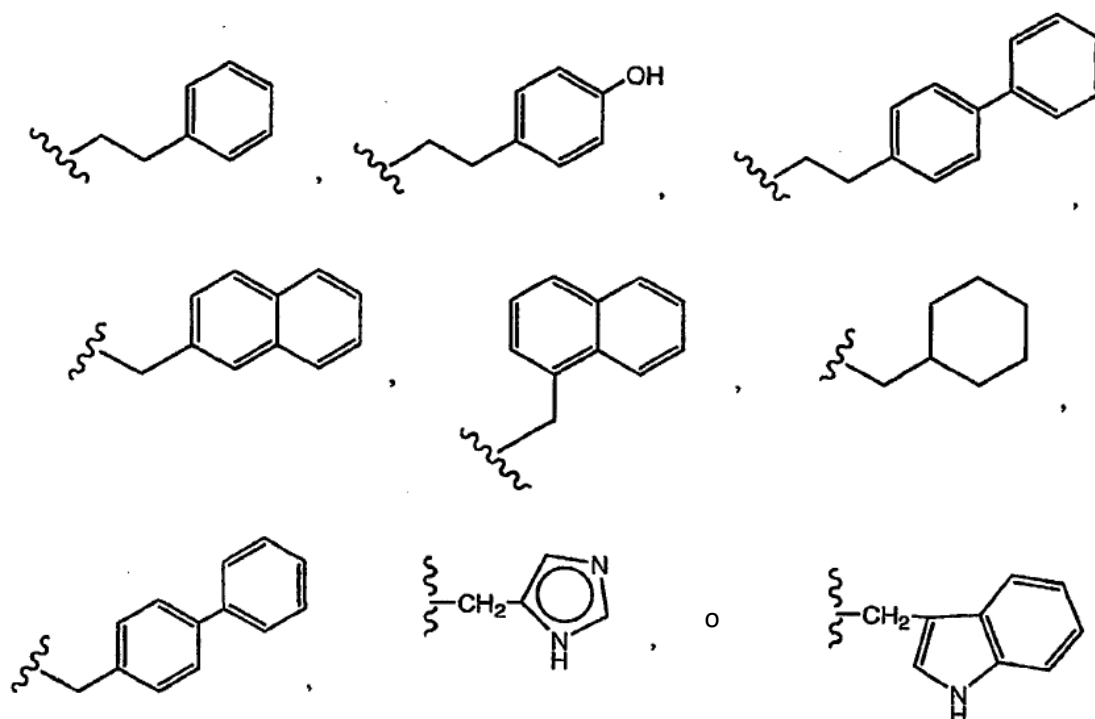
[00242] Preferiblemente, cuando una segunda unidad espaciadora $(-\text{A}-)$ está presente, en una cualquiera de las formas de realización descritas en la presente el extremo N-terminal

de la unidad de aminoácidos $-W_w-$ está unido a la segunda unidad espaciadora (A), más preferiblemente mediante un grupo carbonilo de la segunda unidad espaciadora. Preferiblemente, en una cualquiera de las formas de realización descritas en la presente, el extremo C-terminal de la unidad de aminoácidos $-W_w-$ está unido a una primera unidad espaciadora (B) en el caso de que una primera unidad espaciadora esté presente. Alternativamente, en una cualquiera de las formas de realización descritas en la presente, el extremo C-terminal de la unidad de aminoácidos $-W_w-$ puede estar unido a la fracción de droga (-D) en el caso de que una primera unidad espaciadora esté ausente. En otras formas de realización, el extremo N-terminal de la unidad de aminoácidos $-W_w-$ puede estar unido a la primera unidad espaciadora (B), cuando está presente, y el extremo C-terminal puede estar unido a la segunda unidad espaciadora A, cuando está presente.

[00243] Cada unidad $-W-$ independientemente puede tener la fórmula indicada a continuación en los corchetes, y w es un número entero en el rango de 0 a 12; preferiblemente w es un entero en el rango de 1 a 5; más preferiblemente w es un entero en el rango de 2 a 4; aún más preferiblemente w es 2 o 3; en muy preferidas formas de realización w es 2:

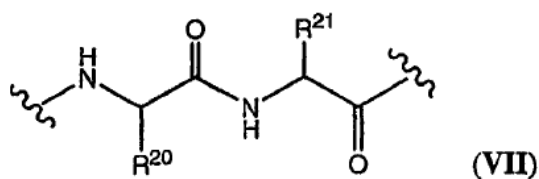


en donde R^{19} es hidrógeno, metilo, isopropilo, isobutilo, *sec*-butilo, bencilo, *p*-hidroxibencilo, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-piridilmetilo, 3-piridilmetilo, 4-piridilmetilo, fenilo, ciclohexilo,

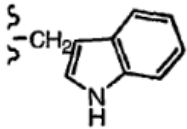


[00244] La unidad de aminoácidos puede ser escindida enzimáticamente por una o más enzimas, incluyendo pero no limitadas a, una proteasa asociada a tumor, preferiblemente una catepsina, más preferiblemente catepsina B, para liberar la fracción de droga (-D), la cual en una forma de realización es protonada *in vivo* tras la liberación para proporcionar una fracción de droga libre (D). Unidades -W_w- ilustrativas están representadas por la fórmula (VII) a (IX).

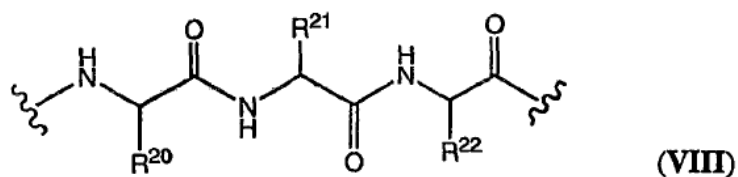
[00245] En concordancia, la unidad -W_w- puede ser un dipéptido de la fórmula (VII):



en donde R²⁰ y R²¹ son como sigue:

R ²⁰	R ²¹
bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
metilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
isopropilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
isopropilo	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
bencilo	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
isobutilo	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
sec-butilo	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
	
bencilo	metilo; y
bencilo	(CH ₂) ₃ NHC(=NH)NH ₂ ;

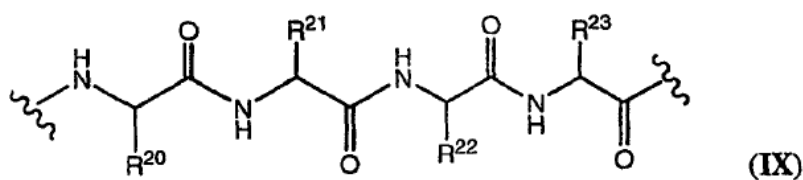
[00246] La unidad -W_w- puede ser un tripéptido de fórmula (VIII):



en donde R²⁰, R²¹ y R²² son como sigue:

R ²⁰	R ²¹	R ²²
bencilo	bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
isopropilo	bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ; y
I		
H	bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;

[00247] La unidad W_w puede ser un tetrapéptido de fórmula (IX):



en donde R²⁰, R²¹, R²² y R²³ son como sigue:

R ²⁰	R ²¹	R ²²	R ²³
H	bencilo	isobutilo	H; y
metilo	isobutilo	metilo	isobutilo

[00248] Las unidades de aminoácidos a modo de ejemplo incluyen, pero no están limitadas a, unidades de la fórmula (VII) en donde: R²⁰ es bencilo y R²¹ es -(CH₂)₄NH₂ (Phe-Lys); R²⁰ es isopropilo y R²¹ es -(CH₂)₄NH₂ (Val-Lys); R²⁰ es isopropilo y R²¹ es -(CH₂)₃NHCONH₂ (Val-Cit). Otra unidad de aminoácido a modo de ejemplo es una unidad de fórmula (VIII) en donde R²⁰ es bencilo, R²¹ es bencilo, y R²² es -(CH₂)₄NH₂ (Phe-Phe-Lys).

[00249] Pueden diseñarse unidades -W_w- útiles y optimizarse en su selectividad para la escisión enzimática por una enzima particular, por ejemplo, una proteasa asociada a tumor. En una forma de realización, una unidad -W_w- es aquella cuya escisión es catalizada por catepsina B, C y/o D, o una plasim proteasa (“proteasas asociadas a tumor”). Preferiblemente, la unidad -W_w- es escindida por catepsina B. Se describen enlazadores adecuados, que pueden ser escindidos por una proteasa por ej. en G.M. Dubowchik et al., “*Cathepsin B-Labile Dipeptide Linkers for Lysosomal Release of Doxorubicin from Internalizing Immunoconjugates; Model Studies of Enzymatic Drug Release y Antigen-Specific In Vitro Anticancer Activity*”, Bioconjugate Chem., Vol. 13, No. 4, 2002, 855-869; S.C. Jeffrey et al., “*Dipeptide-based highly potent doxorubicin antibody conjugate*”, Bioorg. Med. Chem. Lett. 16 (2006), 358-362; y M.S. Kung Sutherland et al., “*SGN-CD33A: a novel CD33-targeting antibody-drug conjugate using a pyrrolobenzodiazepine dimer is active in models of drug-resistant AML*”, Blood, 22 de agosto de 2013, volumen 122, número 8, 1455-1463.

[00250] En una forma de realización, -W_w- es un dipéptido, un tripéptido, un tetrapéptido o un pentapéptido. Preferiblemente, -W_w- es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido. Más preferiblemente, -W_w- es un dipéptido o un tripéptido. En formas de realización muy preferidas, -W_w- es un dipéptido (es decir w = 2).

[00251] Cuando R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ son distintos de hidrógeno, el átomo de carbono al cual están unidos R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ es quiral. Cada átomo de carbono al cual R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ están unidos puede estar independientemente en la configuración (S) o (R). Preferiblemente, cada átomo de carbono al cual R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ están unidos, está en la configuración (S).

[00252] En una forma de realización preferida, la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). En otra forma de realización preferida, la unidad de aminoácidos es valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). En otra forma de realización preferida, la unidad de aminoácidos es alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA). En otra forma de realización preferida, la unidad de aminoácidos es fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Dichos enlazadores son ejemplos ilustrativos de un enlazador que puede ser escindido por una proteasa, tal como por ej. catepsina B.

[00253] La notación de los péptidos utilizados en la presente a lo largo de esta descripción siguen la nomenclatura convencional. En concordancia, el extremo N-terminal de un péptido está escrito a la izquierda, y el extremo C-terminal del péptido está escrito a la derecha. Como un ejemplo ilustrativo pero no limitante, en el dipéptido valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), la valina tiene el extremo N-terminal, y la citrulina tiene el extremo C-terminal. Preferiblemente, en una cualquiera de las formas de realización descritas en la presente, cuando una segunda unidad espaciadora (-A-) está presente, el extremo N-terminal de un péptido, tal como por ej. de un dipéptido (como ejemplo ilustrativo no limitante: Val-Cit), está unido a la segunda unidad espaciadora (-A-), más preferiblemente mediante un grupo carbonilo de la segunda unidad espaciadora, y el extremo C-terminal del péptido está unido a una primera unidad espaciadora (-B-), en el caso de que una primera unidad espaciadora (-B-) esté presente, o a la fracción de droga (-D) en el caso de que una primera unidad espaciadora (-B-) esté ausente.

[00254] En aún otra forma de realización, la unidad de aminoácidos es N-metilvalina-citrulina. En aún otra forma de realización, la unidad de aminoácidos está seleccionada del grupo que consiste en ácido 5-aminovalérico, homofenilalanina-lisina, tetraisoquinolincarboxilato-lisina, ciclohexilalanina-lisina, ácido isonepecótico-lisina, betaalanina-lisina, glicina-serina-valina-glutamina, y ácido isonepecótico.

[00255] Preferiblemente, la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA).

Incluso más preferiblemente, la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC).

[00256] En algunas formas de realización, la unidad de aminoácidos está seleccionada del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). Preferiblemente, la unidad de aminoácidos está seleccionada del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). Más preferiblemente, la unidad de aminoácidos es valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores que comprenden una unidad de aminoácidos de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B). Las unidades de aminoácidos de estas formas de realización y unidades de aminoácidos adecuadas adicionales se describen, por ej. en Salomon et al., “*Optimizing Lysosomal Activation of Antibody-Drug Conjugates (ADCs) by Incorporation of Novel Cleavable Dipeptide Linkers*”, *Mol. Pharmaceutics* 2019, 16, 12, 4817–4825.

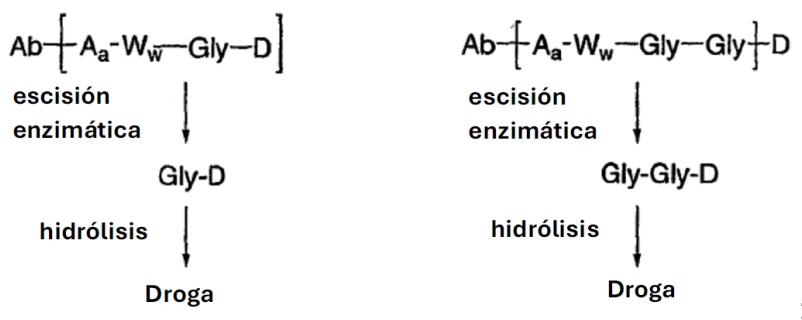
[00257] La primera unidad espaciadora (-B-), cuando está presente, puede ligar una unidad de aminoácidos (W_w) a la fracción de droga cuando una unidad de aminoácidos está presente. Alternativamente, la primera unidad espaciadora (B) puede ligar la segunda unidad espaciadora (A) a la fracción de droga (D) cuando la unidad de aminoácidos está ausente. La primera unidad espaciadora puede ligar la fracción de droga a Y cuando tanto la unidad de aminoácidos como la segunda unidad espaciadora están ausentes.

[00258] El entero b puede ser 0 o 1. En formas de realización preferidas, el entero b es 1. Alternativamente, en otras formas de realización, el entero b es 0, y la primera unidad espaciadora está ausente.

[00259] La primera unidad espaciadora (-B-) puede ser de dos tipos generales: autoinmolativa y no autoinmolativa. Una primera unidad espaciadora no autoinmolativa es una en la cual parte o toda de la primera unidad espaciadora permanece unida a la fracción de droga (D) después de la escisión, particularmente enzimática, de una unidad de aminoácido ($-W_w-$) del enlazador (L). Ejemplos de una primera unidad espaciadora no autoinmolativa incluye, pero no se limita a una primera unidad espaciadora (glicina-glicina) y una primera unidad espaciadora (ambas ilustradas en el Esquema 1) (abajo). Cuando un

compuesto de ejemplo que contiene una primera unidad espaciadora glicina-glicina o una primera unidad espaciadora glicina sufre escisión enzimática mediante una proteasa asociada a célula tumoral, una proteasa asociada a célula de cáncer o una proteasa asociada a linfocitos, una glicina-glicina-fracción de droga ("D" representa una fracción de droga) o una glicina-fracción de Droga (D) es escindida de la $-A_a-W_w-$. En otra forma de realización, una reacción de hidrólisis independiente tiene lugar dentro de la célula diana, escindiendo la unión glicina-fracción de droga y liberando la Droga (D).

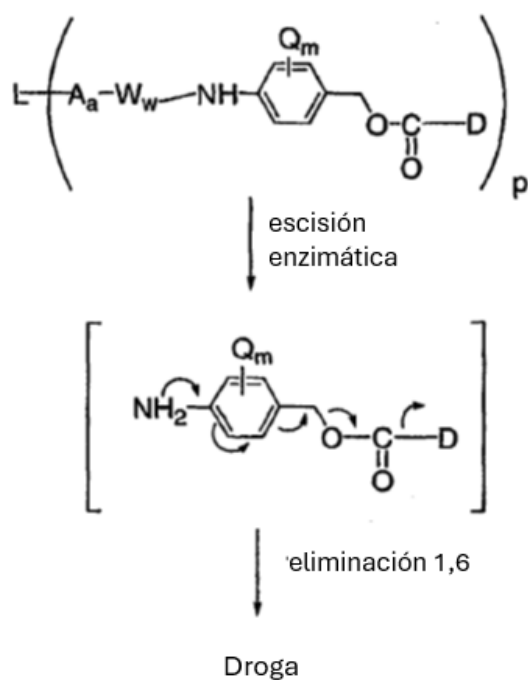
Esquema 1



[00260] En una forma de realización, una primera unidad espaciadora, no autoinmolativa es $-Gly-Gly-$. En otra forma de realización, una primera unidad espaciadora no autoinmolativa es $-Gly-$.

[00261] Alternativamente, un compuesto a modo de ejemplo que contiene una primera unidad espaciadora autoinmolativa puede liberar una fracción de droga -D sin la necesidad de una etapa de hidrólisis separada. En una forma de realización a modo de ejemplo, una primera unidad espaciadora autoinmolativa es un grupo PAB que está ligado a $-W_w-$ mediante el átomo de nitrógeno amino del grupo PAB, y conectado directamente a -D mediante un carbonato, carbamato u otro grupo. Sin estar ligados por una teoría o mecanismo particular, el Esquema 2 ilustra un posible mecanismo de la liberación de droga de un grupo PAB que está unido directamente a -D mediante un grupo carbamato o carbonato expuesto por Toki et al. (2002) J Org. Chem. 67:1866-1872.

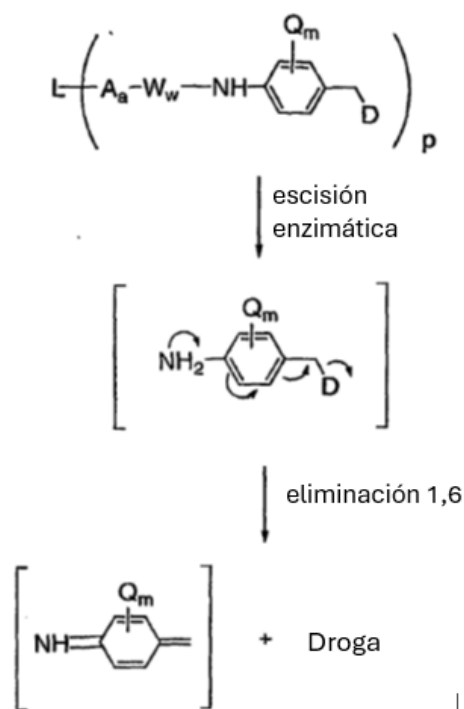
Esquema 2



en donde Q es -alquilo (C₁-C₈), -O-alquilo (C₁-C₈), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un entero en el rango de 0 a 4, preferiblemente m es 0, 1 o 2, más preferiblemente m es 0 o 1, aún más preferiblemente m es 0; y p está en el rango de 1 a 20.

[00262] Sin estar ligados por una teoría o mecanismo particular, el Esquema 3 2 ilustra un posible mecanismo de la liberación de droga de un grupo PAB que está unido directamente a una fracción de droga -D mediante un enlace éter o amina.

Esquema 3

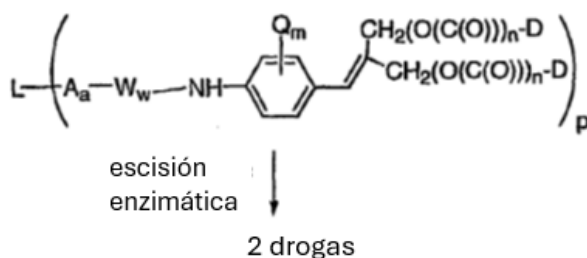


en donde Q es -alquilo (C_1-C_8), -O-alquilo (C_1-C_8), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un entero en el rango de 0 a 4, preferiblemente m es 0, 1 o 2, más preferiblemente m es 0 o 1, aún más preferiblemente m es 0; y p está en el rango de 1 a 20.

[00263] Otros ejemplos de espaciadores autoinmolativos incluyen, pero no están limitados a, compuestos aromáticos que son electrónicamente similares al grupo PAB tales como derivados de 2-aminoimidazol-5-metanol (Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237) y orto o para-aminobencilacetales. Pueden utilizarse espaciadores que sufren ciclización tras la hidrólisis del enlace amida, tales como amidas del ácido 4-aminobutírico sustituidas o no sustituidas (Rodrigues et al., Chemistry Biology, 1995, 2, 223), sistemas de anillo biciclo[2.2.1] y biciclo[2.2.2] apropiadamente sustituidos (Storm, et al., J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 5815) y amidas de ácido 2-aminofenilpropiónico (Amsberry, et al., J. Org. Chem., 1990, 55, 5867). La eliminación de drogas que contienen amina que están sustituidas en la posición alfa de glicina (Kingsbury, et al., J. Med. Chem., 1984, 27, 1447) también son ejemplos de espaciadores autoinmolativos útiles en compuestos a modo de ejemplo.

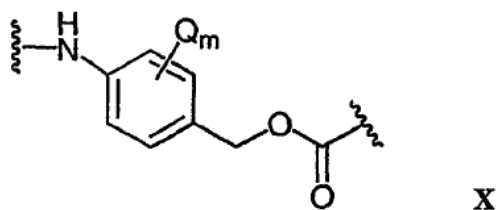
[00264] En una forma de realización, la primera unidad espaciadora es una unidad de bis(hidroximetil)estireno (BHMS) ramificada como se ilustra en el Esquema 4, que puede utilizarse para incorporar y liberar múltiples drogas (D).

Esquema 4



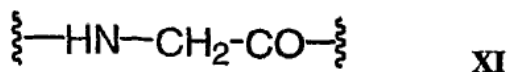
en donde Q es -alquilo (C₁-C₈), -O-alquilo (C₁-C₈), -halógeno,- nitro o -ciano; m es un entero en el rango de 0 a 4; preferiblemente m es 0, 1 o 2; más preferiblemente m es 0 o 1; aún más preferiblemente m es 0; y p está en el rango de 1 a 10; n es 0 o 1; y p está en el rango de 1 a 20.

[00265] En formas de realización preferidas, la primera unidad espaciadora está representada por la fórmula (X):

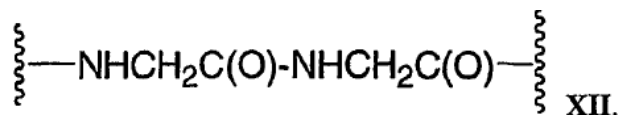


en donde Q es -alquilo (C₁-C₈), -O-alquilo (C₁-C₈), -halógeno,- nitro o -ciano; y m es un entero en el rango de 0 a 4; preferiblemente m es 0, 1 o 2; más preferiblemente m es 0 o 1; en formas de realización muy preferidas m es 0.

[00266] En algunas formas de realización, la primera unidad espaciadora está representada por la fórmula (XI):

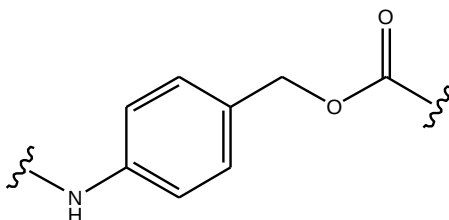


[00267] En algunas formas de realización, la primera unidad espaciadora está representada por la fórmula (XII):



[00268] Preferiblemente, cuando una unidad de aminoácidos está presente, en una cualquiera de las fórmulas (X), (XI) y (XII), en particular en la fórmula (X), el grupo NH está unido a un extremo C-terminal de la unidad de aminoácidos. Preferiblemente, en una cualquiera de las fórmulas (X), (XI) y (XII), en particular en la fórmula (X), el grupo C(O) está unido a la fracción de droga (D).

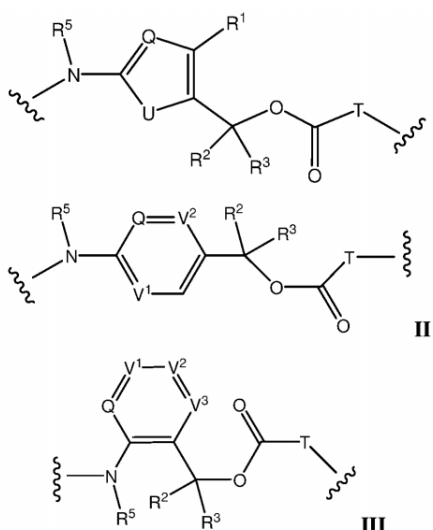
[00269] En formas de realización muy preferidas, la primera unidad espaciadora es un grupo PAB que tienen la siguiente estructura:



Preferiblemente, cuando una unidad de aminoácidos está presente, el grupo NH está unido a una unidad de aminoácidos (-W_w-), más preferiblemente a un extremo C-terminal de la unidad de aminoácidos. Preferiblemente, el grupo C(O) está unido a la fracción de droga (D).).

[00270] En algunas formas de realización, el primer grupo espaciador (-B-) es una “fracción autoinmolativa” heterocíclica de las Fórmulas I, II o III unida a la fracción de droga e incorpora un grupo amida que tras la hidrólisis mediante una proteasa intracelular inicia una reacción que finalmente escinde la primera unidad espaciadora (-B-) de la fracción de droga de modo que la droga es liberada del conjugado en una forma activa. La fracción enlazadora comprende además una unidad de aminoácidos (-W_w-) adyacente al primer grupo espaciador (-B-) que es un sustrato para una enzima intracelular, por ejemplo una proteasa intracelular tal como una catepsina (por ej. catepsina B), que escinde el péptido en el enlace amido compartido con el primer grupo espaciador (-B-). Se describen fracciones autoinmolativas heterocíclicas por ej. en la WO 2019/236954.

[00271] En algunas formas de realización, la primera unidad espaciadora (-B-) es un grupo autoinmolativo heterocíclico seleccionado de las Fórmulas I, II y III:



en donde las líneas onduladas indican los sitios de unión covalente a la unidad de aminoácidos $-W_w-$ y la fracción de droga, y en donde U es O, S o NR^6 ; Q es CR^4 o N; V^1 , V^2 y V^3 son independientemente CR^4 o N siempre que para las fórmulas **II** y **III** al menos uno de Q, V^1 y V^2 sea N; T es O colgante de una fracción de droga (-D); R^1 , R^2 , R^3 y R^4 están independientemente seleccionados del grupo que consiste en H, F, Cl, Br, I, OH, $-N(R^5)_2$, $-N(R^5)_3^+$, -haluro de alquilo (C_1-C_8), carboxilato, sulfato, sulfamato, sulfonato, $-SO_2R^5$, $-S(=O)R^5$, $-SR^5$, $-SO_2N(R^5)_2$, $-C(=O)R^5$, $-CO_2R^5$, $-C(=O)N(R^5)_2$, -CN, $-N_3$, $-NO_2$, -alcoxi (C_1-C_8), -alquilo (C_1-C_8)halosustituido, polietilenoxi, fosfonato, fosfato, -alquilo (C_1-C_8), -alquilo (C_1-C_8)sustituido, -alquenilo (C_2-C_8), -alquenilo (C_2-C_8)sustituido, -alquinilo (C_2-C_8), -alquinilo (C_2-C_8)sustituido, -arilo (C_6-C_{20}), -arilo (C_6-C_{20})sustituido, -heterociclo (C_3-C_{20}), y -heterociclo (C_3-C_{20})sustituido; o cuando se toman en conjunto, R^2 y R^3 forman un carbonilo ($=O$), o anillo carbocíclico espiro de 3 a 7 átomos de carbono; y R^5 y R^6 están independientemente seleccionados de H, -alquilo (C_1-C_8), -alquilo (C_1-C_8)sustituido, -alquenilo (C_2-C_8), -alquenilo (C_2-C_8)sustituido, -alquinilo (C_2-C_8), -alquinilo (C_2-C_8)sustituido, -arilo (C_6-C_{20}), -arilo (C_6-C_{20})sustituido, -heterociclo (C_3-C_{20}), y -heterociclo (C_3-C_{20})sustituido; en donde -alquilo (C_1-C_8)sustituido, -alquenilo (C_2-C_8) sustituido, -alquinilo (C_2-C_8)sustituido, -arilo (C_6-C_{20})sustituido, y -heterociclo (C_3-C_{20})sustituido están independientemente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en F, Cl, Br, I, OH, $-N(R^5)_2$, $-N(R^5)_3^+$, -haluro de alquilo (C_1-C_8), carboxilato, sulfato, sulfamato, sulfonato, -alquil (C_1-C_8)sulfonato, -alquil(C_1-C_8)amino, 4-dialquilaminopiridinio, -alquil (C_1-C_8) hidroxilo, -alquil I(C_1-C_8)tiol, $-SO_2R^5$, $-S(=O)R^5$, $-SR^5$, $-SO_2N(R^5)_2$, $-C(=O)R^5$, $-CO_2R^5$, $-C(=O)N(R^5)_2$, -CN, $-N_3$, $-NO_2$, -alcoxi (C_1-C_8), -trifluoroalquilo (C_1-C_8), -alquilo (C_1-C_8), -carbociclo (C_3-C_{12}), -arilo (C_6-C_{20}), -heterociclo (C_3-C_{20}), polietilenoxi, fosfonato, y fosfato.

[00272] El conjugado que comprende una autoinmolativa heterocíclica es estable extracelularmente, o en ausencia de una enzima capaz de escindir el enlace amida de la fracción autoinmolativa. Sin embargo, tras la entrada dentro de la célula, o exposición a una enzima adecuada, un enlace amida se escinde iniciando una reacción autoinmolativa espontánea que da como resultado la escisión del enlace que liga covalentemente la fracción autoinmolativa con la fracción de droga, para efectuar de ese modo la liberación de la droga en su forma no derivatizada o farmacológicamente activa.

[00273] La fracción autoinmolativa en los conjugados incorpora uno o más heteroátomos y de ese modo puede proveer mejorada solubilidad, puede mejorar la tasa de escisión y/o puede disminuir la propensión para la agregación del conjugado. Así, los constructos de enlazador autoinmolativo heterocíclico en algunos casos puede dar como resultado una eficacia aumentada, toxicidad disminuida y/o propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas deseadas.

[00274] Se entiende que T en las fórmula I-III es O, y se deriva del hidroxilo terciario (-OH) en la porción del anillo lactona de una fracción de droga.

[00275] Sin estar limitados por una teoría o ningún mecanismo particular, la presencia de grupos atractores de electrones en el anillo heterocíclico de la fórmula I, II o III puede moderar la tasa de escisión.

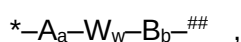
[00276] En una forma de realización, la fracción autoinmolativa es el grupo de la fórmula I en el cual Q es N, y U es O o S. Dicho grupo tiene una característica estructural no lineal que mejora la solubilidad de los conjugados. En este contexto R es a veces H, metilo, nitro, o CF₃. En una forma de realización, Q es N y U es O formando de ese modo un anillo oxazol y R es H. En otra forma de realización, Q es N y U es S formando de ese modo un anillo tiazol opcionalmente sustituido en R con un grupo Me o CF₃.

[00277] En otra forma de realización a modo de ejemplo, la fracción autoinmolativa es el grupo de la fórmula II en el cual Q es N y V¹ y V² son independientemente N o CH. En otra forma de realización, Q, V¹ y V² son cada uno N. En otra forma de realización, Q y V¹ son N mientras que V² es CH. En otra forma de realización, Q y V² son N mientras que V¹ es CH. En otra forma de realización, Q y V¹ son ambos CH y V² es N. En otra forma de realización, Q es N mientras que V¹ y V² son ambos CH.

[00278] En otra forma de realización, la fracción autoinmolativa es el grupo de la fórmula **III** en el cual Q, V¹, V² y V³ son cada uno independientemente N o CH. En otra forma de realización Q es N mientras que V¹, V² y V³ son cada uno N. En otra forma de realización, Q, V¹, y V² son cada uno CH mientras que V³ es N. En otra forma de realización Q, V² y V³ son cada uno CH mientras que V¹ es N. En otra forma de realización, Q, V¹ y V³ son cada uno CH mientras que V² es N. En otra forma de realización, Q y V² son ambos N mientras que V¹ y V³ son ambos CH. En otra forma de realización Q y V² son ambos CH mientras que V¹ y V³ son ambos N. En otra forma de realización, Q y V³ son ambos N mientras que V¹ y V² son ambos CH.

[00279] Preferiblemente, el enlazador (L) tiene la fórmula: *-A_a-W_w-B_b-##, en donde el entero a es 1, el entero b es 1, y el entero w es 2, 3 o 4, más preferiblemente el entero w es 2 o 3; en formas de realización muy preferidas el entero w es 2; y -A-, cada -W- y -B- son como se define en la presente; * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (D).

[00280] Preferiblemente, el enlazador (L) tiene la siguiente estructura:



en donde -A- es una segunda unidad espaciadora como se describe en la presente; a es un entero como se describe en la presente; preferiblemente a es 1;

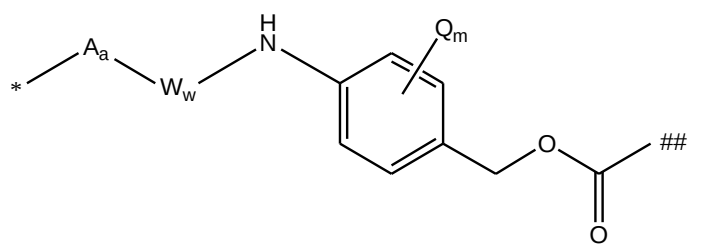
-B- es una primera unidad espaciadora como se describe en la presente; b es un entero como se describe en la presente; preferiblemente b es 1;

* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D);

-W_w- es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ),

fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00281] Preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



en donde -A_a- es una segunda unidad espaciadora como se describe en la presente; a es un entero como se describe en la presente; preferiblemente a es 1;

-W_w- es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente; preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente -W_w- es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente -W_w- es un dipéptido o un tripéptido); en formas de realización muy preferidas w es 2 (es decir aún más preferiblemente -W_w- es un dipéptido);

Q es como se define en la presente;

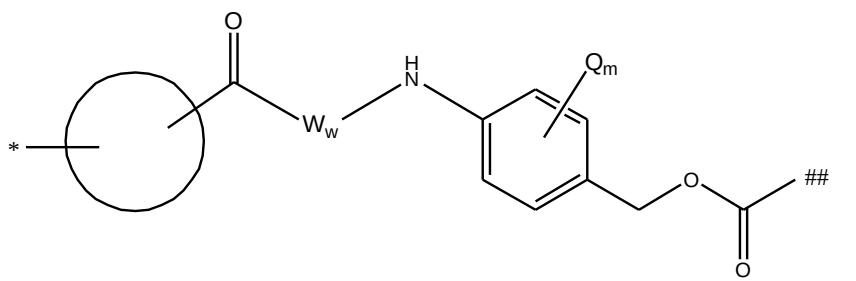
m es un entero como se define en la presente, preferiblemente m es 0;

* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

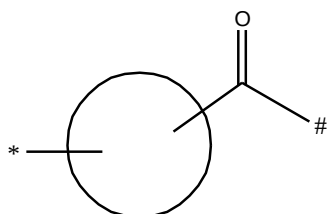
Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de

aminoácidos $-W_w-$ puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00282] Más preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



en donde:



es como se define en la presente; * indica el punto de unión a Y; y # indica el punto de unión a la unidad de aminoácidos $-W_w-$, cuando está presente, o al grupo NH;

$-W_w-$ es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente, preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido o un tripéptido), en formas de realización muy preferidas w es 2 (es decir aún más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido);

Q es como se define en la presente;

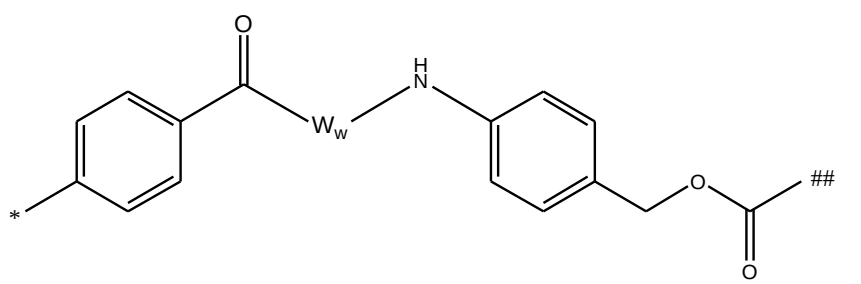
m es un entero como se define en la presente, preferiblemente m es 0;

* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ es un

dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00283] Aún más preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:

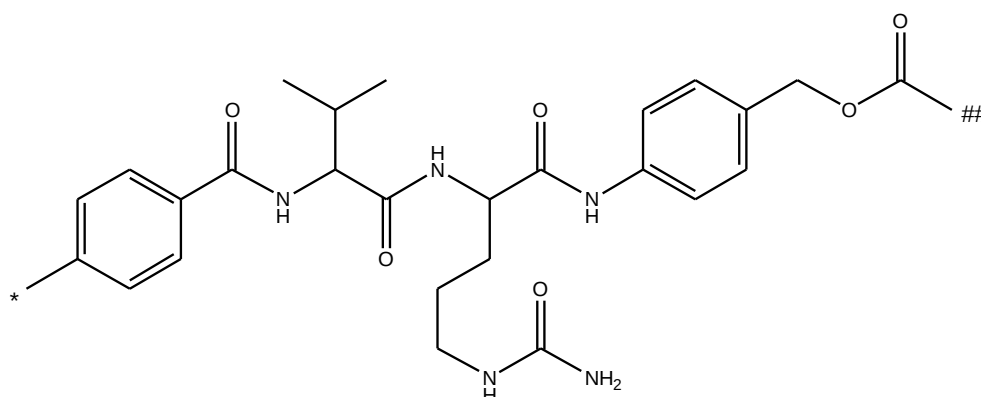


en donde:

-W_w- es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente, preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente -W_w- es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente -W_w- es un dipéptido o un tripéptido), en formas de realización muy preferidas w es 2 (es decir aún más preferiblemente -W_w- es un dipéptido);

* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

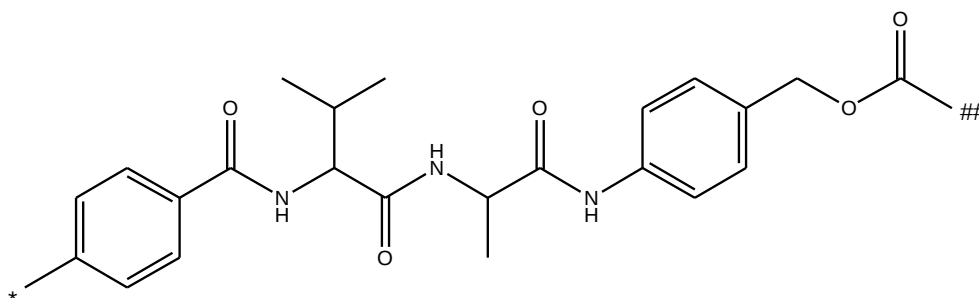
[00284] En una forma de realización preferida, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



que comprende el dipéptido valina-citrulina como la unidad de aminoácidos -W_w-; y

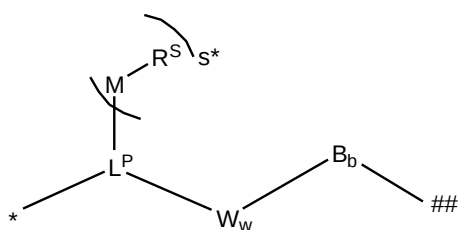
en donde * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Dicho enlazador es un ejemplo ilustrativo de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00285] En otra forma de realización preferida, el enlazador L tiene la siguiente estructura:

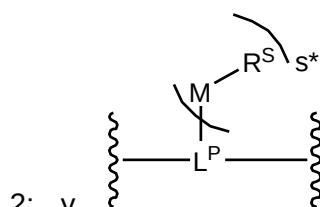


que comprende el dipéptido valina-alanina como la unidad de aminoácidos $-W_w$; y en donde * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Dicho enlazador es un ejemplo ilustrativo de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00286] Preferiblemente, el enlazador (L) tiene la fórmula:



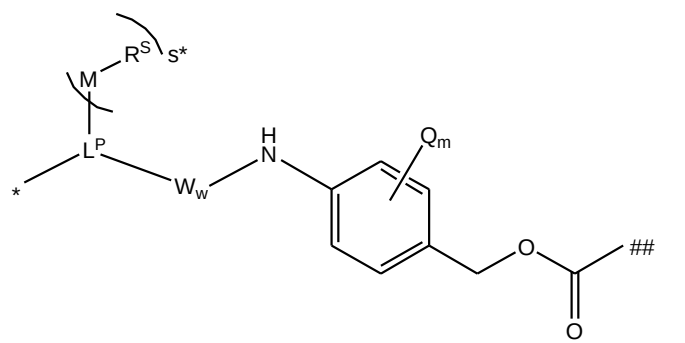
, en donde el entero b es 1, y el entero w es 2, 3 o 4, más preferiblemente el entero w es 2 o 3, en formas de realización muy preferidas el entero w es

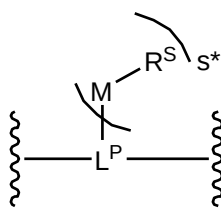


2; y es como se describe en la presente; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se describe en la presente; preferiblemente cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se describe en la presente; M es, cada una independientemente, como se describe en la presente, preferiblemente cada M es $-O-$; s^* es un entero como se describe

en la presente; preferiblemente, s^* es 1; cada -W-, y -B- son como se define en la presente; * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B)

[00287] Preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:





en donde es como se describe en la presente; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se describe en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se describe en la presente; M es, cada una independientemente, como se describe en la presente, preferiblemente cada M es $-O-$; s^* es un entero como se describe en la presente; preferiblemente, s^* es 1;

$-W_w-$ es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente; preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido o un tripéptido), en formas de realización muy preferidas w es 2 (es decir aún más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido);

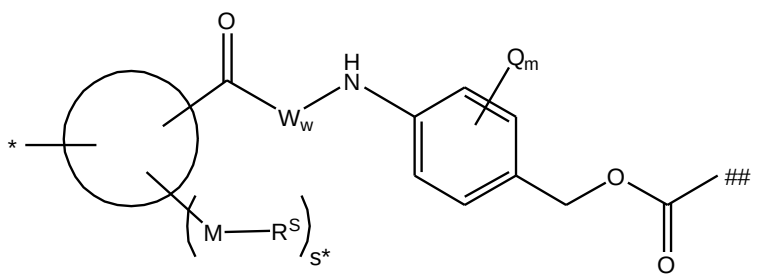
Q es como se describe en la presente;

m es un entero como se describe en la presente, preferiblemente m es 0;

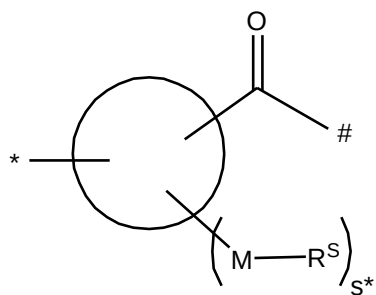
* indica el punto de unión a Y ; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga ($-D$). Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de

realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00288] Más preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



en donde:



s^* es como se define en la presente; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es -O-; s^* es un entero como se define en la presente; preferiblemente s^* es 1; * indica el punto de unión a Y; y # indica el punto de unión a la unidad de aminoácidos - W_w -, cuando está presente, o al grupo NH;

- W_w - es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente, preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente - W_w - es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente - W_w - es un dipéptido o un tripéptido), en formas de realización muy preferidas w es 2 (es decir aún más preferiblemente - W_w - es un dipéptido);

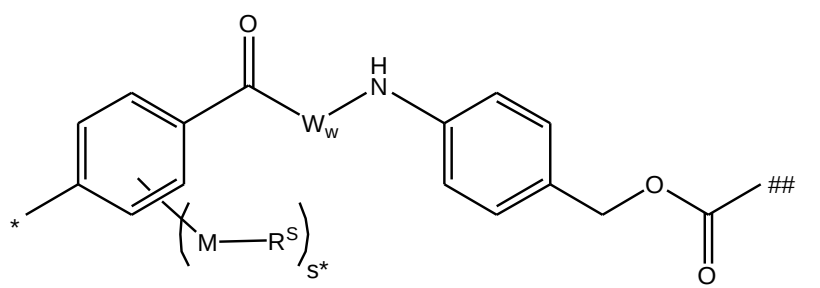
Q es como se define en la presente;

m es un entero como se define en la presente, preferiblemente m es 0;

* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos - W_w - es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-

lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos -W_w- puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00289] Aún más preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



en donde:

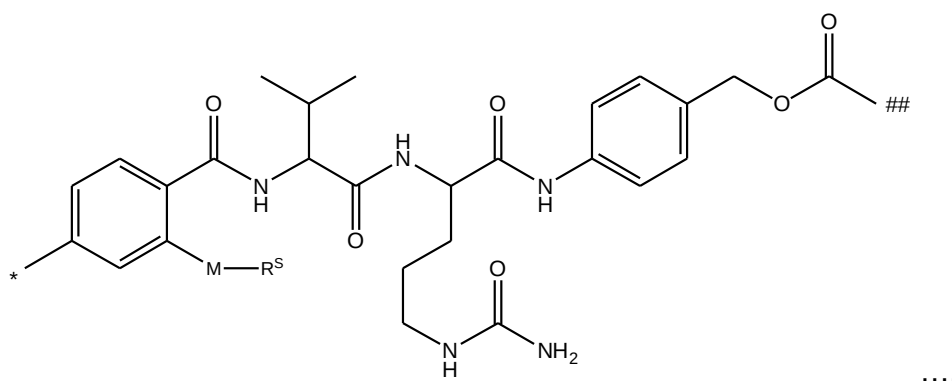
R^S es, cada una independientemente una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente, preferiblemente cada M es -O-; s* es un entero como se define en la presente; preferiblemente s* es 1;

-W_w- es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente, preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente -W_w- es un

dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido o un tripéptido), aún más preferiblemente w es 2 (es decir aún más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido);

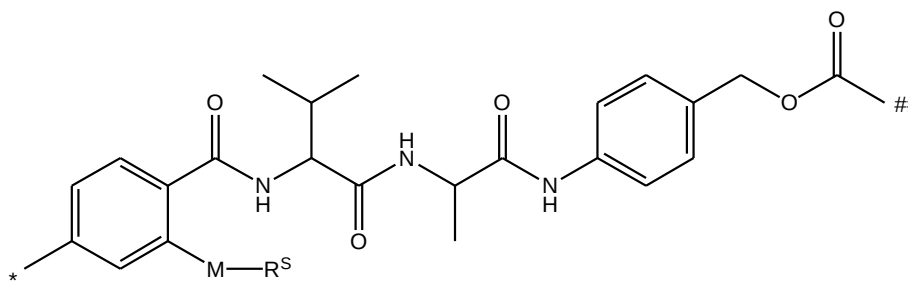
* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00290] En una forma de realización preferida, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



que comprende el dipéptido valina-citrulina como la unidad de aminoácidos $-W_w-$; en donde R^S es una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente R^S es una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es como se define en la presente; preferiblemente M es $-O-$; y * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

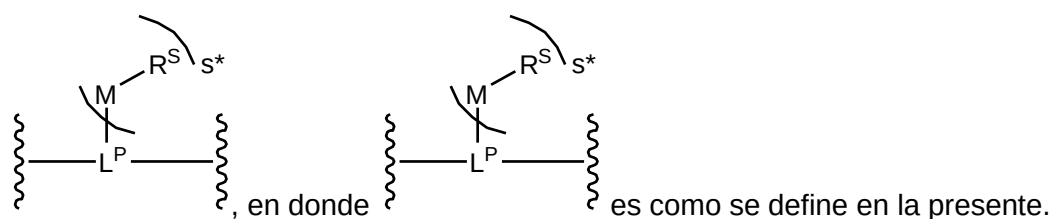
[00291] En otra forma de realización preferida, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



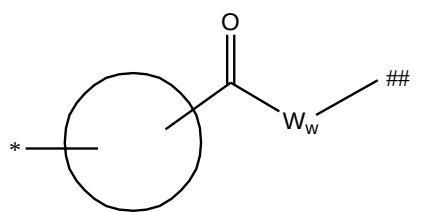
que comprende el dipéptido valina-alanina como la unidad de aminoácidos $-W_w-$; y en donde R^S es una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente R^S es una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es como se define en la presente; preferiblemente M es $-O-$; y * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). Los enlazadores de acuerdo con estas formas de realización pueden ser ejemplos ilustrativos de un enlazador que es escindible, en particular por una proteasa, tal como por ej. una catepsina (por ej. catepsina B).

[00292] En algunas formas de realización, el enlazador L tiene la fórmula: $*-A_a-W_w-##$, en donde $-A_a-$ es una segunda unidad espaciadora como se define en la presente; el entero a asociado con la segunda unidad espaciadora es como se define en la presente; $-W_w-$ es una unidad de aminoácidos como se define en la presente; el entero w asociado con la unidad de aminoácidos W es como se define en la presente; la primera unidad espaciadora ($-B_b-$) está ausente; * indica el punto de unión a Y; y # indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). Preferiblemente, el entero a es 1. Preferiblemente, el entero w es 2, 3 o 4, más preferiblemente el entero w es 2 o 3, aún más preferiblemente el entero w es 2.

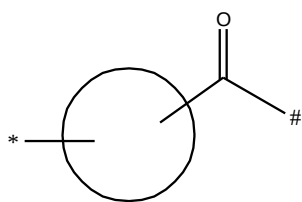
Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ). En una cualquiera de estas formas de realización, la segunda unidad espaciadora $-A-$ puede ser un grupo Z que tiene la estructura



[00293] El enlazador L puede tener la siguiente estructura:



en donde:

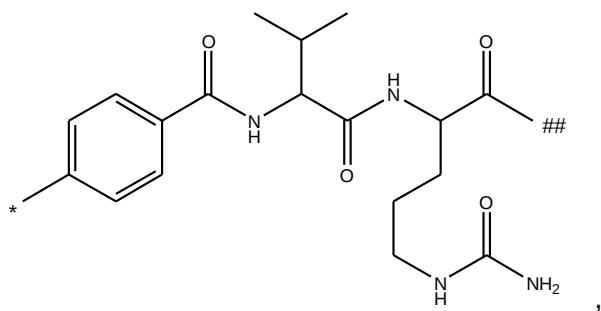


es como se define en la presente; * indica el punto de unión a Y; y # indica el punto de unión a la unidad de aminoácidos $-W_w-$;

$-W_w-$ es una unidad de aminoácidos como se describe en la presente; w es un entero como se describe en la presente, preferiblemente w es 2, 3 o 4 (es decir preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido, un tripéptido o un tetrapéptido), más preferiblemente el entero w es 2 o 3 (es decir más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido o un tripéptido), aún más preferiblemente w es 2 (es decir aún más preferiblemente $-W_w-$ es un dipéptido);

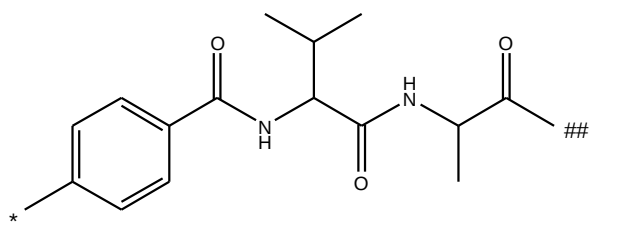
* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), alanina-alanina (es decir Ala-Ala o AA) y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC), valina-alanina (es decir Val-Ala o VA), y fenilalanina-lisina (es decir Phe-Lys o FK). Aún más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC) o valina-alanina (es decir Val-Ala o VA). Incluso más preferiblemente, en estas formas de realización la unidad de aminoácidos es valina-citrulina (es decir Val-Cit o VC). Alternativamente, en estas formas de realización, la unidad de aminoácidos $-W_w-$ puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ) y treonina-treonina (es decir Thr-Thr o TT). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ), leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ), y fenilalanina-glutamina (es decir Phe-Gln o FQ). En estas formas de realización, la unidad de aminoácidos puede ser valina-glutamina (es decir Val-Gln o VQ) o leucina-glutamina (es decir Leu-Gln o LQ).

[00294] En algunas formas de realización, el enlazador L puede tener la siguiente estructura:



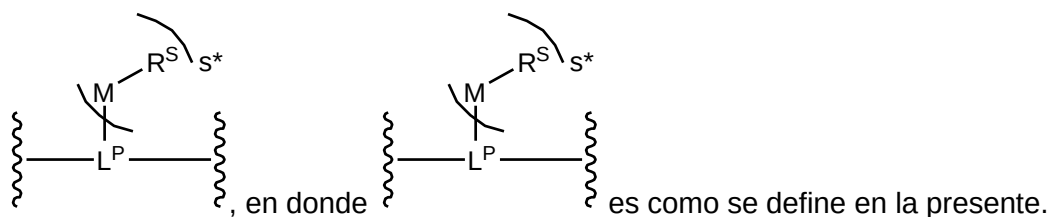
que comprende el dipéptido valina-citrulina como la unidad de aminoácidos $-W_w-$; y en donde * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00295] En algunas formas de realización, el enlazador L puede tener la siguiente estructura:

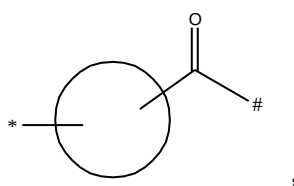


que comprende el dipéptido valina-alanina como la unidad de aminoácidos $-W_w-$; y en donde * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

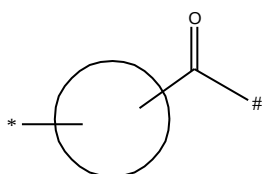
[00296] En algunas formas de realización, el enlazador (-L-) tiene la fórmula: $*-A_a-##$, en donde -A- es una segunda unidad espaciadora como se define en la presente; el entero a asociado con la segunda unidad espaciadora es 1; la unidad de aminoácidos $-W_w-$ está ausente; la primera unidad espaciadora (-B-) está ausente; * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). En una cualquiera de estas formas de realización, la segunda unidad espaciadora $-A_a-$ puede ser un grupo Z que tiene la estructura



[00297] El enlazador (-L-) puede tener la siguiente estructura:

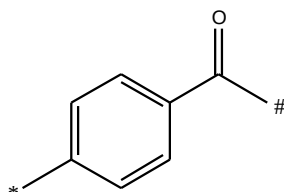


en donde:



es como se define en la presente; * indica el punto de unión a Y; y # indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00298] En algunas formas de realización, el enlazador L puede tener la siguiente estructura:

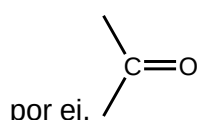


[00299] en donde * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

Enlazador $*-A_{\underline{a}}-Q^{CO}_{\underline{g}}-G-##$

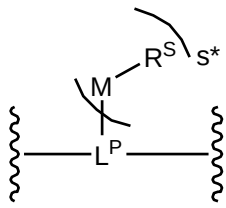
[00300] En algunas formas de realización, el enlazador L tiene la siguiente estructura: $*-A_{\underline{a}}-Q^{CO}_{\underline{g}}-G-##$, en donde: -A- es una segunda unidad espaciadora, como se describe en la presente; $\underline{a}$ es 0 o 1, como se describe en la presente; cada $-Q^{CO}-$ es independientemente una unidad conectora; $\underline{g}$ es 0 o 1; y -G- es una primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar; * indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Se describen enlazadores que comprenden una fracción de azúcar, tal como por ej. una fracción de ácido glucurónico por ej. en Jeffrey et al., “*Development and Properties of beta-Glucuronide Linkers for Monoclonal Antibody-Drug Conjugates*”, Bioconjugate Chem. 2006, 17, 831-840, doi: 10.1021/bc0600214; WO 2019/236954; y WO 2015/057699.

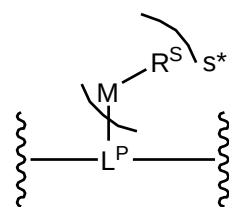
[00301] En el enlazador $*-A_a-Q^{CO}_q-G-^{\#}$, la segunda unidad espaciadora -A-, cuando está presente, puede ser cualquier segunda unidad espaciadora como se describe en la presente. En el enlazador que tiene la estructura $*-A_a-Q^{CO}_q-G-^{\#}$, la segunda unidad espaciadora sirve para conectar Y con la unidad conectora Q^{CO} , cuando está presente, o con la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar. La segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, puede ser cualquier grupo o fracción química que es capaz de unir Y con la unidad conectora (Q^{CO}). Alternativamente, la segunda unidad espaciadora (-A-) puede unir Y con la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-), en el caso en que ninguna unidad conectora Q^{CO} esté presente. En este sentido, Y, como se describe en la presente, está unida a la segunda unidad espaciadora (-A-). La segunda unidad espaciadora (-A-) comprende o es un grupo funcional que es capaz de formar un enlace con una unidad conectora ($-Q^{CO}-$), o con una primera unidad espaciadora que tiene una fracción de azúcar (-G-), dependiendo de si una unidad conectora ($-Q^{CO}-$) está presente o no. Preferiblemente, el grupo funcional, que es capaz de formar un enlace con una unidad conectora ($-Q^{CO}-$), o con una primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-), es un grupo carbonilo que está representado como,



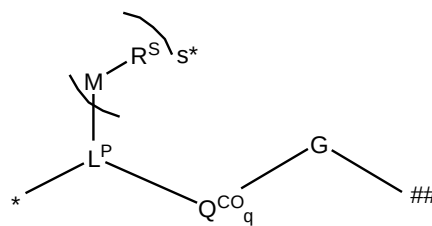
o $-C(O)-$. El entero $\underline{a}$ asociado con la segunda unidad espaciadora puede ser 0 o 1. Preferiblemente, el entero $\underline{a}$ es 1. Alternativamente, en otras formas de realización la segunda unidad espaciadora está ausente ($\underline{a} = 0$).

[00302] En el enlazador $*-A_a-Q^{CO}_q-G-^{\#}$, la segunda unidad espaciadora -A-, cuando está presente, puede ser cualquier segunda unidad espaciadora como se describe en la presente. En algunas formas de realización, la segunda unidad espaciadora -A-, cuando está

presente, puede ser un grupo Z que tiene la estructura , en donde



es como se define en la presente. En concordancia, en algunas formas de

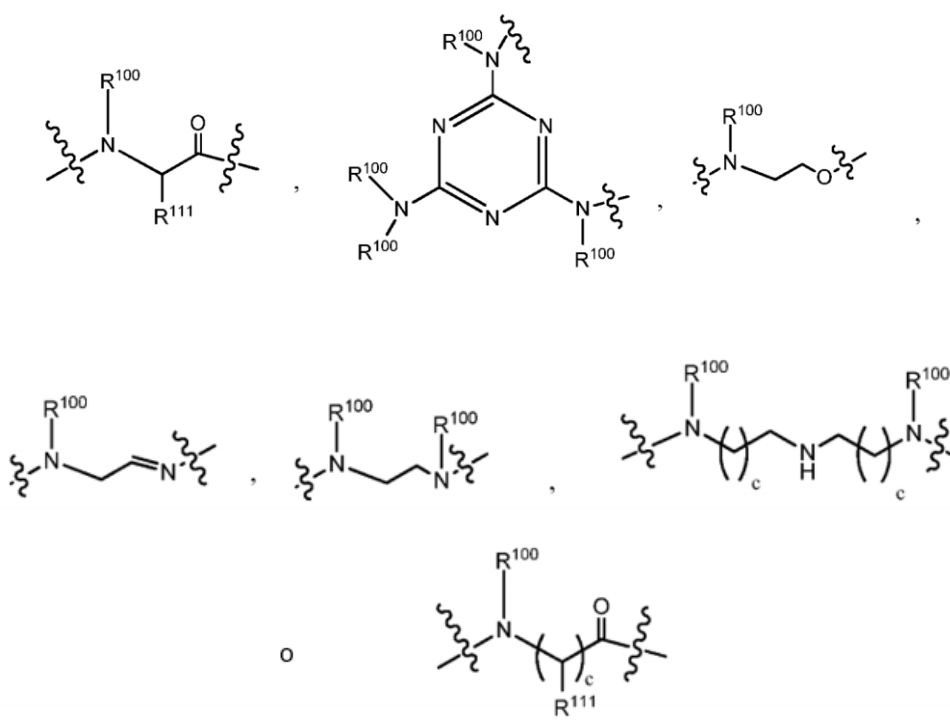


realización, el enlazador (L) puede tener la estructura $\text{*} \text{---} \text{L}^{\text{P}} \text{---} \text{Q}^{\text{CO}}_{\text{q}} \text{---} \text{G} \text{---} \text{##}$, en donde L^{P} , R^{S} , $\text{s}^{\text{*}}$, M, Q^{CO} , q, y G son como se define en la presente; * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

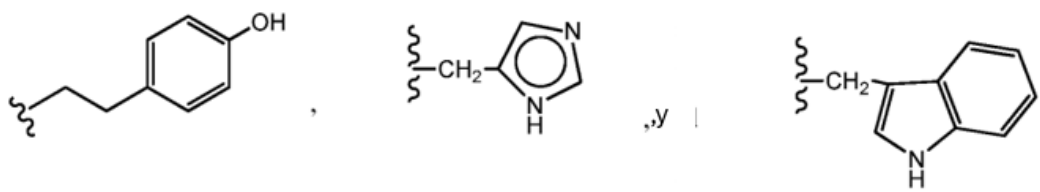
[00303] La unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$) puede ser incluida en casos en donde es deseable agregar distancia adicional entre -Y- o, cuando está presente, entre la segunda unidad espaciadora (-A-) y la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-). En algunas formas de realización, la distancia extra puede ayudar con la activación dentro de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-). En concordancia, la unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$), cuando está presente, extiende el marco (*framework*) del enlazador (-L-). En este sentido, una unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$) está unida covalentemente con -Y- o, cuando una segunda unidad espaciadora -A- está presente, con la segunda unidad espaciadora (-A-) en un extremo, y la unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$) está covalentemente unida a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) en su otro extremo. El entero q asociado con la unidad conectora Q^{CO} puede ser 0 o 1. Preferiblemente, el entero q es 1. Alternativamente, en otras formas de realización, la unidad conectora Q^{CO} está ausente (q = 0).

[00304] La unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$), cuando está presente, sirve para unir la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) con la segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, o con -Y-. La unidad conectora Q^{CO} puede ser cualquier grupo o fracción química que sirve para proveer la unión de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) con la segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, o con -Y-. La unidad conectora puede, por ejemplo, comprender uno o más, por ej. 1-10, preferiblemente, 1, 2, 3, o 4) residuos aminoácidos naturales o no naturales, aminoalcoholes, amino aldehídos, y diaminos. En algunas formas de realización, la unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$) es un único residuo aminoácido natural o no natural, aminoalcohol, amino aldehído, o diamino. En algunas formas de realización, el aminoácido capaz de actuar como unidad conectora es beta-alanina. En particular, la unidad conectora puede ser una única beta-alanina.

[00305] En algunas formas de realización, la unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$) tiene la fórmula indicada a continuación:



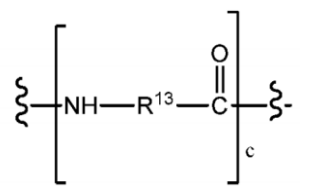
en donde las líneas onduladas indican la unión de la unidad conectora dentro del enlazador (-L-) o a -Y-, cuando la segunda unidad espaciadora (-A-) está ausente; y en donde R^{111} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxibencilo, metilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-piridilmetilo-, 3-piridilmetilo-, 4-piridilmetilo-,



y cada R^{100} está independientemente seleccionado de hidrógeno o -alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$), preferiblemente hidrógeno o CH_3 ; y el subíndice $\underline{c}$ es un entero independientemente seleccionado de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 3.

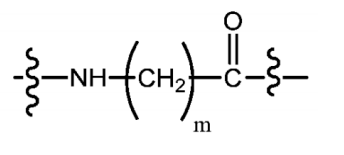
[00306] En formas de realización preferidas, una unidad conectora tiene la siguiente estructura ($-\text{Q}^{\text{CO}}-$) que tiene un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora

que comprende una fracción de azúcar (-G-), y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, como sigue:



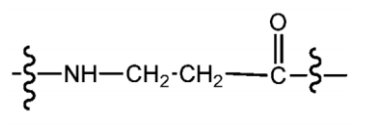
en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$)-, -carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -arileno-, -heteroalquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-arileno-, -arileno-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, y -heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) -, y el subíndice $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R^{13} es -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) y $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R^{13} es -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) y $\underline{c}$ es 1.

[00307] Más preferiblemente, la unidad conectora ($-\text{Q}^{\text{CO}}-$) tiene la siguiente estructura de:



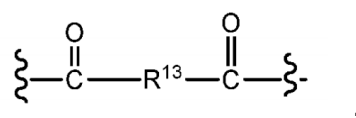
en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4.

[00308] Aún más preferiblemente, la unidad conectora ($-\text{Q}^{\text{CO}}-$) tiene la siguiente estructura de:



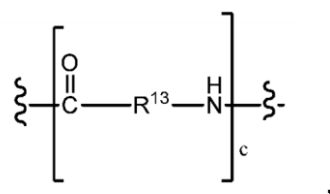
en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00309] Otra unidad conectora representativa (-Q^{CO}-) que tiene un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) es como sigue:



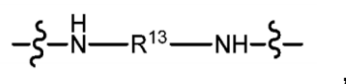
en donde R¹³ es -alquileo (C₁-C₆)-, -carbociclo (C₃-C₈)-, -arileno-, -heteroalquileo (C₁-C₁₀)-, -heterociclo (C₃-C₈)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-arileno-, -arileno-alquileo (C₁-C₁₀)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-carbociclo (C₃-C₈)-, -carbociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-heterociclo (C₃-C₈)-, o -heterociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-. En algunas formas de realización R¹³ es -alquileo (C₁-C₆).

[00310] Otra unidad conectora representativa que tiene una fracción NH que se une a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) es como sigue:



en donde en cada instancia, R¹³ está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo (C₁-C₆)-, -carbociclo (C₃-C₈)-, -arileno-, -heteroalquileo (C₁-C₁₀)-, -heterociclo (C₃-C₈)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-arileno-, -arileno-alquileo (C₁-C₁₀)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-carbociclo (C₃-C₈)-, -carbociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-heterociclo (C₃-C₈)-, y -heterociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)- y el subíndice c es desde 1 a 14. En algunas formas de realización R¹³ es -alquileo (C₁-C₆) y el subíndice c es 1.

[00311] Otra unidad conectora representativa (-Q^{CO}-) que tiene una fracción NH que se une a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) es como sigue:



en donde R^{13} es -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$)-, -carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -arileno-, -heteroalquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-arileno-, -arileno-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-; -C(=O) alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) - o -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$)-C(=O)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$).

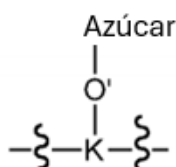
[00312] La primera unidad espaciadora que tiene una fracción de azúcar (-G-) es el único componente del enlazador que tiene la estructura $^*\text{-A}_a\text{-Q}^{\text{CO}}_q\text{-G-}^{\#\#}$ que debe estar presente. En algunas formas de realización, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) forma un enlace escindible con la fracción de droga (-D). En algunas formas de realización, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) forma un enlace escindible con la unidad conectora ($\text{-Q}^{\text{CO}}\text{-}$), cuando está presente. En algunas formas de realización, el enlace escindible está dentro de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) pero permite la liberación de la droga libre (por ej. mediante una reacción de 1,6-eliminación siguiente a la escisión). Los grupos funcionales para formar enlaces escindibles pueden incluir, por ejemplo, azúcares para formar enlaces glicosídicos.

[00313] La estructura y secuencia de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) puede ser tal que la unidad es escindida mediante la acción de enzimas presentes en el sitio diana. En otras formas de realización, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) puede ser escindible mediante otros mecanismos. La primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) puede comprender uno o múltiples sitios de escisión.

[00314] Preferiblemente, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) comprende sitio de escisión de azúcar. En algunas de dichas formas de realización, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) comprende una fracción de azúcar (Su) ligada mediante un enlace glicosídico de oxígeno a un grupo autoinmolativo. En tales aspectos, el grupo autoinmolativo es considerado como parte de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-). En este sentido, el "grupo autoinmolativo" puede ser una fracción química trifuncional que es capaz

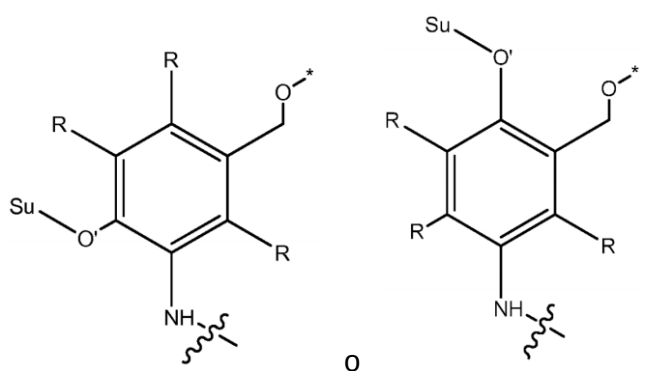
de unir covalentemente en conjunto tres fracciones químicas separadas (es decir la fracción de azúcar (mediante un enlace glicosídico), una fracción de droga (-D), y una unidad conectora -Q^{CO}-, una segunda unidad espaciadora -A-, o -Y-, dependiendo de si está presente o no una unidad -Q^{CO}- y/o una unidad -A-. El enlace glicosídico puede ser uno que pueda ser escindido en el sitio diana para iniciar una secuencia de reacciones autoinmolativas que conduzca a la liberación de la droga. Pueden seleccionarse fracciones de azúcar particulares, por ej. del grupo que consiste en ácido glucurónico, galactosa, glucosa, arabinosa, mannososa-6-fosfato, fucosa, ramnosa, gulosa, allosa, 6-desoxi-glucosa, lactosa, maltosa, cellobiosa, gentiobiosa, maltotriosa, GlcNAc, GalNAc y maltohexosa

[00315] En concordancia, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) puede comprender una fracción de azúcar (Su) ligada mediante un enlace glicosídico(-O'-) a un grupo autoinmolativo (K) de la fórmula



en donde el grupo autoinmolativo K forma un enlace covalente con la fracción de droga y un enlace covalente con -Q^{CO}-, -A-, o -Y-, como pueda ser el caso.

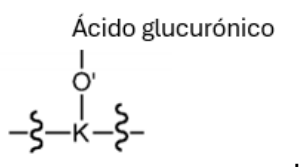
[00316] La primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) puede estar, por ejemplo, representada mediante la fórmula:



en donde Su es una fracción de azúcar, -O'- representa un enlace glicosídico de oxígeno; cada R es independientemente hidrógeno, un halógeno, -CN, o -NO₂; y en donde la línea ondulada indica la unión a -Q^{CO}-, -A-, o -Y-, como pueda ser el caso, y el asterisco indica la

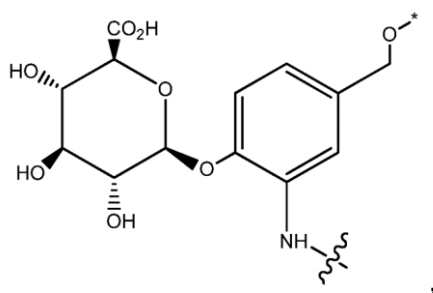
unión a la fracción de droga (ya sea directamente o indirectamente mediante una unidad espaciadora; la unidad espaciadora, cuando está presente, puede ser, por ejemplo - (C=O)-).

[00317] En algunas de dichas formas de realización, el sitio de escisión de azúcar es reconocido por una beta-glucuronidasa y la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) comprende una unidad glucurónido. La unidad glucurónido puede comprender ácido glucurónico ligado mediante un enlace glicosídico (-O'-) a un grupo autoinmolativo (K) de la fórmula:



en donde el grupo autoinmolativo K forma un enlace covalente con la fracción de droga (ya sea directamente o indirectamente mediante una unidad espaciadora; la unidad espaciadora, cuando está presente, puede ser, por ejemplo -(C=O)-) y un enlace covalente con -Q^{CO-}, -A-, o -Y-, como pueda ser el caso.

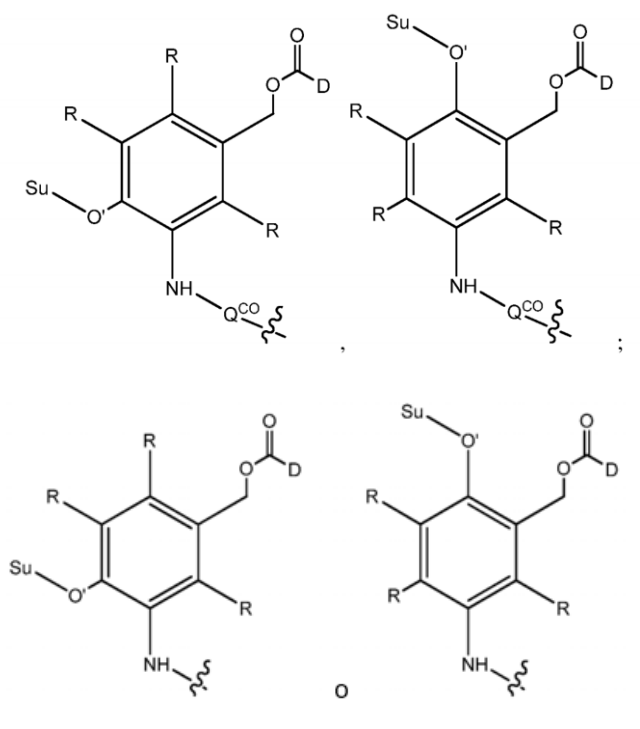
[00318] La unidad glucurónido puede ser, por ejemplo, representada mediante la fórmula:



en donde la línea ondulada indica una unión covalente a -Q^{CO-}, -A- o -Y-, como pueda ser el caso, y el asterisco indica una unión covalente a la fracción de droga -C (ya sea directamente o indirectamente mediante una unidad espaciadora; la unidad espaciadora, cuando está presente, puede ser, por ejemplo -(C=O)-).

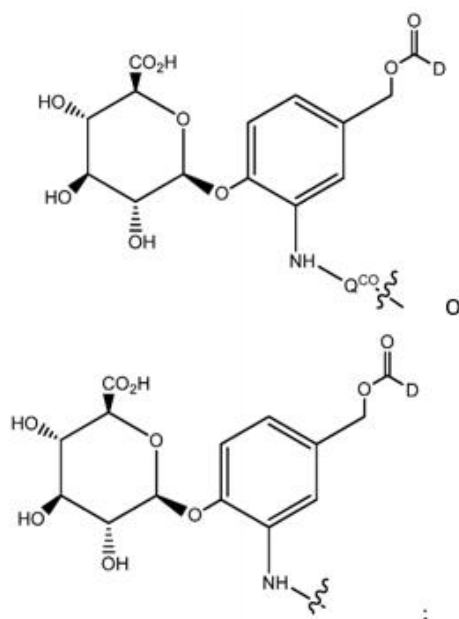
[00319] En algunas formas de realización la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) comprende un sitio de escisión de azúcar, y -S-C, es

decir la combinación de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) y la fracción de droga(-D), está representada mediante las siguientes fórmulas:



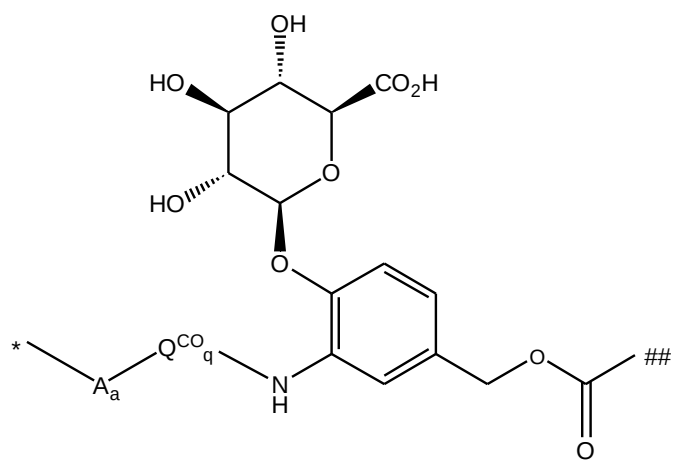
en donde Su es una fracción de azúcar, D es un resto de droga, -O'- representa un enlace glicosídico de oxígeno; cada R es cada una independientemente hidrógeno o halógeno, -CN, -NO₂ u otro grupo atractor de electrones, -Q^{CO}- es una unidad conectora, como se describe en la presente; en donde la línea ondulada indica una unión covalente a -A- o -Y- , como pueda ser el caso.

[00320] Cuando la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) comprende una unidad glucurónido, entonces -S-C, es decir la combinación de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) y la fracción de droga (-D) puede ser, por ejemplo, representada mediante las siguientes fórmulas:



en donde la línea ondulada indica una unión covalente a -A- o -Y-, como pueda ser el caso; D es un resto de droga; y $-\text{Q}^{\text{CO}}-$ es una unidad conectora, como se describe en la presente.

[00321] En formas de realización preferidas, el enlazador (L) tiene la siguiente estructura:

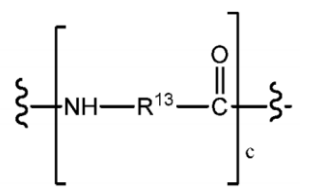


en donde:

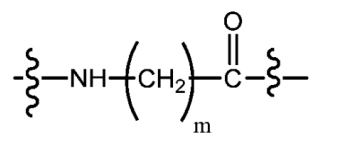
-A- es una segunda unidad espaciadora como se describe en la presente; $\underline{a}$ es un entero como se describe en la presente, preferiblemente $\underline{a}$ es 1;

$-\text{Q}^{\text{CO}}-$ es una unidad conectora como se describe en la presente; $\underline{q}$ es un entero como se define en la presente, preferiblemente $\underline{q}$ es 1;

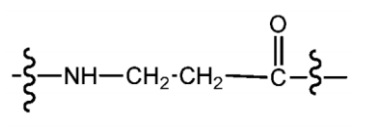
* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). En estas formas de realización, la unidad conectora (Q^{CO}), cuando está presente, puede tener un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora (- A-), cuando está presente, y puede ser como sigue:



en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$)-, -carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -arileno-, -heteroalquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-arileno-, -arileno-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, -carbociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-, y -heterociclo ($\text{C}_3\text{-C}_8$)-alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)-, y el subíndice $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R^{13} es -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) y $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R^{13} es -alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) y $\underline{c}$ es 1; preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora ($-Q^{CO}-$), cuando está presente, puede tener la siguiente estructura:

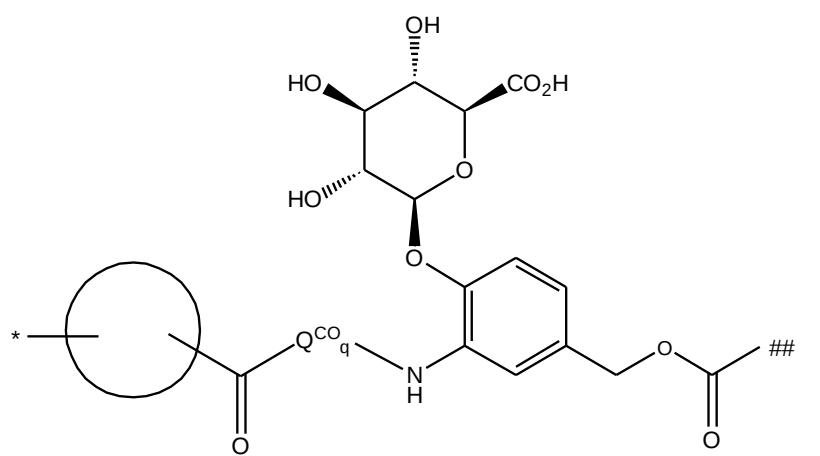


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora ($-A_a-$), cuando está presente, y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4; más preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora ($-Q^{CO}-$), cuando está presente, tiene la siguiente estructura:

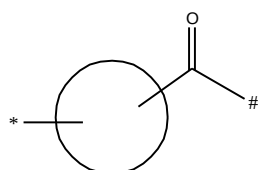


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A_a-), cuando está presente, y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00322] Más preferiblemente, el enlazador (L) tiene la siguiente estructura:

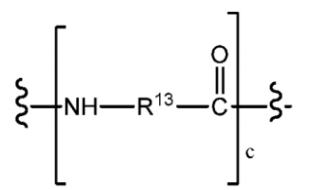


en donde:

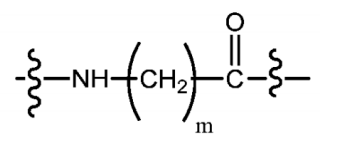


es como se define en la presente; * indica el punto de unión a -Y-; y # indica el punto de unión a la unidad conectora (-Q^{CO}-), cuando está presente, o al grupo NH; -Q^{CO}- es una unidad conectora como se define en la presente; q es un entero como se define en la presente, preferiblemente q es 1;

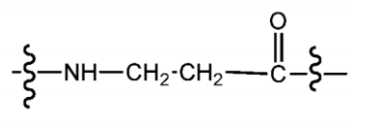
* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). En estas formas de realización, la unidad conectora (Q^{CO}), cuando está presente, puede tener un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora (-A-), y puede ser como sigue:



en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo (C_1-C_6)-, -carbociclo (C_3-C_8)-, -arileno-, -heteroalquileo (C_1-C_{10})-, -heterociclo (C_3-C_8)-, -alquileo (C_1-C_{10})-arileno-, -arileno-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-carbociclo (C_3-C_8)-, -carbociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-heterociclo (C_3-C_8)-, y -heterociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, y el subíndice $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y $\underline{c}$ es 1. Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora ($-Q^{CO_p}-$), cuando está presente, puede tener la siguiente estructura:

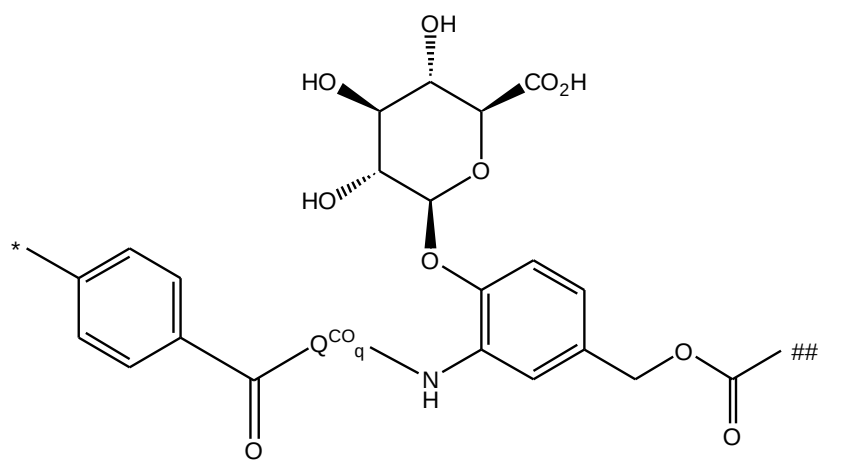


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4. Más preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora ($-Q^{CO_p}-$), cuando está presente, tiene la siguiente estructura:



en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A_a-), cuando está presente, y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00323] Aún más preferiblemente, el enlazador (L) tiene la siguiente estructura:

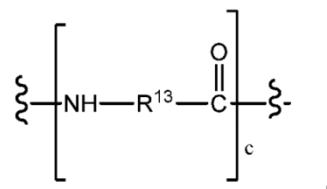


en donde:

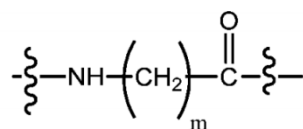
Q^{CO} es una unidad conectora como se define en la presente; q es un entero como se define en la presente, preferiblemente q es 1;

* indica el punto de unión a Y; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D). En estas formas de realización, la unidad conectora (Q^{CO}), cuando está presente, puede tener un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora (-A-), y puede ser como sigue:

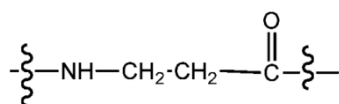
:



en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo (C_1-C_6)-, -carbociclo (C_3-C_8)-, -arileno-, -heteroalquileo (C_1-C_{10})-, -heterociclo (C_3-C_8)-, -alquileo (C_1-C_{10})-arileno-, -arileno-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-carbociclo (C_3-C_8)-, -carbociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-heterociclo (C_3-C_8)-, y -heterociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, y el subíndice c es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y c es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y c es 1. Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora (- Q^{CO} -), cuando está presente, puede tener la siguiente estructura:

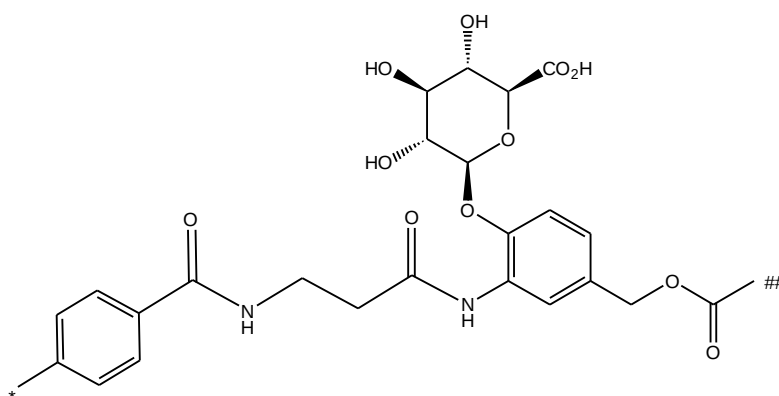


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4; más preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora (-Q^{CO}-), cuando está presente, tiene la siguiente estructura:



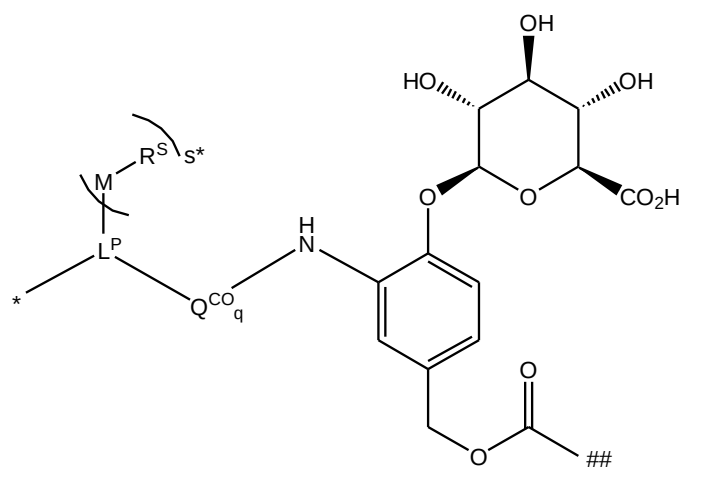
en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00324] Aún más preferiblemente, el enlazador L puede tener la siguiente estructura:

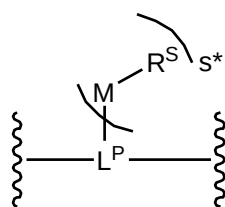


en donde * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00325] En formas de realización preferidas, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



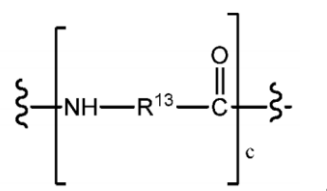
en donde:



es como se describe en la presente; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se describe en la presente; preferiblemente cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se describe en la presente; M es, cada una independientemente, como se describe en la presente; preferiblemente cada M es $-O-$; s^* es un entero como se describe en la presente; preferiblemente, s^* es 1;

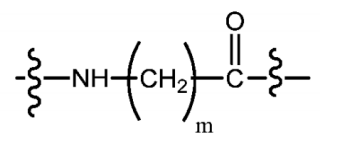
$-Q^{CO}-$ es una unidad conectora como se describe en la presente; q es un entero como se define en la presente, preferiblemente q es 1;

$*$ indica el punto de unión a Y ; y $##$ indica el punto de unión a la fracción de droga ($-D$). En estas formas de realización, la unidad conectora (Q^{CO}), cuando está presente, puede tener un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar ($-G-$) y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora ($-A-$), y puede ser como sigue:

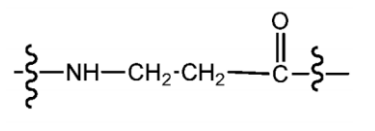


en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en $-alqueno (C_1-C_6)-$, $-carbociclo (C_3-C_8)-$, $-arileno-$, $-heteroalqueno (C_1-C_{10})-$, $-heterociclo$

(C₃-C₈)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-arileno-, -arileno-alquileo (C₁-C₁₀)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-carbociclo (C₃-C₈)-, -carbociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-, -alquileo (C₁-C₁₀)-heterociclo (C₃-C₈)-, y -heterociclo (C₃-C₈)-alquileo (C₁-C₁₀)-, y el subíndice $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R¹³ es -alquileo (C₁-C₆) y $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R¹³ es -alquileo (C₁-C₆) y $\underline{c}$ es 1. Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora (-Q^{CO}-), cuando está presente, puede tener la siguiente estructura:

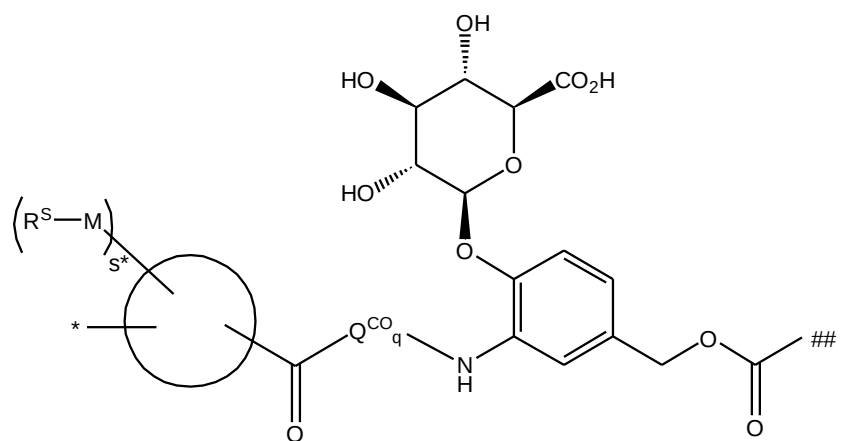


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4. Más preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora (-Q^{CO}-), cuando está presente, tiene la siguiente estructura:

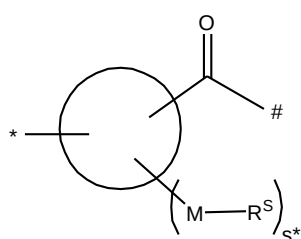


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00326] Más preferiblemente, el enlazador (L) tiene la siguiente estructura:

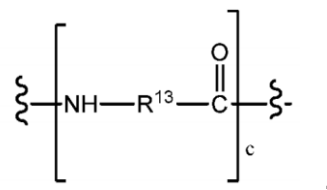


en donde:

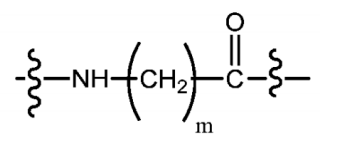


es como se define en la presente; R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente, cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es $-O-$; s^* es un entero como se define en la presente; preferiblemente s^* es 1; $*$ indica el punto de unión a Y ; $*$ indica el punto de unión a $-Y-$; y $\#$ indica el punto de unión a la unidad conectora ($-Q^{CO}-$), cuando está presente, o al grupo NH ; $-Q^{CO}-$ es una unidad conectora como se define en la presente; q es un entero como se define en la presente, preferiblemente q es 1;

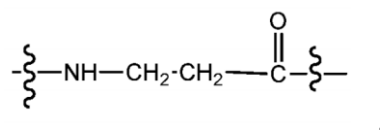
$*$ indica el punto de unión a Y ; y $##$ indica el punto de unión a la fracción de droga ($-D$). En estas formas de realización, la unidad conectora (Q^{CO}), cuando está presente, puede tener un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar ($-G-$) y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora ($-A-$), y puede ser como sigue:



en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo (C_1-C_6)-, -carbociclo (C_3-C_8)-, -arileno-, -heteroalquileo (C_1-C_{10})-, -heterociclo (C_3-C_8)-, -alquileo (C_1-C_{10})-arileno-, -arileno-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-carbociclo (C_3-C_8)-, -carbociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-heterociclo (C_3-C_8)-, y -heterociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, y el subíndice $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y $\underline{c}$ es 1. Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora ($-Q^{CO}-$), puede tener la siguiente estructura:

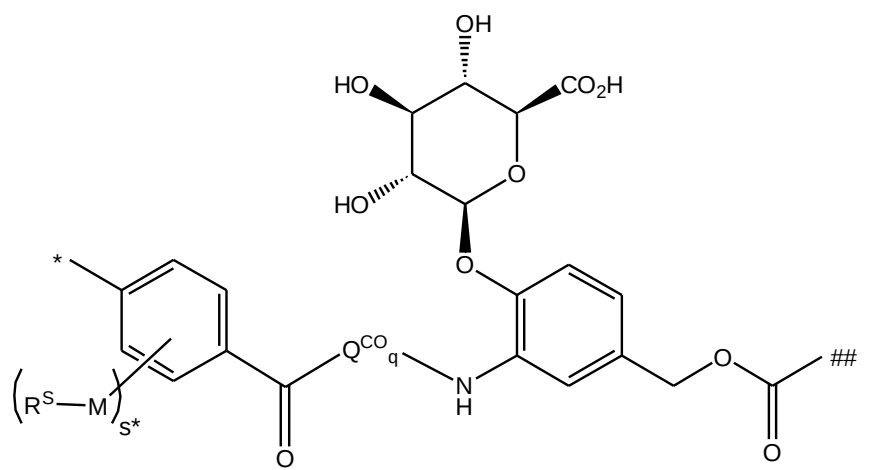


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4. Más preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora ($-Q^{CO}-$), cuando está presente, tiene la siguiente estructura:



en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00327] Más preferiblemente, el enlazador (L) tiene la siguiente estructura:

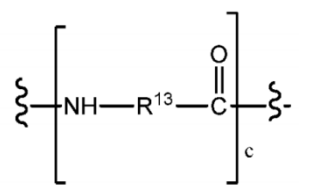


en donde:

R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente cada R^S es, independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol como se describe en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es $-O-$; s^* es un entero como se define en la presente; preferiblemente s^* es 1.

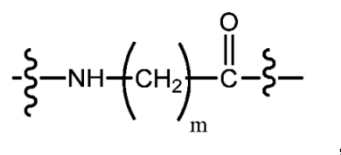
Q^{CO} es una unidad conectora como se define en la presente; q es un entero como se define en la presente, preferiblemente q es 1;

$*$ indica el punto de unión a Y ; y $##$ indica el punto de unión a la fracción de droga ($-D$). En estas formas de realización, la unidad conectora (Q^{CO}), cuando está presente, puede tener un grupo carbonilo para unión a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar ($-G-$) y un grupo NH para unión a la segunda unidad espaciadora ($-A-$), y puede ser como sigue:

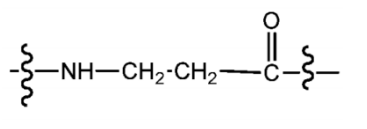


en donde en cada instancia R^{13} está independientemente seleccionado del grupo que consiste en -alquileo (C_1-C_6)-, -carbociclo (C_3-C_8)-, -arileno-, -heteroalquileo (C_1-C_{10})-, -heterociclo (C_3-C_8)-, -alquileo (C_1-C_{10})-arileno-, -arileno-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-carbociclo (C_3-C_8)-, -carbociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, -alquileo (C_1-C_{10})-heterociclo (C_3-C_8)-, y -heterociclo (C_3-C_8)-alquileo (C_1-C_{10})-, y el subíndice $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En algunas formas de realización R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y $\underline{c}$ es un entero en el rango de 1 a 4. En formas de realización preferidas, R^{13} es -alquileo (C_1-C_6) y $\underline{c}$ es 1.

Preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora (-Q^{CO}-), cuando está presente, puede tener la siguiente estructura:

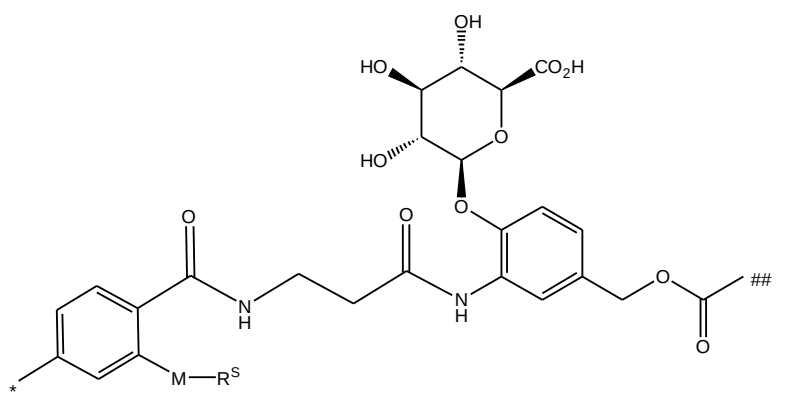


en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-); y m es un entero en el rango de 1 a 6, preferiblemente 2 a 6, más preferiblemente 2 a 4. Más preferiblemente, en estas formas de realización, la unidad conectora (-Q^{CO}-), cuando está presente, tiene la siguiente estructura:



en donde la línea ondulada adyacente al nitrógeno indica una unión covalente a una segunda unidad espaciadora (-A-), y la línea ondulada adyacente al carbonilo indica una unión covalente al primer grupo espaciador que comprende una fracción de azúcar (-G-).

[00328] Aún más preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



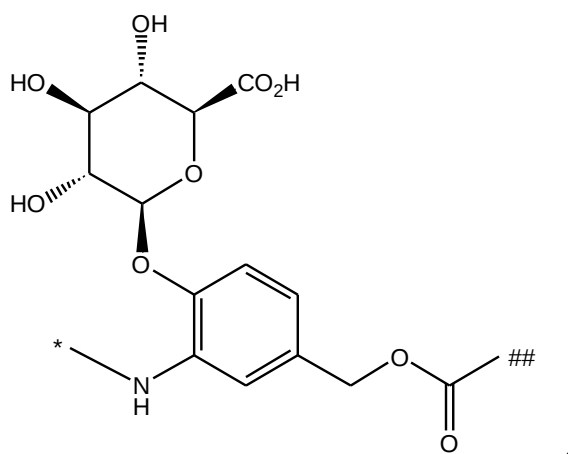
en donde:

R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente; preferiblemente cada R^S es, independientemente, una segunda unidad

de polietilenglicol como se describe en la presente; M es, cada una independientemente, como se define en la presente; preferiblemente cada M es -O-; s* es un entero como se define en la presente; preferiblemente s* es 1.

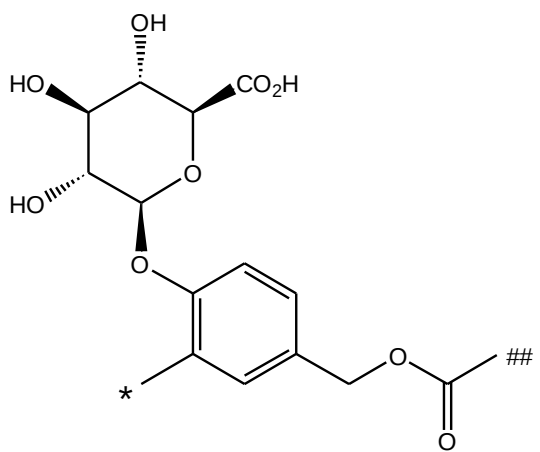
* indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D).

[00329] También preferiblemente, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



en donde * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00330] En una forma de realización, el enlazador L tiene la siguiente estructura:



en donde * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). En esta forma de realización, Y puede ser como se define en la presente; preferiblemente, Y puede ser NH.

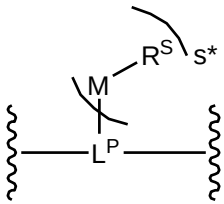
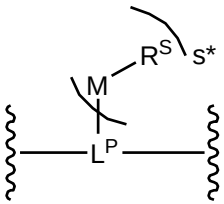
Enlazador $*-A_{\underline{a}}-U^{\text{AT}}_{\underline{u}}-\text{Sulf}-\#\#$

[00331] En algunas formas de realización, el enlazador L tiene la siguiente estructura: $*-A_{\underline{a}}-U^{\text{AT}}_{\underline{u}}-\text{Sulf}-\#\#$, en donde: $-A-$ es una segunda unidad espaciadora; $\underline{a}$ es 0 o 1; cada $-U^{\text{AT}}_{\underline{u}}-$ es independientemente una unidad de unión; $\underline{u}$ es 0 o 1; y $-\text{Sulf}-$ es una primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas; * indica el punto de unión a Y; y $\#\#$ indica el punto de unión a la fracción de droga (-D). Para enlazadores escindibles por sulfatasas, ver por ej. Bargh et al., “*Sulfatase-cleavable linkers for antibody-drug conjugates*”, Chemical Science, 2020, 11, 2375-2380, doi: 10.1039/c9sc06410a.

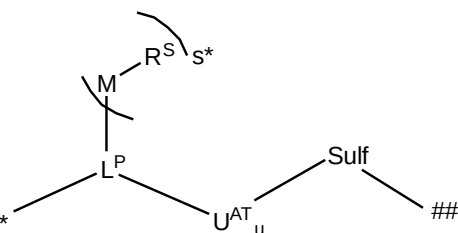
[00332] En el enlazador que tiene la estructura $*-A_{\underline{a}}-U^{\text{AT}}_{\underline{u}}-\text{Sulf}-\#\#$, la segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, sirve para conectar Y a la unidad de unión (U^{AT}), cuando está presente, o a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas. La segunda unidad espaciadora (-A-) puede ser cualquier grupo o fracción química que es capaz de ligar Y a la unidad de unión (U^{AT}). Alternativamente, la segunda unidad espaciadora (-A-) puede unir Y con la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (-Sulf-), en caso de que ninguna unidad de unión (U^{AT}) esté presente. En este sentido, Y, como se describe en la presente, está unida a la segunda unidad espaciadora (-A-). La segunda unidad espaciadora (-A-) comprende o es un grupo funcional que es capaz de formar un enlace con una unidad de unión ($-U^{\text{AT}}-$), o con una primera unidad espaciadora que tiene una fracción escindible por sulfatasas ($-\text{Sulf}-$), dependiendo de si una unidad de unión ($-U^{\text{AT}}-$) está presente o no. Preferiblemente, el grupo funcional, que es capaz de formar un enlace con una unidad de unión ($-U^{\text{AT}}-$), o con una primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas ($-\text{Sulf}-$),

es un grupo carbonilo que está representado como, por ej.  o $-\text{C}(\text{O})-$. El entero $\underline{a}$ asociado con la segunda unidad espaciadora puede ser 0 o 1. Preferiblemente, el entero $\underline{a}$ es 1. Alternativamente, en otras formas de realización la segunda unidad espaciadora está ausente ($\underline{a} = 0$).

[00333] En el enlazador $*-A_{\underline{a}}-U^{\text{AT}}_{\underline{u}}-\text{Sulf}-\#\#$, la segunda unidad espaciadora -A- puede ser cualquier segunda unidad espaciadora como se describe en la presente. En algunas formas de realización, la segunda unidad espaciadora -A-, cuando está presente, puede ser un grupo

Z que tiene la estructura , en donde  es como se define en

la presente. En concordancia, en algunas formas de realización, el enlazador (L) puede tener

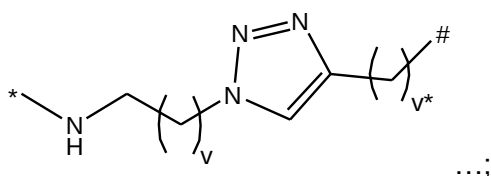


la estructura, $*$, en donde L^P , R^S , s^* , M , U^{AT} , u , y $Sulf$ son como se define en la presente; $*$ indica el punto de unión a -Y-; y $##$ indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00334] La unidad de unión (- U^{AT} -) puede ser incluida en casos en donde es deseable agregar distancia adicional entre -Y- o, cuando está presente, la segunda unidad espaciadora (-A-) y la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (-Sulf-). En concordancia, la unidad de unión (- U^{AT} -), cuando está presente, extiende el marco (*framework*) del enlazador (-L-). En este sentido, una unidad de unión (- U^{AT} -) puede estar unida covalentemente con -Y- o, cuando una segunda unidad espaciadora -A- está presente, con la segunda unidad espaciadora (-A-) en un extremo, y la unidad de unión (- U^{AT} -) está covalentemente unida a la primera unidad espaciadora que comprende un grupo escindible por sulfatasas (-Sulf-) en su otro extremo.

[00335] La unidad de unión (- U^{AT} -) puede ser cualquier grupo o fracción química que sirve para proveer la unión de la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (-Sulf-) a la segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, o a -Y-.

[00336] En algunas formas de realización, la unidad de unión (U^{AT}) tiene la fórmula indicada a continuación:

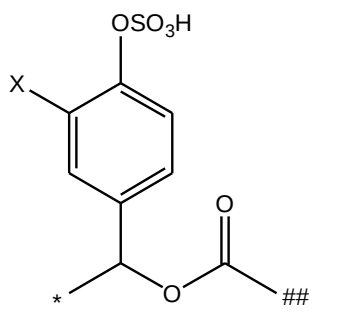


en donde v es un entero en el rango de 1 a 6; preferiblemente, v es 1 o 2; más preferiblemente v es 2; y

v^* es un entero en el rango de 1 a 6; preferiblemente, v^* es 1 o 2; más preferiblemente v^* es 1;

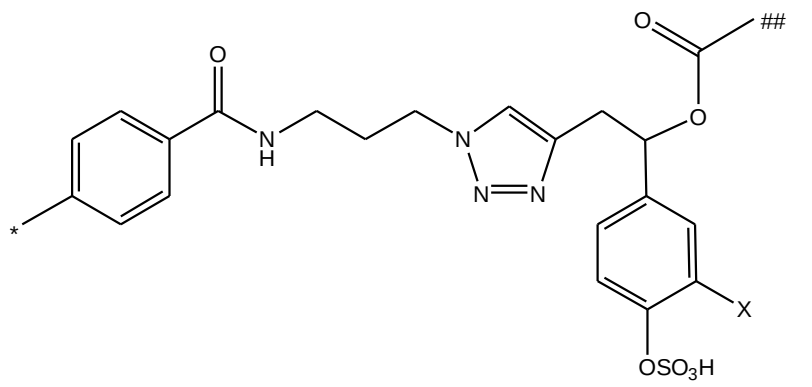
en donde * indica el punto de unión a la segunda unidad espaciadora (-A-), cuando está presente, y # indica el punto de unión a la fracción escindible por sulfatasas (Sulf).

[00337] Preferiblemente, la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (Sulf) tiene la fórmula indicada a continuación:



en donde X es hidrógeno (H) o un grupo atractor de electrones, tal como por ej. NO₂; * indica el punto de unión a la unidad de unión (U^{AT}), cuando está presente, o (-A-), cuando está presente; y # indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

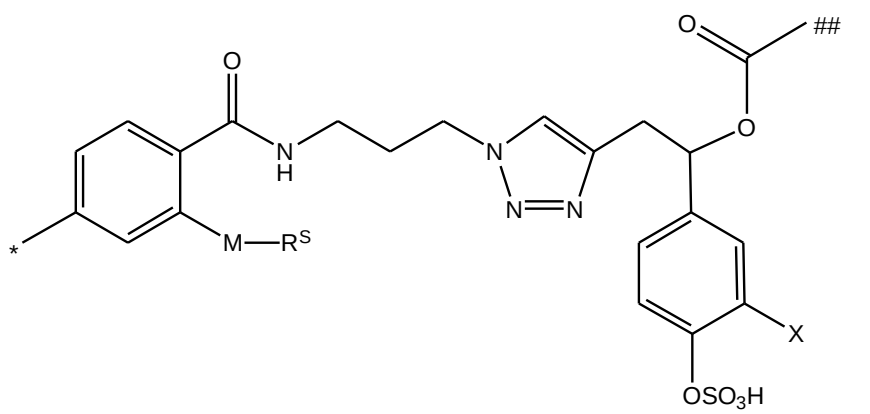
[00338] En algunas formas de realización, el enlazador L puede tener la siguiente estructura:



en donde X es H o NO₂;

* indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D).

[00339] En algunas formas de realización, el enlazador L puede tener la siguiente estructura:



en donde:

X es H o NO₂;

R^S es una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en la presente;

preferiblemente R^S es una segunda unidad de polietilenglicol como se define en la presente;

M es como se define en la presente; preferiblemente M es -O-;

* indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (- D).

Tercera Unidad Espaciadora

[00340] En algunas formas de realización, cuando una primera unidad espaciadora (- B-), o una primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-), o una primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (Sulf) está presente, el enlazador (L) puede comprender una tercera unidad espaciadora opcional (-E-), que está dispuesta entre la primera unidad espaciadora (-B-), o la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-), o la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (Sulf) y la fracción de droga (-D). La tercera unidad espaciadora puede ser un grupo funcional que puede facilitar la unión de la primera unidad espaciadora (-B-), o la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (- G-), o la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (Sulf), a la fracción de droga (-D), o puede proporcionar componentes estructurales adicionales que pueden facilitar la liberación de la fracción de droga (-D) del resto del conjugado. Se describen terceras unidades espaciadoras adecuadas, por ej. en la WO 2019/236954.

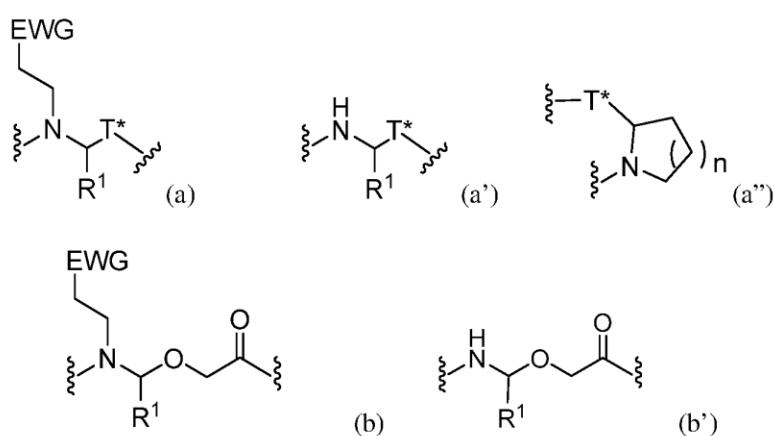
[00341] En algunas formas de realización, la tercera unidad espaciadora (-E-) está unida a la primera unidad espaciadora (-B-) y a la fracción de droga (-D). En concordancia, el enlazador (-L-) puede tener la estructura *-A_a-W_w-B_b-E-##; en donde -E- es una tercera unidad espaciadora como se describe en la presente; en donde -A-, a, -W-, w, y - B- son como

se describe en la presente, en particular en relación con el enlazador (L) que tiene la estructura $*-A_a-W_w-B_b-##$; b es 1; en donde, en cada instancia, * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00342] En otras formas de realización, la tercera unidad espaciadora (-E-) está unida a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción de azúcar (-G-) y a la fracción de droga (-D). En concordancia, el enlazador (-L-) puede tener la estructura $*-A_a-Q^{CO}_q-G-##$; en donde -E- es una tercera unidad espaciadora como se describe en la presente; en donde -A-, $\underline{a}$, $-Q^{CO}-$, q, y G son como se describe en la presente, en particular como con respecto al enlazador (-L-) que tiene la estructura $*-A_a-Q^{CO}_q-G-##$; en donde, en cada instancia, * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

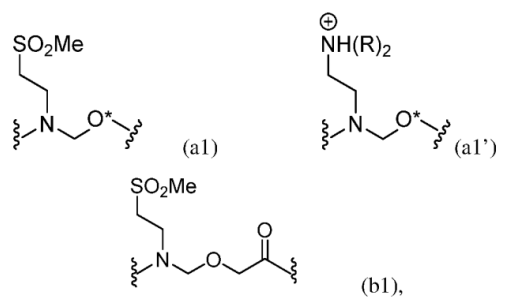
[00343] En otras formas de realización, la tercera unidad espaciadora (-E-) está unida a la primera unidad espaciadora que comprende una fracción escindible por sulfatasas (-Sulf-) y a la fracción de droga (-D). En concordancia, el enlazador (-L-) puede tener la estructura $*-A_a-U^{AT}_u-Sulf-E-##$; en donde -E- es una tercera unidad espaciadora como se describe en la presente; en donde -A-, $\underline{a}$, $-U^{AT}-$, u, y Sulf son como se describe en la presente, en particular como con respecto al enlazador (-L-) que tiene la estructura $*-A_a-U^{AT}_u-Sulf-##$; en donde, en cada instancia, * indica el punto de unión a -Y-; y ## indica el punto de unión a la fracción de droga (-D).

[00344] En algunas formas de realización, terceras unidades espaciadoras a modo de ejemplo -E- están representadas mediante las fórmulas:



en donde EWG representa un grupo atractor de electrones, R^1 es -H o alquilo (C_1 - C_4) y el subíndice n es 1 o 2. En algunas formas de realización, EWG está seleccionada del grupo que consiste en -CN, -NO₂, -CX₃, -X, C(=O)OR', -C(=O)N(R')₂, -C(=O)R', -C(=O)X, -S(=O)₂R', -S(=O)₂OR', -S(=O)₂NHR', -S(=O)₂N(R')₂, -P(=O)(OR')₂, -P(=O)(CH₃)NHR', -NO, -N(R')₃⁺, en donde X es -F, -Br, -Cl, o -I, y R' está independientemente seleccionado del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo (C_1 - C_6), y en donde la línea ondulada adyacente al átomo de nitrógeno en cada uno de las fórmulas (a), (a'), (a''), (b) y (b') es el punto de unión covalente a la primera unidad espaciadora (-B-) y la línea ondulada adyacente al átomo de carbono del carbonilo de la fórmula (b) y fórmula (b') es el punto de unión covalente a un heteroátomo de un hidroxilo o amina primaria o secundaria de una fracción de droga (-D); y en donde la fórmula (a), fórmula (a') y fórmula (a'') representa unidades a modo de ejemplo en las cuales T* es el heteroátomo de un grupo funcional hidroxilo o amina primaria o secundaria de una fracción de droga (-D); y en donde la línea ondulada adyacente a T* es el punto de unión covalente al resto de la fracción de droga. En estas formas de realización, la tercera unidad espaciadora -E- puede facilitar la liberación de la fracción de droga como droga libre.

[00345] En aún otras formas de realización, las terceras unidades espaciadoras están representadas mediante las fórmulas:



en donde la fórmula (a1) y la fórmula (a1') en la cual cada R es independientemente -H o alquilo (C_1 - C_4) representa unidades en las cuales O* es el átomo de oxígeno de un sustituyente hidroxilo de una fracción de droga (-D); y las líneas onduladas de la fórmula (a1), fórmula (a1') y fórmula (b1) retienen sus significados previos de las fórmulas (a), (a') y (b), respectivamente. En la fórmula (a1') la fracción -CH₂CH₂N⁺(R)₂ representa unidades básicas a modo de ejemplo en forma protonada.

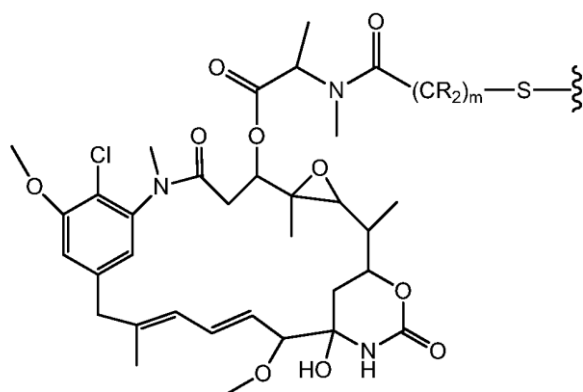
Fracción de Droga (-D)

[00346] La presente descripción proporciona conjugados, tales como por ej. conjugados de anticuerpo droga, que comprenden una fracción de droga. La expresión “fracción de droga”

o “carga útil”, las cuales ambas pueden ser utilizadas de manera intercambiable, como utilizadas en la presente se refieren a una fracción molecular química o bioquímica que está conjugada a una molécula de unión a receptor (RBM, por sus siglas en inglés), tal como, por ej. un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. A este respecto, se hace referencia nuevamente al conjugado de fórmula (I) descrito en la presente. La molécula de unión al receptor (RBM) puede ser conjugada a varias fracciones de droga idénticas o diferentes utilizando cualquier método descrito en la presente o conocido en la técnica. En algunas formas de realización, la fracción de droga puede ser una molécula que tiene un efecto citotóxico sobre células de mamíferos, puede conducir a apoptosis, y/o puede tener un efecto modulador sobre células malignas. La fracción de droga puede ser hidrófoba.

[00347] En algunas formas preferidas de realización la fracción de droga es un agente anticáncer. En concordancia, la droga puede ser seleccionada a partir del grupo que consiste en maitansinoides, calicheamicinas, tubulisinas, amatoxinas, dolastatinas y auristatinas tales como monometil auristatina E (MMAE) o monometil auristatina F (MMAF), dímeros de pirrolobenzodiazepina, dímeros de indolino-benzodiazepina, emetina, radioisótopos, proteínas y péptidos terapéuticos (o fragmentos de los mismos), inhibidores de quinasas, inhibidores de CDK, inhibidores de histona desacetilasa (HDAC), inhibidores de MEK, inhibidores de KSP y análogos o prodrogas de los mismos. En formas de realización preferidas, la fracción de droga es MMAE o MMAF. Más preferiblemente, la fracción de droga es MMAE.

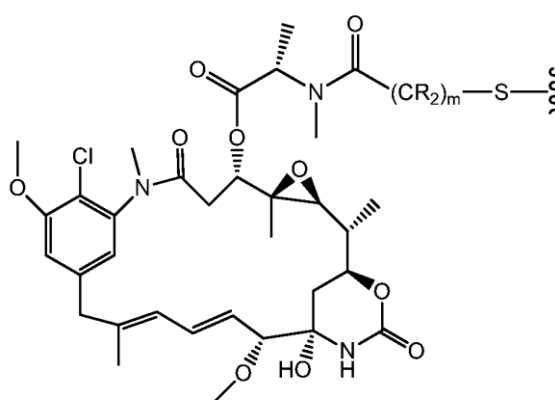
[00348] En algunas formas de realización la fracción de droga es una fracción de droga maitansinoide, que incluye aquellas que tienen la siguiente estructura:



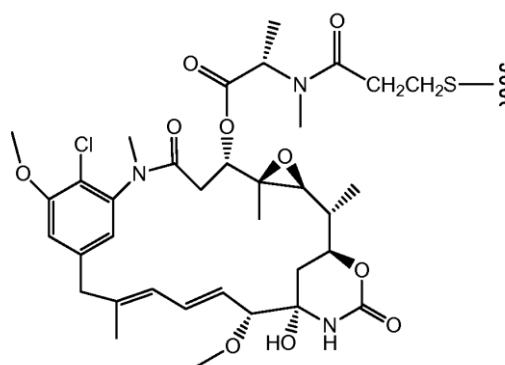
en donde las líneas onduladas indican la unión covalente del átomo de azufre del maitansinoide a un enlazador de un conjugado, tal como por ej., un conjugado de anticuerpo-

droga. R en cada aparición es independientemente H o un alquilo C_1 - C_6 . La cadena de alquileo que une el grupo amida al átomo de azufre puede ser metanilo, etanilo o propanilo, es decir, m es 1, 2, o 3. (U.S. Pat. No. 633.410, U.S. Pat. No. 5.208.020, Chari et al. (1992) Cancer Res. 52; 127-131, Lui et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. 93 :8618-8623).

[00349] Todos los estereoisómeros de la fracción de droga maitansinoide están contemplados para los conjugados, descritos en la presente, es decir, cualquier combinación de configuraciones R y S en los carbonos quirales del maitansinoide. En algunas formas de realización la fracción de droga maitansinoide tienen la siguiente estereoquímica:

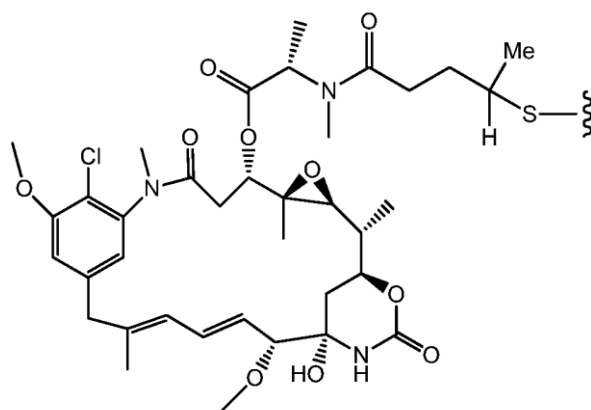


[00350] En algunas formas de realización la fracción de droga maitansinoide es $N^{2'}$ -desacetil- $N^{2'}$ -(3-mercapto-1-oxopropil)-maitansina (también conocida como DM1). DM1 está representada por la siguiente estructura estructural:



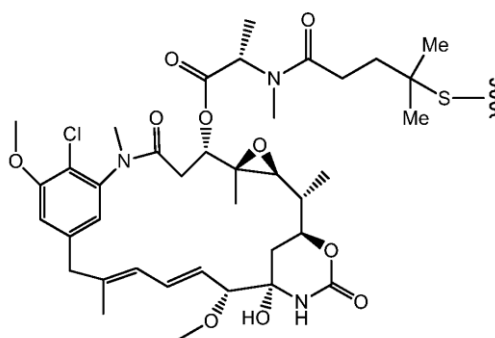
DM1

[00351] En algunas formas de realización la fracción de droga maitansinoide es $N^{2'}$ -desacetil- $N^{2'}$ -(4-mercapto-1-oxopentil)-maitansina (también conocida como DM3). DM3 está representada por la siguiente estructura estructural:



DM3 .

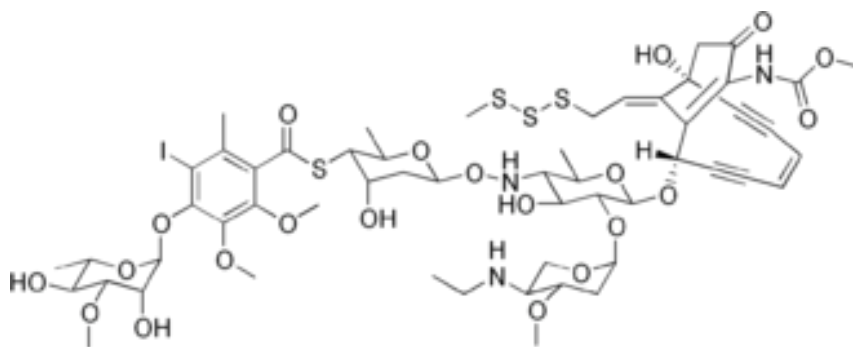
[00352] En algunas formas de realización, la fracción de droga maitansinoide es $N^{2'}$ -desacetil- $N^{2'}$ -(4-metil-4-mercapto-1-oxopentil)-maitansina (también conocida como DM4). DM4 está representada por la siguiente estructura estructural:



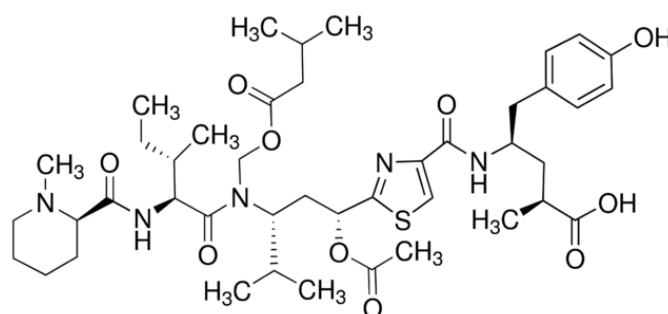
DM4 .

[00353] Preferiblemente, en los conjugados descritos en la presente que comprenden una fracción de droga maitansinoide, el maitansinoide es $N^{2'}$ -desacetil- $N^{2'}$ -(3-mercapto-1-oxopropil)-maitansina (DM1) o $N^{2'}$ -desacetil- $N^{2'}$ -(4-mercapto-4-metil-1-oxopentil)-maitansina (DM4).

[00354] La fracción de droga puede ser una calicheamicina. “Calicheamicinas” como se utiliza en la presente se refiere a una clase de antibióticos antitumorales de enediina derivados de la bacteria *Micromonospora echinospora*, siendo calicheamicina $\gamma 1$ el más notable. Se ha aislado originalmente a mediados de los 1980 a partir de suelo calcáreo o de “hoyos de caliche” localizados en Kerrville, Texas. Es extremadamente tóxico para todas las células. En concordancia, la fracción de droga puede ser Calicheamicina $\gamma 1$ ejemplificada mediante la siguiente estructura, la cual puede estar opcionalmente sustituida o derivatizada por acoplamiento a un enlazador y/o a una molécula de unión a receptor:

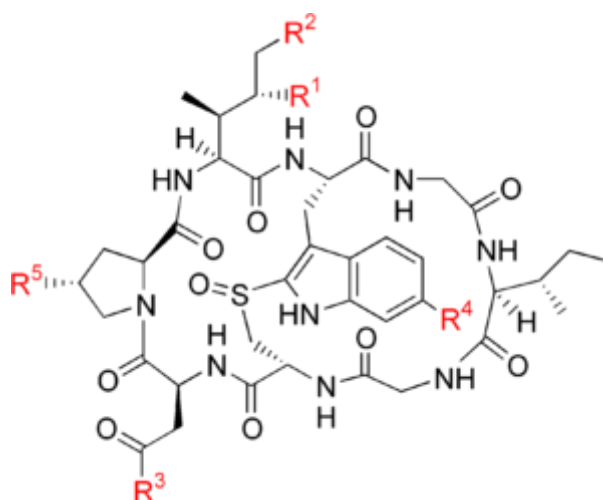


[00355] La fracción de droga puede ser una tubulicina. Las tubulinas tienen funciones como ser anti-microtúbulos, anti-mitóticas, inductores de apoptosis, anticáncer, anti-angiogénicas, y antiproliferativas. Las tubulinas son péptidos citotóxicos, los cuales incluyen 9 miembros (A-I). Preferiblemente, la tubulina es Tubulina A. La tubulina A tiene aplicación potencial como un agente anticáncer. Detiene las células en la fase G2/M. La tubulina A tiene la siguiente estructura:



[00356] La fracción de droga puede ser una amatoxina. Amatoxina es el nombre colectivo de un subgrupo de al menos ocho compuestos tóxicos relacionados que se encuentran en varios géneros de hongos venenosos, entre los que destaca el casquete mortal (*Amanita phalloides*) y varios otros miembros del género *Amanita*, así como algunas especies de hongos *Conocybe*, *Galerina* y *Lepiota*. Las amatoxinas son letales incluso en dosis pequeñas. Los compuestos tienen una estructura similar, la de ocho residuos de aminoácidos dispuestos en un motivo macrobíclico conservado (una estructura pentacíclica global si se cuentan los anillos inherentes a los residuos derivados de prolina y triptófano). Todas las amatoxinas son oligopéptidos que se sintetizan como proproteínas de 35 aminoácidos, de los cuales los ocho aminoácidos finales son escindidos por una prolil oligopeptidasa. La secuencia esquemática de aminoácidos de las amatoxinas es Ile-Trp-Gly-Ile-Gly-Cys-Asn-Pro con entrecruzamiento entre Trp y Cys vía la fracción sulfóxido (S=O) e hidroxilación en

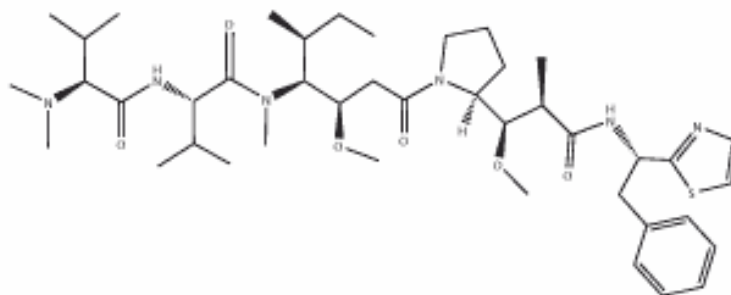
variantes de la molécula. Actualmente se conocen diez amatoxinas, que podrían ser la fracción de droga:



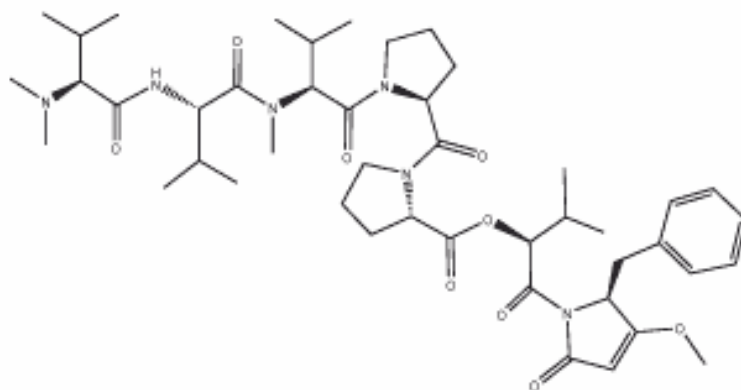
Nombre	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
α-Amanitina	OH	OH	NH ₂	OH	OH
β-Amanitina	OH	OH	OH	OH	OH
γ-Amanitina	OH	H	NH ₂	OH	OH
ε-Amanitina	OH	H	OH	OH	OH
Amanulina	H	H	NH ₂	OH	OH
Ácido Amanulinico	H	H	OH	OH	OH
Amaninamida	OH	OH	NH ₂	H	OH
Amanina	OH	OH	OH	H	OH
Proamanulina	H	H	NH ₂	OH	H

[00357] La fracción de droga puede ser una dolastatina tal como Dolastatina 10 o dolastatina 15. Ambas son productos naturales marinos aislados de la liebre de mar del Océano Índico *Dolabella auricularia*. Este potente agente antitumoral también es aislado de la cianobacteria marina *Symploca sp.* VP642 de Palau. Siendo unas moléculas peptídicas lineales pequeñas, las dolastatinas 10 y 15 son consideradas drogas anticáncer que muestran potencia contra cáncer de mama y cáncer de hígado, tumores sólidos y algunas leucemias. La investigación preclínica indicó potencia en sistemas de ensamblaje antineoplásicos y de tubulina. Las dolastatinas son inhibidores mitóticos. Inhiben el ensamble de microtúbulos interfiriendo con la formación de tubulina y de ese modo interrumpen la división celular mediante mitosis e inducen apoptosis y fosforilación Bcl-2 en varios tipos de células malignas. Dolostatina 10 (N,N-dimetil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-

metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino}propil]-1-pirrolidinil]-5-metil-1-oxo-4-heptanil]-N-metil-L -valinamida) tiene la siguiente estructura:

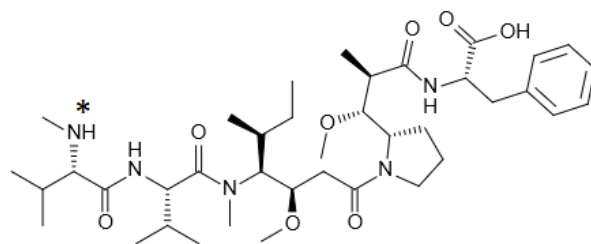


[00358] Dolastatina 15 ((2S)-1-[(2S)-2-bencil-3-metoxi-5-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il]-3-metil-1-oxo-2-butanil N,N-dimetil-L-valil-L-valil-N-metil-L-valil-L-prolil-L-prol) tiene la siguiente estructura:



[00359] En formas de realización preferidas de los conjugados, tales como por ej. conjugados de anticuerpo-droga, descritos en la presente la fracción de droga es una auristatina. Preferiblemente, la auristatina es monometil auristatina F (MMAF) o monometil auristatina E (MMAE). Más preferiblemente, la auristatina es monometil auristatina E (MMAE).

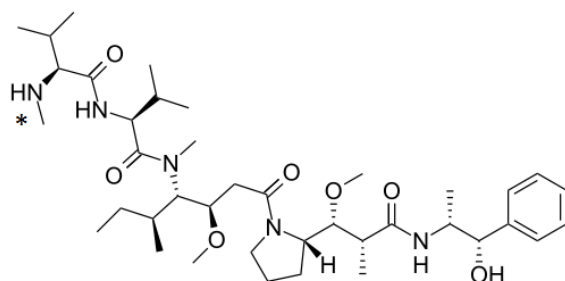
[00360] En algunas formas de realización de los conjugados de anticuerpo-droga descritos en la presente la fracción de droga es monometil auristatina F (también conocida como MMAF). MMAF está representada mediante la siguiente fórmula estructural:



MMAF.

Preferiblemente, MMAF está unida al enlazador L mediante el N terminal indicado con un asterisco (“*”).

[00361] En algunas formas de realización la fracción de droga de auristatina es monometil auristatina E (también conocida como MMAE). MMAE está representada por la siguiente fórmula estructural:

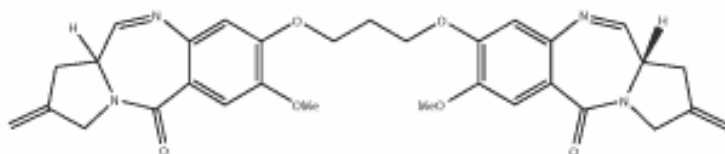


MMAE.

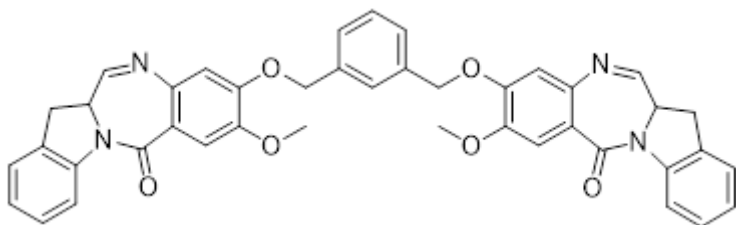
Preferiblemente, MMAE está unida al enlazador L mediante el N terminal indicado con un asterisco (“*”).

[00362] Estas moléculas inhiben de manera no competitiva la unión de vincristina a tubulina (en una ubicación conocida como la región vinca/péptido) pero se ha mostrado que se unen a una región RZX/MAY.

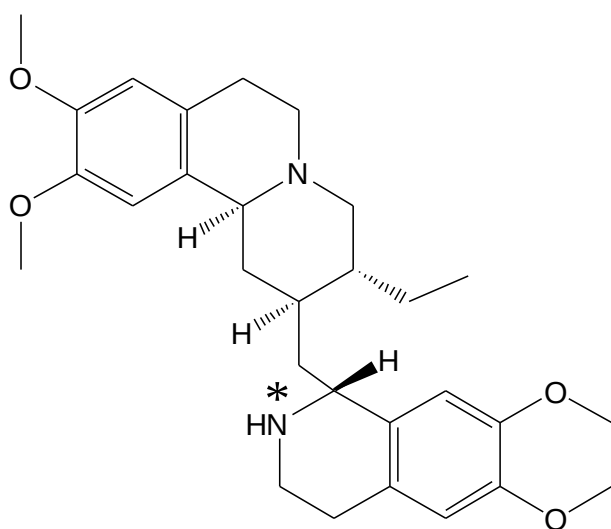
[00363] La fracción de droga puede ser Dímero de Pirrolobenzodiazepina tal como un compuesto que tiene la siguiente estructura, la que puede estar sustituida o derivatizada opcionalmente para acoplarse a un enlazador y/o una molécula de unión a receptor:



[00364] La fracción de droga puede ser un dímero de indolinobenzodiazepina tal como un compuesto que tiene la siguiente estructura:



[00365] La fracción de droga puede ser emetina. Emetina exhibe su efecto antitumoral mediante apoptosis a través de tales mecanismos como inhibición de biosíntesis de proteínas, interacción de ADN y regulación de factores pro-apoptóticos (ver, por ej., Uzor, “*Recent Developments on Potential New Applications of Emetin as Anti-Cancer Agent*”, EXCLI Journal 2016; 15:323-238, <http://dx.doi.org/10.17179/excli2016-280>). La emetina tiene la siguiente estructura:



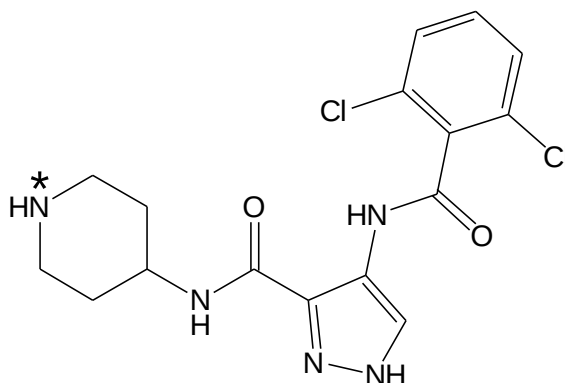
La emetina puede ser unida al enlazador L vía el átomo de nitrógeno marcado con un asterisco (“*”).

[00366] La fracción de droga puede ser un radioisótopo. Los radioisótopos típicos como se describen en la presente pueden relacionarse con una fuente pequeña de radiación, usualmente un emisor gamma o beta tal como yodo-125, yodo-131, iridio-192 o paladio-103.

[00367] La fracción de droga puede ser una proteína o péptido terapéuticos o fragmento de los mismos. Ejemplos típicos son citoquinas tales como interleuquina, ricina, toxina diftérica, exotoxina PE38 de *Pseudomonas*.

[00368] La fracción de droga puede ser un inhibidor de quinasa, preferiblemente un inhibidor de quinasa asociado con una función pro-tumorigénica. Inhibidores de quinasa a modo de ejemplo incluyen imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib, gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib, lapatinib, neratinib, sorafenib, sunitinib, pazopanib, axitinib, lenvatinib, cabozatinib, vandetanib, regorafenib, vemurafenib, dabrafenib, trametinib, cobimetinib, crizotinib, certinib, alectinib, brigatinib, lorlatinib, ibrutinib, acalibrutinib, midostaurin, ruxolitinib, idelalisib, copanlisib, palbociclib, ribociclib o abemaciclib.

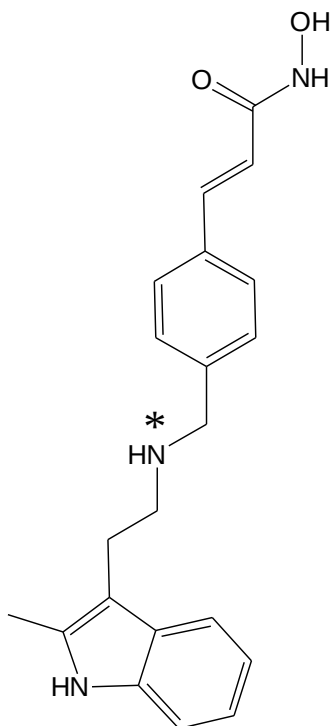
[00369] La fracción de droga puede ser un inhibidor de CDK (quinasa dependiente de ciclina). Un “inhibidor de CDK” como se utiliza en la presente indica cualquier agente químico o droga que inhibe la función de CDK (quinasa dependiente de ciclina). Un inhibidor de CDK el cual puede ser utilizado como fracción de droga en la presente descripción es AT7519 (ver, por ej., Santo et al., AT7519, “*A novel small molecule multi-cyclin-dependent kinase inhibitor, induces apoptosis in multiple myeloma via GSK-3beta activation y RNA polymerase II inhibition*”, *Oncogene* (2010) 29, 2325-2336, doi: 10.1038/onc.2009.510). AT7519 tiene la siguiente estructura:



AT7519 puede ser unido al enlazador L vía el átomo de nitrógeno marcado con un asterisco (“*”).

[00370] La fracción de droga puede ser un inhibidor de histona desacetilasa (HDAC). Los inhibidores de histona desacetilasa son compuestos químicos que inhiben histona desacetilasas (HDAC). Un inhibidor de histona desacetilasa que puede ser utilizado como

fracción de droga en la presente descripción es panobinostat (ver, por ej., Rasmussen et al., *“Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent-virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: a phase 1/2, single groups, clinical trial”*, Lancet HIV 2014, 1:e13-21, [http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018\(14\)70014-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3018(14)70014-1)). Panobinostat tiene la siguiente estructura:

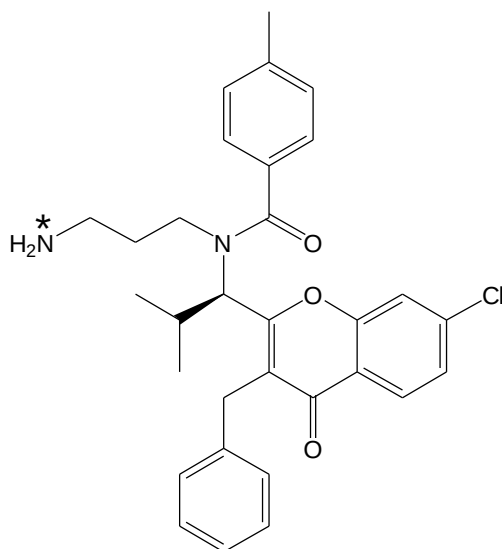


AT7519 puede ser unido al enlazador L vía el átomo de nitrógeno marcado con un asterisco (“*”).

[00371] La fracción de droga puede ser un inhibidor de MEK. Un inhibidor de MEK como se utiliza en la presente describe un agente químico o droga que inhibe las enzimas quinasa de proteína activada por mitógeno MEK1 y/o MEK2. Pueden ser utilizados para afectar la vía MAPK/ERK la cual es a menudo sobreactiva en algunos cánceres. Por lo tanto, los inhibidores de MEK tienen potencial para el tratamiento de algunos cánceres, especialmente melanoma de BRAF-mutado, y cáncer colorrectal mutado KRAS/BRAF. Inhibidores de MEK típicos incluyen Trametinib (GSK1120212), Cobimetinib o XL518, Binimetinib (MEK162), Selumetinib, PD-325901, CI-1040, PD035901, o TAK-733.

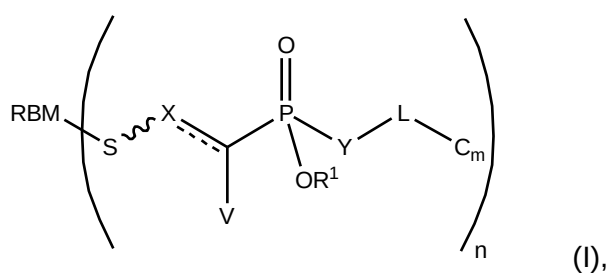
[00372] La fracción de droga puede ser un inhibidor de KSP (proteína del huso de cinesina). Ejemplos de inhibidores de KSP incluyen Ispinesib (SB-715992), SB743921, AZ 3146, GSK923295, BAY 1217389, MPI-0479605 y ARQ 621. En algunas formas de

realización, se puede utilizar SB743921 como fracción de droga en la presente descripción (ver, por ej., Song et al., “*KSP inhibitor SB743921 induces death of multiple myeloma cells via inhibition of the NF- κ B signaling pathway*”, BMB Reports 2015, 48(10): 571-576, <http://dx.doi.org/10.5483/BMBRep.2015.48.10.015>). SB743921 tiene la siguiente estructura:



SB743921 puede ser unido al enlazador L vía el átomo de nitrógeno marcado con un asterisco (“*”).

[00373] La presente invención también se relaciona con un conjugado que tiene la fórmula (I):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

RBM es un anticuerpo;



es un doble enlace; o



es un enlace;

V está ausente cuando es un doble enlace; o

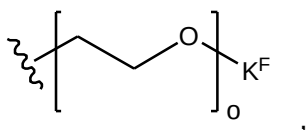
V es H cuando es un enlace;

X es R_3-C cuando es un doble enlace; o

X es $R_3-\overset{R_4}{\underset{|}{C}}$ cuando es un enlace;

Y es NH;

R^1 es una unidad de polietilenglicol que tiene la estructura:



en donde:



indica la posición del O;

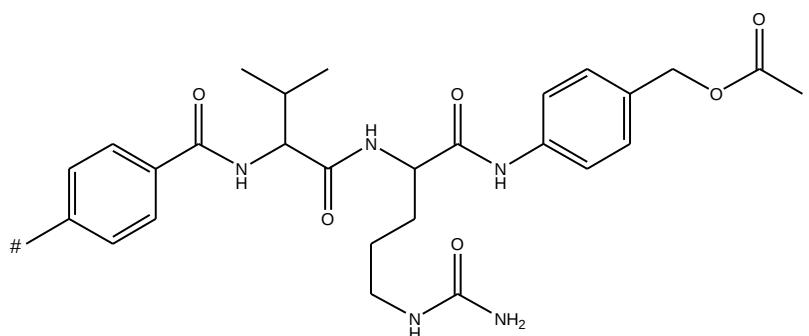
K^F es como se define en la presente; preferiblemente K^F es H; y

$\underline{0}$ es un entero como se define en la presente;
preferiblemente $\underline{0}$ es un entero en el rango de 8 a 30;
más preferiblemente, $\underline{0}$ es un entero en el rango desde 4 a 16, aún más preferiblemente de 8 a 16, aún más preferiblemente $\underline{0}$ es 10, 11, 12, 13 o 14; aún más preferiblemente $\underline{0}$ es 11, 12 o 13; aún más preferiblemente $\underline{0}$ es 12; o más preferiblemente $\underline{0}$ es un entero en el rango desde 16 a 30; aún más preferiblemente de 20 a 28; aún más preferiblemente, $\underline{0}$ es 22, 23, 24, 25 o 26; aún más preferiblemente, $\underline{0}$ es 23, 24 o 25; incluso más preferiblemente $\underline{0}$ es 24;

R^3 es H;

R^4 es H;

L es un enlazador que tiene la siguiente estructura:



en donde # indica el punto de unión a Y y * indica el punto de unión a la fracción de droga (D);

D es un resto de droga;

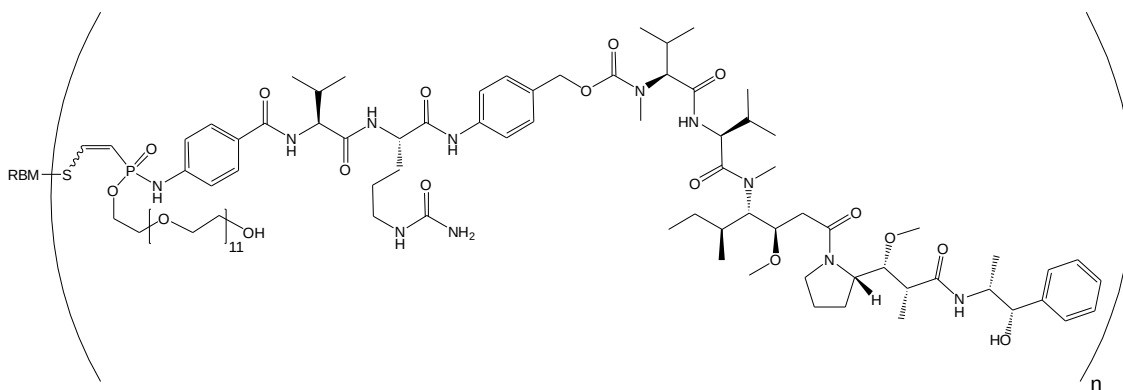
m es 1; y

n es un entero como se define en la presente;
preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 10; más preferiblemente de 2 a 10; aún más preferiblemente de 4 a 10; aún más preferiblemente de 6 a 10, aún más preferiblemente de 7 a 10, incluso más preferiblemente n es 8; o
preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 10, más preferiblemente de 2 a 8, aún más preferiblemente de 3 a 6, aún más preferiblemente n es 4 o 5, incluso más preferiblemente n es 4.

Preferiblemente, la fracción de droga D es monometil auristatina E (MMAE) o monometil auristatina F (MMAF).

Más preferiblemente, la fracción de droga D es monometil auristatina E (MMAE).

[00374] La presente invención también se relaciona con un conjugado que tiene la siguiente fórmula (Ia):



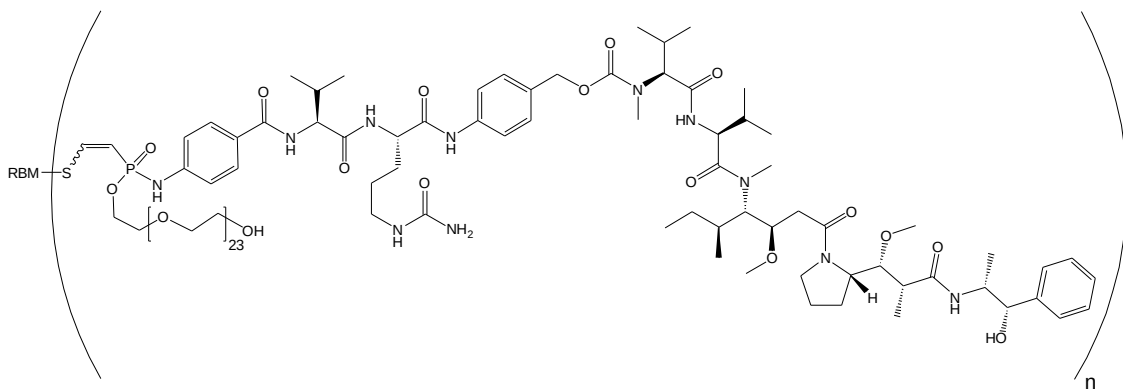
(Ia) ,

en donde:

RBM es un anticuerpo; y

n es un entero como se define en la presente;
preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 10; más preferiblemente de 2 a 10; aún más preferiblemente de 4 a 10; aún más preferiblemente de 6 a 10, aún más preferiblemente de 7 a 10, incluso más preferiblemente n es 8; o preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 10, más preferiblemente de 2 a 8, aún más preferiblemente de 3 a 6, aún más preferiblemente n es 4 o 5, incluso más preferiblemente n es 4.

[00375] La presente invención también se relaciona con un conjugado que tiene la siguiente fórmula (Ib):



(Ib) ,

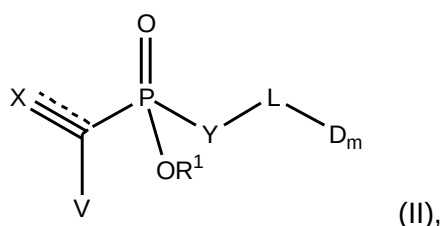
en donde:

RBM es un anticuerpo; y

n es un entero como se define en la presente; preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 10; más preferiblemente de 2 a 10; aún más preferiblemente de 4 a 10; aún más preferiblemente de 6 a 10, aún más preferiblemente de 7 a 10, incluso más preferiblemente n es 8; o
preferiblemente n es un entero en el rango de 1 a 10, más preferiblemente de 2 a 8, aún más preferiblemente de 3 a 6, aún más preferiblemente n es 4 o 5, incluso más preferiblemente n es 4.

Compuesto de la Fórmula (II)

[00376] La presente invención también se relaciona con un compuesto que tiene la fórmula (II):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo,

en donde:



es un triple enlace; o



es un doble enlace;

V está ausente cuando es un triple enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un doble enlace;

X es R₃-C cuando es un triple enlace; o

X es $\begin{array}{c} \text{R}_4 \\ | \\ \text{R}_3-\text{C} \end{array}$ cuando es un doble enlace;

- Y es NR^5 , S, O, o CR^6R^7 ;
- R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;
- R^3 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^4 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^5 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^6 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R^7 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción de droga; y
- m es un entero en el rango de 1 a 10.

[00377] Preferiblemente R^3 es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^3 es H. Preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^5 , cuando está presente es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^5 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^6 , cuando está presente es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^6 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^7 , cuando está presente es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^7 , cuando está presente, es H.

[00378] Preferiblemente,  es un triple enlace; V está ausente; X es $\text{R}_3\text{-C}$; y R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$); más preferiblemente R^3 es H.

[00379] Más preferiblemente,  representa un triple enlace; V está ausente; X representa $\text{R}_3\text{-C}$, y R_3 representa H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$). Preferiblemente, R_3 representa H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), más preferiblemente H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$), aún más preferiblemente H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_2$). Incluso más preferiblemente, R_3 es H.

[00380] En algunas formas de realización,  puede ser un doble enlace; V es H o

alquilo (C₁-C₈), preferiblemente V es H; X es $\text{R}_3-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}$; R₃ es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; más preferiblemente R³ es H o alquilo (C₁-C₈), más preferiblemente R³ es H; R⁴ es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente, R⁴ es H o alquilo (C₁-C₈), preferiblemente R⁴ es H.

[00381] En algunas formas de realización,  puede representar un doble enlace; V

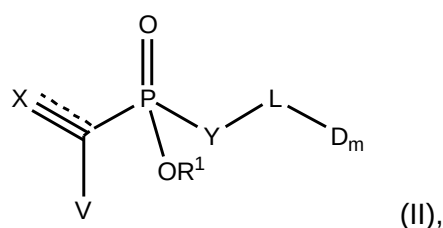
puede ser H o alquilo (C₁-C₈); X puede representar $\text{R}_3-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}$; y R₃ y R₄ pueden representar independientemente H o alquilo (C₁-C₈). Preferiblemente, R₃ y R₄ representan independientemente H o alquilo (C₁-C₆), más preferiblemente H o alquilo (C₁-C₄), aún más preferiblemente H o alquilo (C₁-C₂). Preferiblemente, R₃ y R₄ son iguales; incluso más preferiblemente, R₃, R₄ y V son iguales. Más preferiblemente, R₃ y R₄ son ambos H. Preferiblemente, V es H o alquilo (C₁-C₆), más preferiblemente H o alquilo (C₁-C₄), aún más preferiblemente H o alquilo (C₁-C₂). Aún más preferiblemente, V es H. En formas de realización preferidas, R₃, R₄ y V son cada uno H.

[00382] En una cualquiera de los compuestos de la fórmula (II), cualquier variable puede estar definida como se describe en la presente, en particular respecto de los conjugados de la fórmula (I) y/o la molécula que contiene tioles de la fórmula (III). En concordancia, RBM, , V, X, Y, R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, L, C, m y n pueden ser como se define en la presente. Preferiblemente, Y es NH.

Método de Preparación de un Conjugado de la Fórmula (I)

[00383] La presente invención también se relaciona con un método de preparación de un conjugado de la fórmula (I), comprendiendo dicho método:

hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo,

en donde:



es un triple enlace; o



es un doble enlace;

V está ausente cuando es un triple enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un doble enlace;

X es R₃-C cuando es un triple enlace; o

X es $\begin{array}{c} R_4 \\ | \\ R_3-C \end{array}$ cuando es un doble enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

R¹ es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;

R³ es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁴ es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁵ es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁶ es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

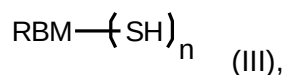
R⁷ es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

L es un enlazador;

D es una fracción de droga; y

m es un entero en el rango de 1 a 10;

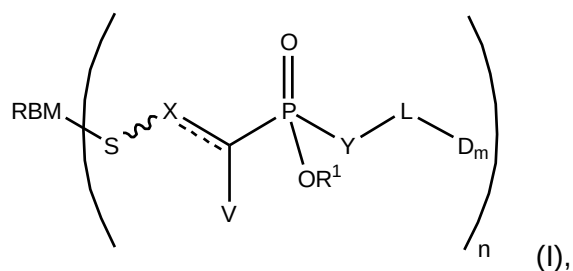
con una molécula que contiene tioles de la fórmula (III)



en donde RBM es una molécula de unión a receptor; y

n es un entero en el rango de 1 a 20;

dando como resultado un compuesto de la fórmula (I)



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

es un doble enlace cuando en un compuesto de la fórmula (II) es un triple enlace;

o

es un enlace cuando en un compuesto de la fórmula (II) es un doble enlace;

V está ausente cuando es un doble enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un enlace;

X es R₃-C cuando es un doble enlace; o

X es $\begin{matrix} \text{R}_4 \\ | \\ \text{R}_3-\text{C} \end{matrix}$ cuando es un enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

R¹ es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;

R^3 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^4 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^5 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^6 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^7 es H; o es un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; L es un enlazador;
D es una fracción de droga;
m es un entero en el rango de 1 a 10; y
n es un entero en el rango de 1 a 20.

[00384] Preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H. Preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^5 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^5 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^6 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^6 , cuando está presente, es H. Preferiblemente R^7 , cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^7 , cuando está presente, es H.

[00385] Preferiblemente,  es un triple enlace; V está ausente; X es R_3-C ; y R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H; y  representa un doble enlace.

[00386] Más preferiblemente,  representa un triple enlace; V está ausente; X representa R_3-C , R_3 representa H o alquilo (C_1-C_8); y  representa un doble enlace. Preferiblemente, R_3 representa H o alquilo (C_1-C_6), más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_4), aún más preferiblemente H o alquilo (C_1-C_2). Incluso más preferiblemente, R_3 es H.

[00387] En algunas formas de realización,  puede ser un doble enlace; V es H o

alquilo (C₁-C₈), preferiblemente V es H; X es ; R₃ es H o un residuo alifático

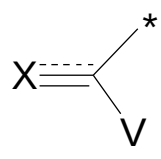
opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; y  puede representar un enlace; más preferiblemente R³ es H o alquilo (C₁-C₈), más preferiblemente R³ es H; R⁴ es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente, R⁴ es H o alquilo (C₁-C₈), preferiblemente R⁴ es H.

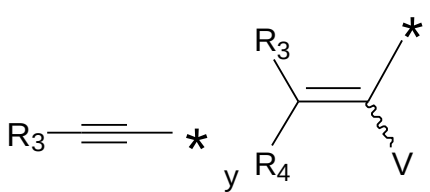
[00388] En algunas formas de realización,  puede representar un doble enlace; V

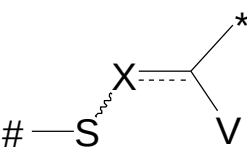
puede ser H o alquilo (C₁-C₈); X puede representar ; R₃ y R₄ pueden

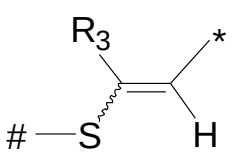
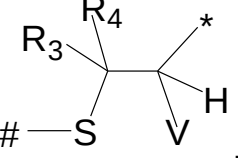
independientemente representar H o alquilo (C₁-C₈); y  puede representar un enlace. Preferiblemente, R₃ y R₄ representan independientemente H o alquilo C₁-C₆, más preferiblemente H o alquilo C₁-C₄, aún más preferiblemente H o alquilo C₁-C₂. Preferiblemente, R₃ y R₄ son iguales; aún más preferiblemente, R₃, R₄ y V son iguales. Más preferiblemente, R₃ y R₄ son ambos H. Preferiblemente, V es H o alquilo C₁-C₆, más preferiblemente H o alquilo C₁-C₄, aún más preferiblemente H o alquilo C₁-C₂. Incluso más preferiblemente, V es H. En formas de realización preferidas, R₃, R₄ y V son cada uno H.

[00389] En relación con las representaciones  y  utilizadas en la presente, se destaca que, como es comúnmente conocido para una persona experta en el arte, cada átomo

de carbono es tetravalente. En concordancia, una estructura , en donde X y V son como se define en la presente y el asterisco (*) indica la unión al fósforo, incluye las

estructuras , en donde R₃, R₄ y V son como se define en la

presente. Una estructura , en donde X y V son como se define en la presente, el asterisco (*) indica la unión al fósforo y # indica la unión a la molécula de unión a

receptor (RBM), incluye las estructuras  y , en donde R₃, R₄ y V son como se define en la presente, y H es hidrógeno. Un enlace ondulado indica que la configuración del doble enlace puede ser E o Z. También es posible que el compuesto esté presente como una mezcla de los isómeros E y Z.

[00390] Cuando la molécula de unión a receptor comprende uno o más puentes disulfuro, tal como por ej. un anticuerpo, el método puede comprender además reducir al menos un puente disulfuro de la molécula de unión a receptor en presencia de un agente reductor para formar un grupo tiol (SH). El compuesto resultante de la fórmula (III) puede luego hacerse reaccionar con un compuesto de la fórmula (II) para brindar un conjugado de la fórmula (I). El agente reductor puede estar seleccionado del grupo que consiste en tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), ditionito de sodio, tiosulfato de sodio, y sulfito de sodio. En concordancia, el agente reductor puede ser ditionito de sodio. El agente reductor puede ser sulfito de sodio. Preferiblemente, el agente reductor es tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP).

[00391] Preferiblemente, la reducción de al menos un puente disulfuro comprende utilizar aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, más preferiblemente aproximadamente 1 equivalente del agente reductor por cada 1 puente disulfuro a ser reducido. En este contexto, se destaca que en teoría 1 eq. del agente reductor, en particular de un agente reductor como se describe en la presente, es necesario para reducir 1 puente disulfuro para brindar 2 grupos tiol (SH).

[00392] Preferiblemente, la molécula que contiene tioles de la fórmula (III) se hace reaccionar con aproximadamente 1 a aproximadamente 4 equivalentes, preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, más preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, aún más preferiblemente aproximadamente 1,5 equivalentes del compuesto de la fórmula (II) por cada grupo tiol (SH).

[00393] Preferiblemente, la reacción de un compuesto de la fórmula (II) con una molécula que contiene tioles de la fórmula (III) es llevada a cabo en un medio acuoso.

[00394] Preferiblemente, la reacción del compuesto de la fórmula (II) con la molécula que contiene tioles de la fórmula (III) es llevada a cabo a pH neutro o condiciones levemente básicas. Aún más preferiblemente la reacción se lleva a cabo a un pH de 6 a 10. Aún más preferiblemente la reacción se realiza a un pH de 7 a 9.

[00395] En uno cualquiera de los métodos, cualquier variable puede estar definida como se describe en la presente, en particular respecto de los conjugados de la fórmula (I)

y/o el compuesto de la fórmula (II). En concordancia, RBM, , , V, X, Y, R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, L, D, m y n pueden ser como se define en la presente. Preferiblemente, Y es NH.

[00396] Los métodos de preparación de los compuestos de la fórmula (II) son conocidos en el arte. Como ejemplos ilustrativos, los compuestos de la fórmula (II) en donde el grupo Y es NH pueden ser preparados utilizando técnicas y condiciones, por ej. una reacción con fosfonita de Staudinger, según lo descrito en la WO 2018/041985 A1, que está incorporada de este modo a la presente como referencia. Los compuestos de la fórmula (II), en donde Y es S o O, pueden ser preparados utilizando técnicas y condiciones como se describe por ej. en la WO 2019/170710, que está de este modo incorporada a la presente como referencia. De manera análoga a los compuestos de la fórmula (I), en donde Y es S u O, como se describe en la WO 2019/170710, los compuestos de la fórmula (II), en donde Y es CR⁶R⁷, puede prepararse, como ejemplos ilustrativos, mediante sustitución en el átomo de fósforo utilizando, por ej. un compuesto organometálico adecuado, tal como por ej. un compuesto de Grignard o un compuesto de organolitio. Una persona experta en el arte selecciona fácilmente métodos y condiciones adecuados para preparar compuestos de la fórmula (II). La sección de ejemplos de la presente descripción también comprende una guía de cómo preparar u obtener los compuestos de la fórmula (II) y/o los conjugados de la fórmula (I).

[00397] La presente invención también se relaciona con un conjugado de la fórmula (I) obtenible u obtenido mediante cualquier método de preparación de un conjugado de la fórmula (I) como se describe en la presente.

Composición Farmacéutica

[00398] La presente invención se relaciona además con una composición farmacéutica que comprende un conjugado de la fórmula (I).

[00399] La composición farmacéutica puede comprender una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde más de 0 a aproximadamente 14, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 14, más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 14, aún más preferiblemente de aproximadamente 4 a aproximadamente 14, aún más preferiblemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 12, aún más preferiblemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 12, aún más preferiblemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 10, incluso más preferiblemente aproximadamente 8. En concordancia, la composición farmacéutica puede comprender una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde más de 0 a aproximadamente 14. Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde aproximadamente 1 a aproximadamente 14. Más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde aproximadamente 2 a aproximadamente 14. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde aproximadamente 4 a aproximadamente 14. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde aproximadamente 5 a aproximadamente 12. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde aproximadamente 6 a aproximadamente 12. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde aproximadamente 6 a aproximadamente 10. Incluso más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es aproximadamente 8. Cuando la molécula de unión a receptor es, en algunas formas de realización preferidas, un

anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, dicho número promedio también está indicado como “proporción promedio de droga a anticuerpo (DARprom, por sus siglas en inglés)”. En este contexto, una persona experta en el arte entiende que una composición puede comprender una población de conjugados, que puede diferir en el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor, y que puede también comprender opcionalmente una molécula de unión a receptor no conjugada, de modo que el resultado es un número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor.

[00400] La composición farmacéutica puede comprender una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga por molécula de unión a receptor es desde más de 0 a aproximadamente 14, preferiblemente desde aproximadamente 1 a aproximadamente 14, más preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 12, aún más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 10, aún más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 8, aún más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 6, aún más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 5, incluso más preferiblemente aproximadamente 4. En concordancia, la composición farmacéutica puede comprender una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde más de 0 a aproximadamente 14. Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde aproximadamente 1 a aproximadamente 14. Más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde aproximadamente 1 a aproximadamente 12. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde aproximadamente 2 a aproximadamente 10. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde aproximadamente 2 a aproximadamente 8. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde aproximadamente 2 a aproximadamente 6. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde

aproximadamente 3 a aproximadamente 5. Aún más preferiblemente, la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de la fórmula (I), en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es aproximadamente 4. Cuando la molécula de unión a receptor es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, dicho número promedio también está indicado como “proporción promedio de droga a anticuerpo (DARprom)”.

[00401] La composición farmacéutica puede comprender además uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. En una forma de realización específica, el término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia regulatoria u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales y más particularmente en seres humanos. Los portadores farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en el arte e incluyen, por ejemplo, soluciones acuosas tales como agua, dextrosa 5%, o solución salina fisiológicamente tamponada u otros solventes o vehículos tales como glicoles, glicerol, aceites tal como aceite de oliva, o ésteres orgánicos inyectables que son adecuados para administración a un ser humano o sujeto no humano. Los portadores farmacéuticamente aceptable particulares a modo de ejemplo incluyen liposomas (biodegradables); microesferas hechas de polímero biodegradables poli(ácido D,L-láctico-ácido glicólico) (PLGA); microesferas de albúmina; polímeros sintéticos (solubles); nanofibras; complejos proteína-ADN, conjugados proteicos; eritrocitos o virosomas. Diversas formas de dosificación basadas en portadores comprenden nanopartículas lipídicas sólidas (SLN, por sus siglas en inglés), nanopartículas poliméricas, nanopartículas cerámicas, nanopartículas de hidrogel, nanopartículas peptídicas copolimerizadas, nanocristales y nanosuspensiones, nanocristales, nanotubos y nanoalambres, nanoportadores funcionalizados, nanoesferas, nanocápsulas, liposomas, emulsiones lipídicas, microtúbulos/microcilindros lipídicos, microburbujas lipídicas, lipoesferas, lipopoliplexos, micelas lipídicas inversas, dendrímeros, etosomas, cápsulas ultrafinas multicompuestos, acuasomas, farmacosomas, coloidosomas, niosomas, discomas, proniosomas, microesferas, microemulsiones y micelas poliméricas. Otros portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables están descritos *inter alia* en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed., Mack Publishing Co., Nueva Jersey (1991) y Bauer et al., Pharmazeutische Technologie, 5ª Ed., Govi-Verlag Frankfurt (1997). Ver, por ej. Remington: The Science y Practice of Pharmacy, 21ª edición; Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

[00402] En algunas formas de realización, un portador o composición farmacéuticamente aceptables son estériles. Una composición farmacéutica puede comprender, además del agente activo, compuestos fisiológicamente aceptables que actúan,

por ejemplo, como agentes de volumen, rellenos, solubilizantes, estabilizantes, agentes osmóticos, potenciadores de la captación, etc. Los compuestos fisiológicamente aceptables incluyen, por ejemplo hidratos de carbono tales como glucosa, sacarosa, lactosa; dextranos; polioles tal como manitol; antioxidantes tales como ácido ascórbico o glutatión; conservantes; agentes quelantes; buffers; u otros estabilizantes o excipientes.

[00403] La elección del(de los) portador(es) farmacéuticamente aceptable(s) y/o compuesto(s) fisiológicamente aceptable(s) puede depender por ejemplo de la naturaleza del agente activo, por ej. solubilidad, compatibilidad (lo que significa que las sustancias pueden estar presentes en conjunto en la composición sin interactuar de una manera que reduciría sustancialmente la eficacia farmacéutica de la composición farmacéutica en situaciones de uso normales) y/o vía de administración de la composición.

[00404] Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz del Conjugado de la Fórmula (I) descrito en la presente y pueden estar estructuradas en varias formas, por ej. en forma sólida, líquida, gaseosa o liofilizada y pueden estar, entre otras, en forma de un ungüento, una crema, parches transdérmicos, un gel, polvo, un comprimido, solución, aerosol, gránulos, píldoras, suspensiones, emulsiones, cápsulas, jarabes, líquidos, elixires, extractos, tinturas o extractos fluidos o en una forma que sea particularmente adecuada para administración tópica u oral. Son aplicables una variedad de vías de administración del Conjugado de la Fórmula (I), incluyendo pero no limitadas a, oral, tópica, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular o intraocular. Sin embargo, la persona experta en el arte, si lo desea, puede elegir fácilmente cualquier otra ruta.

Uso en Métodos de Tratamiento

[00405] Como se muestra en los ejemplos, los conjugados de la fórmula (I) de la presente invención pueden utilizarse para tratamientos, en particular el tratamiento del cáncer. En concordancia, la presente invención se relaciona además con un conjugado de la fórmula (I) de la invención para uso en un método de tratamiento de una enfermedad, opcionalmente que comprende la administración de una cantidad eficaz del conjugado de la invención o la composición farmacéutica de la invención a un sujeto o paciente que lo necesita. También, la presente invención se relaciona con una composición farmacéutica de la invención para uso en un método de tratamiento de una enfermedad, opcionalmente que comprende la administración de una cantidad eficaz del conjugado de la invención o la composición farmacéutica de la invención a un sujeto o paciente que lo necesita. La enfermedad puede

estar asociada con la sobreexpresión de CD30. La enfermedad puede estar asociada con la sobreexpresión de Her2. La enfermedad puede ser cáncer. El cáncer puede ser un tumor sólido. La enfermedad puede ser un cáncer asociado con la sobreexpresión de CD30. La enfermedad puede ser un cáncer asociado con la sobreexpresión de Her2.

[00406] La presente invención también se relaciona con el uso de un conjugado de la fórmula (I) de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad. La presente invención también se relaciona con el uso de una composición farmacéutica de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad. La enfermedad puede estar asociada con la sobreexpresión de CD30. La enfermedad puede estar asociada con la sobreexpresión de Her2. La enfermedad puede ser cáncer. El cáncer puede ser un tumor sólido. La enfermedad puede ser un cáncer asociado con la sobreexpresión de CD30. La enfermedad puede ser un cáncer asociado con la sobreexpresión de Her2.

[00407] La presente invención también se relaciona con un método para tratar una enfermedad, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un conjugado de la fórmula (I) de la invención a un sujeto o paciente que lo necesita. La presente invención también se relaciona con un método para tratar una enfermedad, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de la invención a un sujeto o paciente que lo necesita. La enfermedad puede estar asociada con la sobreexpresión de CD30. La enfermedad puede estar asociada con la sobreexpresión de Her2. La enfermedad puede ser cáncer. El cáncer puede ser un tumor sólido. La enfermedad puede ser un cáncer asociado con la sobreexpresión de CD30. La enfermedad puede ser un cáncer asociado con la sobreexpresión de Her2.

[00408] La frase “cantidad eficaz” se refiere en general a una cantidad de un agente terapéutico (por ej. el conjugado de la invención) que, cuando se utiliza solo o en combinación con otro agente terapéutico, protege a un sujeto contra el comienzo de una enfermedad o promueve la regresión de la enfermedad evidenciada por una disminución en la gravedad de los síntomas de la enfermedad, un aumento en la frecuencia y duración de períodos libre de síntomas de la enfermedad, o la prevención de deterioro o discapacidad debido a la aflicción de la enfermedad. La capacidad de un agente terapéutico de promover la regresión de la enfermedad puede evaluarse utilizando una variedad de métodos conocidos para el practicante experto, tal como en sujetos humanos durante ensayos clínicos, en sistemas de modelos animales predictivos de la eficacia en seres humanos, o ensayando la actividad del

agente en ensayos *in vitro*. La cantidad exacta dependerá del propósito del tratamiento, y será discernible para un experto en el arte utilizando técnicas conocidas (ver, por ejemplo, Lloyd (1999) *The Art, Science y Technology of Pharmaceutical Compounding*).

[00409] Además, la presente invención se relaciona con un conjugado de la fórmula (I) como se describe en la presente para uso en un método de tratamiento de cáncer en un paciente. La presente invención también se relaciona con una composición farmacéutica como se describe en la presente para uso en un método de tratamiento de cáncer en un paciente. El término "paciente" significa de acuerdo con la invención un ser humano, un primate no humano u otro animal, en particular un mamífero tal como una vaca, caballo, cerdo, oveja, cabra, perro, gato o un roedor tal como un ratón y rata. En formas de realización particularmente preferidas, el paciente es un ser humano. Excepto cuando se indique, los términos "paciente" o "sujeto" se utilizan indistintamente. El término "tratamiento" en todas sus formas gramaticales incluye tratamiento terapéutico o profiláctico. Un "tratamiento terapéutico o profiláctico" comprende tratamientos profilácticos destinados a la prevención completa de manifestaciones clínicas y/o patológicas o un tratamiento terapéutico destinado a mejorar o remitir manifestaciones clínicas y/o patológicas. El término "tratamiento" incluye así también la mejora o prevención de enfermedades.

[00410] El término "cáncer", como se utiliza en la presente, puede indicar cualquier cáncer, por ej. dicho cáncer está seleccionado del grupo que consiste en: Cáncer en Adolescentes, Carcinoma adrenocortical, Cáncer anal, Astrocitomas, Tumor Teratoide/Rhabdoide Atípico, Carcinoma de células basales, Cáncer del conducto biliar, Cáncer de vejiga, Cáncer óseo, Tumores cerebrales, Cáncer de mama, Tumores bronquiales, Cáncer cervical, Cordoma, Neoplasmas mieloproliferativos crónicos, Cáncer colorrectal, Craneofaringioma, Tumores embrionales, Meduloblastoma y otros del sistema nervioso central, Niñez (Cáncer cerebral), Cáncer de endometrio (Cáncer uterino), Ependimoma, Niñez (Cáncer cerebral), Cáncer esofágico, Estesioneuroblastoma (Cáncer de cabeza y cuello), Sarcoma de Ewing (Cáncer óseo), Tumor de células germinales extracraneales, Niñez, Tumor de células germinales extragonadales, Cáncer de las trompas de Falopio, Cáncer de glándulas salivares, Cáncer gástrico (Estómago), Tumor carcinoide Gastrointestinal, Tumores estromales gastrointestinales (GIST, por sus siglas en inglés), Enfermedad trofoblástica gestacional, Cáncer de cabeza y cuello, Tumores cardíacos, Cáncer hepatocelular (Hígado), Histiocitosis, células de Langerhans, Cáncer hipofaríngeo (Cáncer de cabeza y cuello), Melanoma Intraocular, Tumores de las células isletas, Tumores pancreáticos neuroendocrinos, Sarcoma de Kaposi (Sarcoma de tejido blando), Cáncer de riñón (Cáncer

renal), Histiocitosis de células de Langerhans, Cáncer laríngeo (Cáncer de cabeza y cuello), Cáncer de labios y cavidad oral (Cáncer de cabeza y cuello), Cáncer de hígado, Cáncer de pulmón, Cáncer de mama masculino, Melanoma, Melanoma, Intraocular (Ojo), Carcinoma de células de Merkel (Cáncer de piel), Mesotelioma, Maligno, Cáncer de boca (Cáncer de cabeza y cuello), Síndromes de neoplasias endocrinas múltiples, Cáncer de la cavidad nasal y seno paranasal (Cáncer de cabeza y cuello), Cáncer nasofaríngeo (Cáncer de cabeza y cuello), Neuroblastoma, Cáncer de pulmón de células no pequeñas, Cáncer Oral, Cáncer de labios y cavidad oral y Cáncer orofaríngeo (Cáncer de cabeza y cuello), Osteosarcoma, Cáncer de ovario, Cáncer pancreático, Papilomatosis (Laríngeo de niñez), Paraganglioma, Cáncer de senos paranasales y cavidad nasal (Cáncer de cabeza y cuello), Cáncer de paratiroides, Cáncer de pene, Cáncer faríngeo (Cáncer de cabeza y cuello), Feocromocitoma, Tumor pituitario, Blastoma Pleuropulmonar (Cáncer de pulmón), Linfoma del Sistema nervioso central primario (CNS, por sus siglas en inglés), Cáncer peritoneal primario, Cáncer de próstata, Tumor miofibroblástico inflamatorio pulmonar (Cáncer de pulmón), Cáncer Rectal, Cáncer de célula renales (Riñón), Retinoblastoma, Rhabdomyosarcoma, Niñez (Sarcoma de tejido blando), Cáncer de glándulas salivares (Cáncer de cabeza y cuello), Cáncer de piel, Cáncer de células pequeñas de pulmón, Cáncer del intestino delgado, Sarcoma de tejido blando, Carcinoma de células escamosas de la piel – ver Cáncer de piel, Cáncer de cuello escamoso con primario oculto, Metastásico (Cáncer de cabeza y cuello), Cáncer de estómago (gástrico), Cáncer testicular, Timoma y Carcinoma tímico, Cáncer de tiroides, Tumores traqueobronquiales (Cáncer de pulmón), Cáncer de células transicionales de la pelvis renal y uréter (Cáncer de riñón (Células renales)), Uréter y pelvis renal, Cáncer de células transicionales (Cáncer de riñón (Células renales)), Cáncer de uretra, Cáncer uterino, Sarcoma uterino de endometrio, Cáncer vaginal, Tumores Vasculares (Sarcoma de tejido blando), Cáncer Vulvar, y Tumor de Wilms y otros tumores renales de la niñez. Dicho cáncer puede ser seleccionado también por ej. del grupo que consiste en linfoma, tal como linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés), linfoma de no Hodgkin (NHL, por sus siglas en inglés), linfoma de células grandes anaplásicas (ALCL, por sus siglas en inglés), linfoma de células B grandes, linfoma pediátrico, linfoma de células T y linfoma de células T asociado a enteropatías (EATL, por sus siglas en inglés), leucemia, tal como leucemia mieloide aguda (AML, por sus siglas en inglés), leucemia linfoblástica aguda (ALL, por sus siglas en inglés) y leucemia de mastocitos, cáncer de células germinales, enfermedad injerto-versus-huésped (GvHD, por sus siglas en inglés) y lupus, en particular lupus sistémico eritematoso (SLE, por sus siglas en inglés), preferiblemente Linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés) o linfoma de células grandes anaplásicas (ALCL, por sus siglas en inglés). El cáncer puede ser seleccionado del grupo que consiste en linfoma de células T periféricas – no especificado de

otro modo (PTCL-NOS, por sus siglas en inglés), Linfoma de células T angioinmunoblástico (AITL, por sus siglas en inglés), linfoma de células T asociado a enteropatías (EATL por sus siglas en inglés), leucemia/linfoma de células T en adultos (ATLL, por sus siglas en inglés), linfoma de células asesinas naturales/células T extranodales (ENKTCL, por sus siglas en inglés), linfoma de células T γ/δ hepatoesplénicas e intestinales, linfoma de células T periféricas nodales con fenotipo TFH, y linfoma de células T foliculares. El cáncer puede ser linfoma de células T periféricas (PTCL, por sus siglas en inglés), incluyendo linfoma de células grandes anaplásicas (ALCL, por sus siglas en inglés). El cáncer puede ser linfoma de células T cutáneas (CTCL, por sus siglas en inglés), incluyendo linfoma de células grandes anaplásicas cutáneas primario (pcALCL, por sus siglas en inglés). El cáncer puede ser linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés).

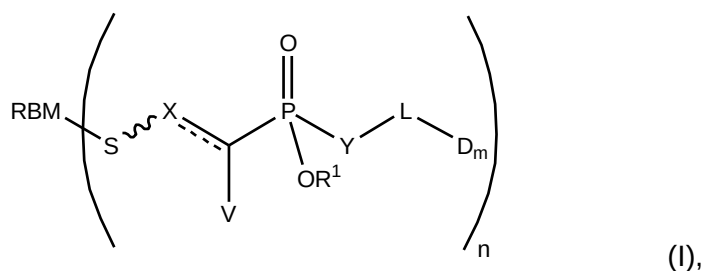
[00411] Mediante "tumor" se indica un grupo de células o tejido que se forma por proliferación celular desregulada, en particular cáncer. Los tumores pueden mostrar una carencia parcial o completa de organización estructural y coordinación funcional con el tejido normal, y usualmente forman una masa distinta de tejido, que puede ser ya sea benigna o bien maligna. En particular, el término "tumor" se refiere a un tumor maligno. El término "tumor" puede referirse a un tumor sólido. De acuerdo con una forma de realización, el término "tumor" o "célula tumoral" también se refiere a cánceres no sólidos y células de cánceres no sólidos tales como células de leucemia. De acuerdo con otra forma de realización, los respectivos cánceres no sólidos o células de los mismos no están abarcados por los términos "tumor" y "célula tumoral".

[00412] "Metástasis" significa la dispersión de células cancerosas desde su sitio original a otra parte del cuerpo. La formación de metástasis es un proceso muy complejo y normalmente involucra el desprendimiento de células cancerosas de un tumor primario, el ingreso a la circulación sanguínea y el establecimiento para crecer dentro de tejidos normales en cualquier parte del cuerpo. Cuando las células tumorales hacen metástasis, el nuevo tumor es llamado tumor secundario o metastásico, y las células normalmente se parecen a aquellas en el tumor original. Esto significa, por ejemplo, que si un cáncer de mama hace metástasis en los pulmones, el tumor secundario está constituido por células mamarias anormales, no de células pulmonares anormales. El tumor en el pulmón es llamado entonces cáncer metastásico de mama, no cáncer de pulmón.

Ítems de la Invención

La invención se relaciona además con los siguientes ítems:

1. Un conjugado que tiene la fórmula (I):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

RBM es una molécula de unión a receptor;

 es un doble enlace; o

 es un enlace;

V está ausente cuando  es un doble enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando  es un enlace;

X es R₃-C cuando  es un doble enlace; o

X es $\begin{array}{c} R_4 \\ | \\ R_3-C \end{array}$ cuando  es un enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

R¹ es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;

R³ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁴ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁵ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁶ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R^7 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 L es un enlazador;
 D es una fracción de droga;
 m es un entero en el rango de 1 a 10; y
 n es un entero en el rango de 1 a 20.

2. El conjugado del ítem 1, en donde:

R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^3 es H;

R^4 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H;

R^5 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^5 , cuando está presente, es H;

R^6 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^6 , cuando está presente, es H; y

R^7 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^7 , cuando está presente, es H.

3. El conjugado del ítem 1 o 2, en donde  es un doble enlace; V está ausente; X es R_3-C ; y R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H.

4. El conjugado del ítem 1 o 2, en donde  es un enlace; V es H o alquilo (C_1-C_8), preferiblemente V es H; X es ; R_3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H; R^4 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^4 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^4 es H.

5. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde la molécula de unión a receptor está seleccionada del grupo que consiste en un anticuerpo, un

fragmento de anticuerpo, y una molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo.

6. El conjugado del ítem 5, en donde la molécula de unión a receptor es un anticuerpo, preferiblemente en donde el anticuerpo está seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, y un anticuerpo de dominio único, tal como un anticuerpo de dominio único de camélido o tiburón.

7. El conjugado del ítem 5, en donde la molécula de unión a receptor es un fragmento de anticuerpo,

preferiblemente en donde el fragmento de anticuerpo es un fragmento de anticuerpo divalente,

más preferiblemente en donde el fragmento de anticuerpo divalente está seleccionado del grupo que consiste en un fragmento (Fab)₂', un fragmento Fv de cadena simple divalente, un anticuerpo redireccionante de afinidad dual (DART), y un diacuerpo; o

preferiblemente en donde el fragmento de anticuerpo es un fragmento de anticuerpo monovalente,

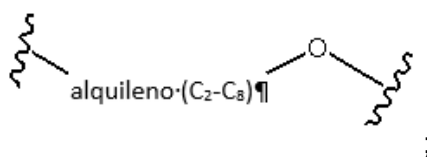
más preferiblemente en donde el fragmento de anticuerpo monovalente está seleccionado del grupo que consiste en un fragmento Fab, un fragmento Fv, y un fragmento Fv de cadena simple (scFv).

8. El conjugado del ítem 5, en donde la molécula de unión a receptor es una molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo, preferiblemente en donde la molécula proteinácea de unión con propiedades de unión de tipo anticuerpo está seleccionada del grupo que consiste en una muteína basada en un polipéptido de la familia de la lipocalina, un glucuerpo, una proteína basada en la estructura de la anquirina, una proteína basada en la estructura cristalina, una adnectina, un avímero, una DARPIn, y un aficuerpo.

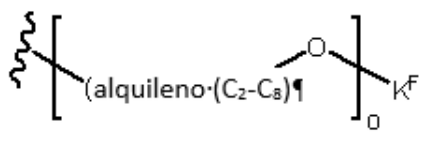
9. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde Y es NH.

- 9a. El conjugado del ítem 9, en donde la molécula de unión a receptor es un anticuerpo.

10. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde la primera unidad de polialquilenglicol R^F comprende de 3 a 100 subunidades que tienen la estructura:



preferiblemente en donde R^F es



en donde:

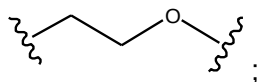


indica la posición del O;

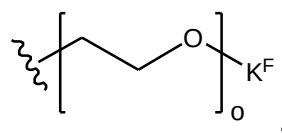
K^F está seleccionado del grupo que consiste en -H, -PO₃H, -alquilo (C₁-C₁₀), -alquil (C₁-C₁₀)-SO₃H, -alquil (C₂-C₁₀)-CO₂H, -alquil (C₂-C₁₀)-OH, -alquil (C₂-C₁₀)-NH₂, -alquil (C₂-C₁₀)-NH-alquilo (C₁-C₃) y -alquil (C₂-C₁₀)-N(alquilo (C₁-C₃))₂; preferiblemente K^F es H; y

0 es un entero en el rango de 3 a 100.

11. El conjugado del ítem 10, en donde R^F es una primera unidad de polietilenglicol que comprende al menos 3 subunidades de etilenglicol.
12. El conjugado del ítem 11, en donde la primera unidad de polietilenglicol R^F comprende de 3 a 100 subunidades que tienen la estructura:



preferiblemente en donde R^F es:



en donde



indica la posición del O;

K^F está seleccionado del grupo que consiste en -H, $-\text{PO}_3\text{H}$, -alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$), -alquil ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)- SO_3H , -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)- CO_2H , -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)-OH, -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)- NH_2 , -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)-NH-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$) y -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)-N(alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$))₂; preferiblemente K^F es H; y

$\underline{0}$ es un entero en el rango de 3 a 100.

12a. El conjugado del ítem 12, en donde K^F es H.

12b. El conjugado del ítem 12 o 12a, en donde $\underline{0}$ está en el rango de 8 a 30.

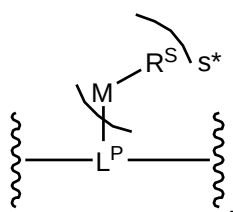
12c. El conjugado del ítem 12b, en donde $\underline{0}$ está en el rango de 8 a 16.

12d. El conjugado del ítem 12c, en donde $\underline{0}$ es 10, 11, 12, 13 o 14.

12e. El conjugado del ítem 12d, en donde $\underline{0}$ está en el rango de 20 a 28.

12f. El conjugado del ítem 12e, en donde $\underline{0}$ es 22, 23, 24, 25 o 26.

13. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 12f, en donde el enlazador L comprende una segunda unidad espaciadora A, siendo dicha segunda unidad espaciadora un grupo Z, teniendo dicho grupo Z la estructura:

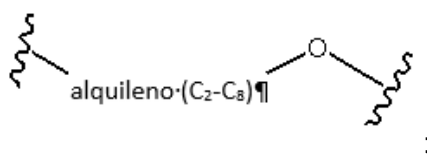


en donde:

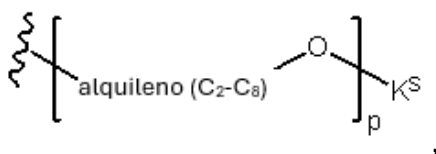
L^P es una unidad conectora paralela;

R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polialquilenglicol;
 M es, cada una independientemente, un enlace o una fracción que une R^S con L^P ;
 s^* es un entero en el rango de 1 a 4; preferiblemente, s^* es 1; y
las líneas onduladas indican el punto de unión a $-Y-$ y a la otra parte del enlazador, cuando está presente, o a una fracción de droga ($-D$).

14. El conjugado del ítem 13, en donde M está cada una independientemente seleccionada del grupo que consiste en $-NH-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)-O-$, $-C(O)-NH-$ y $-$ alquileo (C_1-C_{10}); preferiblemente cada M es $-O-$.
15. El conjugado del ítem 13 o 14, en donde R^S , cada una independientemente, comprende 1 a 100 subunidades que tienen la estructura:



preferiblemente en donde R^S es, cada una independientemente,



en donde:



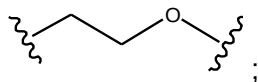
indica la posición de M en el grupo Z ;

K^S está seleccionado del grupo que consiste en $-H$ (hidrógeno), $-PO_3H$, $-$ alquilo (C_1-C_{10}), $-$ alquil (C_1-C_{10})- SO_3H , $-$ alquil (C_2-C_{10})- CO_2H , $-$ alquil (C_2-C_{10})- OH , $-$ alquil (C_2-C_{10})- NH_2 , $-$ alquil (C_2-C_{10})- NH -alquilo (C_1-C_3) y $-$ alquil (C_2-C_{10})- N (alquilo (C_1-C_3)) $_2$; más preferiblemente K^S es H ; y

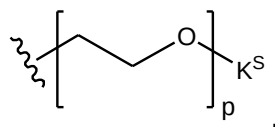
p es un entero en el rango de 1 a 100.

16. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 13 a 15, en donde R^S es, cada una independientemente, una segunda unidad de polietilenglicol que comprende al menos una subunidad de etilenglicol.

17. El conjugado del ítem 16, en donde la segunda unidad de polietilenglicol R^S , cada una independientemente, comprende 1 a 100 subunidades que tienen la estructura:



preferiblemente en donde R^S es, cada una independientemente:



en donde

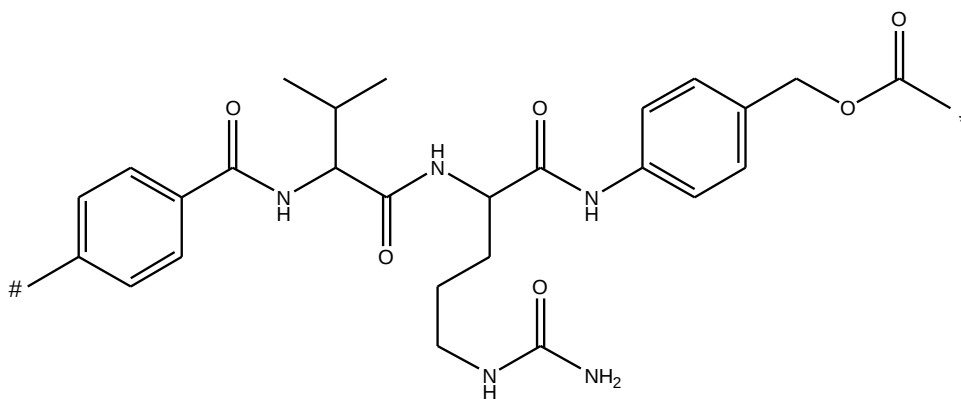


indica la posición de M en el grupo Z;

K^S está seleccionado del grupo que consiste en -H (hidrógeno), $-\text{PO}_3\text{H}$, -alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$), -alquil ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$)- SO_3H , -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)- CO_2H , -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)-OH, -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)- NH_2 , -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)-NH-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$) y -alquil ($\text{C}_2\text{-C}_{10}$)-N(alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$))₂; preferiblemente K^S es H; y

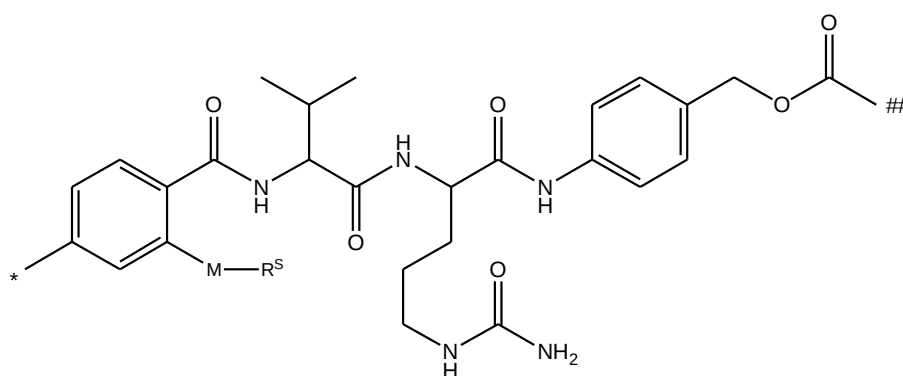
p es un entero en el rango de 1 a 100.

18. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde el enlazador L es escindible.
19. El conjugado del ítem 18, en donde el enlazador L es escindible por una proteasa, una glucuronidasa, una sulfatasa, una fosfatasa, una esterasa, o mediante reducción de disulfuros
20. El conjugado del ítem 19, en donde el enlazador L es escindible por una proteasa, preferiblemente por una catepsina tal como catepsina B.
21. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde el enlazador L comprende una fracción valina-citrulina o valina-alanina.
22. El conjugado del ítem 21, en donde el enlazador L es:



en donde # indica el punto de unión a Y y * indica el punto de unión a la fracción de droga.

23. El conjugado del ítem 21, en donde el enlazador L es:



en donde:

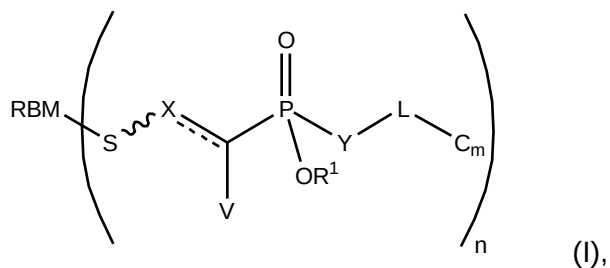
- R^S es una segunda unidad de polialquilenglicol como se define en uno cualquiera de los ítems 13 a 17; preferiblemente R^S es una segunda unidad de polietilenglicol como se define en uno cualquiera de los ítems 16 o 17;
- M es como se define en uno cualquiera de los ítems 13 o 14 ; preferiblemente M es -O-; y
- * indica el punto de unión a Y; y
- ## indica el punto de unión a la fracción de droga.

24. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde la fracción de droga D es hidrófoba.

25. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde la fracción de droga está seleccionada del grupo que consiste en maitansinoides, calicheamicinas, tubulisinas, amatoxinas, dolastatinas y auristatinas tal como monometil auristatina E (MMAE, por sus siglas en inglés) o monometil auristatina F (MMAF, por sus siglas en inglés), dímeros de pirrolobenzodiazepina, dímeros de indolino-benzodiazepina, emetina, radioisótopos, proteínas y péptidos terapéuticos (o fragmentos de los mismos), inhibidores de quinasas, Inhibidores de CDK, inhibidores de histona desacetilasa (HDAC, por sus siglas en inglés), Inhibidores de MEK, Inhibidores de KSP, y análogos o prodrogas de los mismos.
26. El conjugado del ítem 25, en donde la fracción de droga D es una auristatina, preferiblemente monometil auristatina E (MMAE, por sus siglas en inglés) o monometil auristatina F (MMAF, por sus siglas en inglés), más preferiblemente monometil auristatina E (MMAE, por sus siglas en inglés).
27. El conjugado de uno cualquiera de los ítems precedentes, en donde el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 1 a 14, preferiblemente de 2 a 14, más preferiblemente de 4 a 14, aún más preferiblemente de 5 a 12, aún más preferiblemente de 6 a 12, aún más preferiblemente de 7 a 10, incluso más preferiblemente 8.
28. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 26, en donde el número de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor es desde 1 a 14, preferiblemente de 1 a 12, más preferiblemente de 2 a 10, aún más preferiblemente de 2 a 8, aún más preferiblemente de 2 a 6, aún más preferiblemente de 3 a 5, incluso más preferiblemente 4.
29. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 26, en donde m es un entero en el rango de 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1; y n es un entero en el rango de 1 a 20, preferiblemente de 1 a 10, más preferiblemente de 2 a 10, aún más preferiblemente de 4 a 10, aún más preferiblemente de 6 a 10, aún más preferiblemente de 7 a 10, incluso más preferiblemente 8.
30. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 26, en donde m es un entero en el rango de 1 a 4, preferiblemente 1 o 2, más preferiblemente 1; y

n es un entero en el rango de 1 a 20, preferiblemente de 1 a 10, más preferiblemente de 2 a 8, aún más preferiblemente de 3 a 6, aún más preferiblemente 4 o 5, incluso más preferiblemente 4.

30a. Un conjugado que tiene la fórmula (I):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

RBM es un anticuerpo;

es un doble enlace; o

es un enlace;

V está ausente cuando es un doble enlace; o

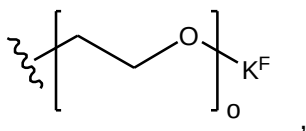
V es H cuando es un enlace;

X es R_3-C cuando es un doble enlace; o

X es $R_3-\overset{R_4}{\underset{|}{C}}$ cuando es un enlace;

Y es NH;

R¹ es una unidad de polietilenglicol que tiene la estructura:



en donde:



indica la posición del O;

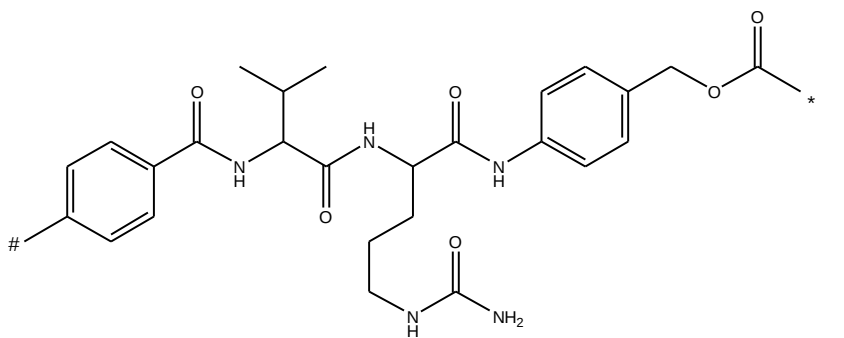
K^F es H; y

0 es un entero en el rango de 8 a 30;

R^3 es H;

R^4 es H;

L es un enlazador que tiene la siguiente estructura:



en donde # indica el punto de unión a Y y * indica el punto de unión a la fracción de droga (D);

D es una fracción de droga;

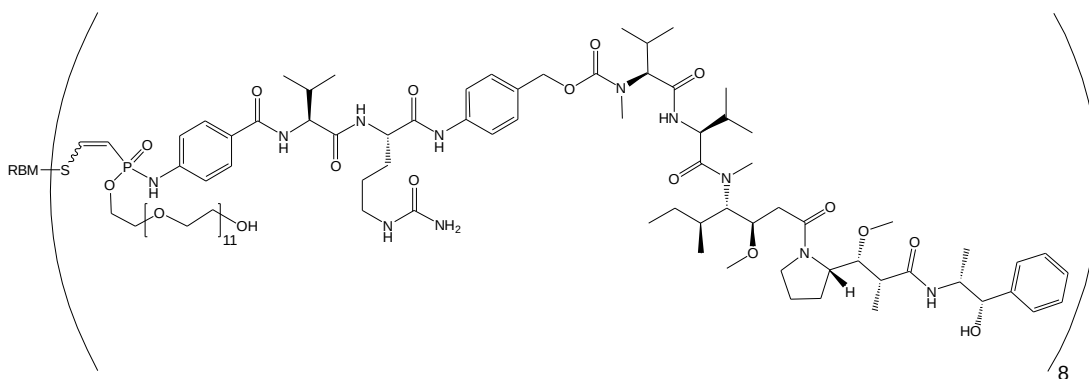
m es 1; y

n es un entero en el rango de 1 a 10.

30b. El conjugado del ítem 33a, en donde la fracción de droga D es monometil auristatina E (MMAE) o monometil auristatina F (MMAF).

30c. El conjugado del ítem 30b, en donde la fracción de droga D es monometil auristatina E (MMAE).

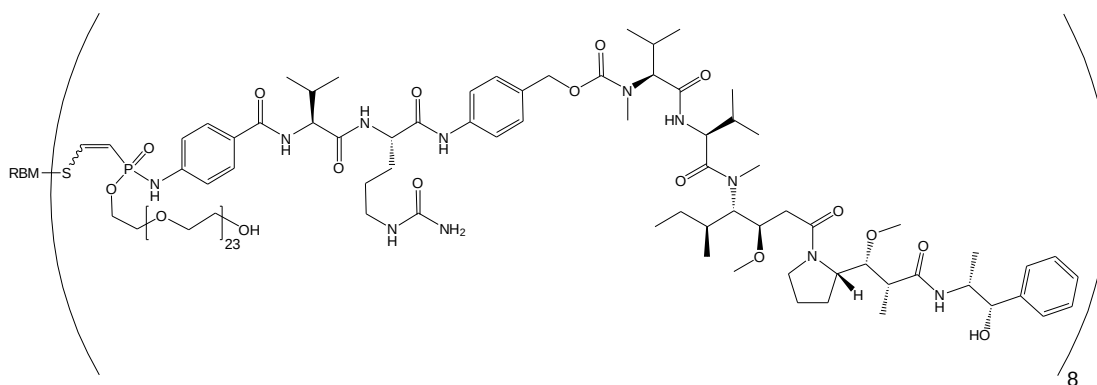
- 30d. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 30a a 30c, en donde $\underline{q}$ está en el rango de 8 a 16.
- 30e. El conjugado del ítem 30d, en donde $\underline{q}$ es 10, 11, 12, 13 o 14.
- 30f. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 30a a 30c, en donde $\underline{q}$ está en el rango de 20 a 28.
- 30g. El conjugado del ítem 30f, en donde $\underline{q}$ es 22, 23, 24, 25 o 26.
- 30h. El conjugado de uno cualquiera de los ítems 30a a 30g, en donde n está en el rango de 2 a 10.
- 30i. El conjugado del ítem 30h, en donde n es 4.
- 30j. El conjugado del ítem 30h, en donde n es 8.
- 30k. Un conjugado que tiene la siguiente fórmula (Ia):



(Ia),

en donde RBM es un anticuerpo.

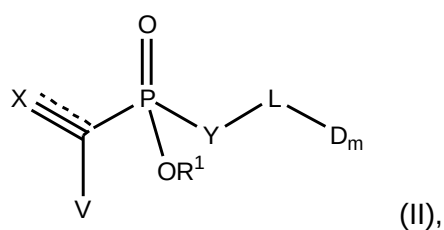
- 30k. Un conjugado que tiene la siguiente fórmula (Ib):



(Ib),

en donde RBM es un anticuerpo.

31. Un compuesto que tiene la fórmula (II):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

es un triple enlace; o

es un doble enlace;

V está ausente cuando es un triple enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando es un doble enlace;

X es R₃-C cuando es un triple enlace; o

X es $\begin{matrix} R_4 \\ | \\ R_3-C \end{matrix}$ cuando es un doble enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

- R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;
 R^3 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^4 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^5 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^6 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
 R^7 es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
L es un enlazador;
D es una fracción de droga; y
m es un entero en el rango de 1 a 10.

32. El compuesto del ítem 31, en donde:

- R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^3 es H;
 R^4 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^4 , cuando está presente, es H;
 R^5 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^5 , cuando está presente, es H;
 R^6 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^6 , cuando está presente, es H; y
 R^7 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^7 , cuando está presente, es H.

33. El compuesto del ítem 31 o 32, en donde  es un triple enlace; V está ausente; X es R^3-C ; y R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H.

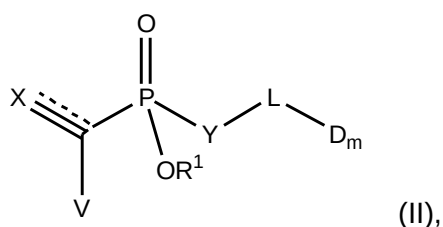
34. El compuesto del ítem 31 o 32, en donde  es un doble enlace; V es H o alquilo (C_1-C_8), preferiblemente V es H; X es $R^3-\overset{R_4}{\underset{|}{C}}$; R^3 es H o un residuo alifático

opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H; R^4 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^4 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^4 es H.

35. El compuesto de uno cualquiera de los ítems 31 a 33, en donde RBM, V, X, Y, R^1 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , L, D, m y n son como se define en uno cualquiera de los ítems 1 a 30i; preferiblemente, Y es NH.

36. Un método de preparación de un conjugado de la fórmula (I), comprendiendo dicho método:

hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:



es un triple enlace; o



es un doble enlace;

V está ausente cuando es un triple enlace; o

V es H o alquilo (C_1-C_8) cuando es un doble enlace;

X es R^3-C cuando es un triple enlace; o

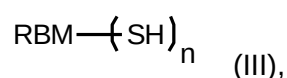
X es $R^3-\overset{R^4}{\underset{|}{C}}$ cuando es un doble enlace;

Y es NR^5 , S, O, o CR^6R^7 ;

R^1 es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;

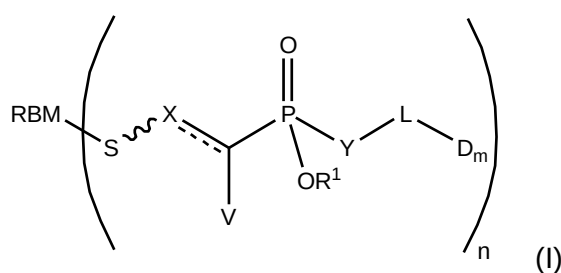
- R³ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁴ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁵ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁶ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- R⁷ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;
- L es un enlazador;
- D es una fracción de droga; y
- m es un entero en el rango de 1 a 10;

con una molécula que contiene tioles de la fórmula (III)



en donde RBM es una molécula de unión a receptor; y
n es un entero en el rango de 1 a 20;

dando como resultado un compuesto de la fórmula (I)



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde:

 es un doble enlace cuando  en un compuesto de la fórmula (II) es un triple enlace; o

 es un enlace cuando  en un compuesto de la fórmula (II) es un doble enlace;

V está ausente cuando  es un doble enlace; o

V es H o alquilo (C₁-C₈) cuando  es un enlace;

X es R₃-C cuando  es un doble enlace; o

X es $\text{R}_3-\overset{\text{R}_4}{\underset{|}{\text{C}}}$ cuando  es un enlace;

Y es NR⁵, S, O, o CR⁶R⁷;

R¹ es una primera unidad de polialquilenglicol R^F que comprende al menos 3 subunidades de alquilenglicol;

R³ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁴ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁵ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁶ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

R⁷ es H; o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido;

L es un enlazador;

D es una fracción de droga;

m es un entero en el rango de 1 a 10; y

n es un entero en el rango de 1 a 20.

37. El método del ítem 36, en donde:

R³ es H o alquilo (C₁-C₈); preferiblemente R³ es H;

R⁴ cuando está presente es H o alquilo (C₁-C₈); preferiblemente R⁴, cuando está presente, es H;

R^5 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^5 , cuando está presente, es H;

R^6 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^6 , cuando está presente, es H; y

R^7 cuando está presente es H o alquilo (C_1-C_8); preferiblemente R^7 , cuando está presente, es H.

38. El método del ítem 36 o 37, en donde  es un triple enlace; V está ausente; X es R_3-C ; R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido, preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8); más preferiblemente R^3 es H, y  es un doble enlace.

39. El método del ítem 36 o 37, en donde  es un doble enlace; V es H o alquilo (C_1-C_8), preferiblemente V es H; X es $R_3-\overset{R_4}{\underset{|}{C}}$, R^3 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido, preferiblemente R^3 es H o alquilo (C_1-C_8), más preferiblemente R^3 es H; R^4 es H o un residuo alifático opcionalmente sustituido o un residuo aromático opcionalmente sustituido; preferiblemente R^4 es H o alquilo (C_1-C_8), más preferiblemente R^4 es H; y  es un enlace.

40. El método de uno cualquiera de los ítems 36 a 39, en donde la reacción se lleva a cabo en condiciones de pH neutro o ligeramente básico, preferiblemente a un pH de desde 6 a 10.

41. El método de uno cualquiera de los ítems 36 a 40, que comprende además la reducción de al menos un puente disulfuro de la molécula de unión a receptor en presencia de un agente reductor para formar un grupo tiol (SH).

42. El método del ítem 41, en donde el agente reductor está seleccionado del grupo que consiste en tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP, por sus siglas en inglés), ditioneitol (DTT, por sus siglas en inglés), ditionito de sodio, tiosulfato de sodio, y sulfito de sodio;

preferiblemente en donde el agente reductor es tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP, por sus siglas en inglés).

43. El método del ítem 41 o 42, en donde la reducción de al menos un puente disulfuro comprende utilizar aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, más preferiblemente aproximadamente 1 equivalente del agente reductor por cada puente disulfuro a ser reducido.
44. El método de uno cualquiera de los ítems 36 a 43, en donde la molécula que contiene tioles de la fórmula (III) se hace reaccionar con aproximadamente 1 a aproximadamente 4 equivalentes, preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 3 equivalentes, más preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 2 equivalentes, aún más preferiblemente aproximadamente 1,5 equivalentes del compuesto de la fórmula (II) por cada grupo tiol (SH).
45. El método de uno cualquiera de los ítems 36 a 44, en donde la reacción de un compuesto de la fórmula (II) con una molécula que contiene tioles de la fórmula (III) es llevada a cabo en un medio acuoso.
46. El método de uno cualquiera de los ítems 36 a 45, en donde RBM, V, X, Y, R¹, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, L, D, m y n son como se define en uno cualquiera de ítems 1 a 35; preferiblemente Y es NH.
47. Un conjugado de la Fórmula (I) obtenible u obtenido mediante un método de uno cualquiera de los ítems 36 a 46.
48. Una composición farmacéutica que comprende un conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 30k o 47.
49. La composición farmacéutica del ítem 48, en donde la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 30, y en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde más de 0 a aproximadamente 14, preferiblemente desde aproximadamente 1 a aproximadamente 14, más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 14, aún más preferiblemente de

aproximadamente 4 a aproximadamente 14, aún más preferiblemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 12, aún más preferiblemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 12, aún más preferiblemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 10, incluso más preferiblemente aproximadamente 8.

50. La composición farmacéutica del ítem 48, en donde la composición farmacéutica comprende una población de un conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 30, y en donde el número promedio de fracciones de droga D por molécula de unión a receptor en la composición es desde más de 0 a aproximadamente 14, preferiblemente desde aproximadamente 1 a aproximadamente 14, más preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 12, aún más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 10, aún más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 8, aún más preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 6, aún más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 5, incluso más preferiblemente aproximadamente 4.
51. Un conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 30k o 47 para uso en un método de tratamiento de una enfermedad.
52. El conjugado para uso del ítem 51, en donde la enfermedad es cáncer.
53. Una composición farmacéutica de uno cualquiera de los ítems 48 a 50 para uso en un método de tratamiento de una enfermedad.
54. La composición farmacéutica para uso del ítem 53, en donde la enfermedad es cáncer.
- 54a. La composición farmacéutica para uso del ítem 54, en donde el cáncer es un tumor sólido.
55. Uso de un conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 30k o 47 para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad.
56. El uso del ítem 55, en donde la enfermedad es cáncer.

- 56a. El uso del ítem 56, en donde el cáncer es un tumor sólido.
57. Uso de una composición farmacéutica de uno cualquiera de los ítems 48 a 50 para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad.
58. El uso del ítem 57, en donde la enfermedad es cáncer.
- 58a. El uso del ítem 58, en donde el cáncer es un tumor sólido.
59. Un método para tratar una enfermedad, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un conjugado de uno cualquiera de los ítems 1 a 30k o 47 a un sujeto o paciente que lo necesita.
60. El método del ítem 59, en donde la enfermedad es cáncer.
- 60a. El método del ítem 60, en donde el cáncer es un tumor sólido.
61. Un método para tratar una enfermedad, que comprende la administración de una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de uno cualquiera de los ítems 48 a 50 a un sujeto o paciente que lo necesita.
62. El método del ítem 61, en donde la enfermedad es cáncer.
- 62a. El método del ítem 62, en donde el cáncer es un tumor sólido.

[00413] Se destaca que, como se utiliza en la presente, las formas singulares “un/a” y “el/la” incluyen las referencias al plural a menos que el contexto indique claramente de otra manera. Así, por ejemplo, la referencia a “un reactivo” incluye uno o más de dichos diferentes reactivos y la referencia a “el método” incluye referencias a etapas y métodos equivalentes conocidos para aquellos de conocimiento normal en el arte que podrían modificar o sustituir los métodos descritos en la presente.

[00414] A menos que se indique de otra manera, el término "al menos" precediendo una serie de elementos debe entenderse que se refiere a cada elemento de la serie. Aquellos

expertos en el arte reconocerán, o serán capaces de determinar utilizando nada más que experimentación de rutina, muchos equivalentes de las formas de realización específicas de la invención descriptas en la presente. Dichos equivalentes están destinados a estar abarcados por la presente invención.

[00415] El término "y/o" cuando se utiliza en la presente incluye el significado de "y", "o" y "todas o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término".

[00416] El término "menos que" o a su vez "más de" no incluye el número concreto. Por ejemplo, menos de 20 significa menos que el número indicado. De manera similar, más de o mayor que significa más de o mayor que el número indicado, por ej. más de 80% significa más de o mayor que el número indicado de 80%.

[00417] A lo largo de esta descripción y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera de otra manera, la palabra "comprende" y variaciones tales como "que comprende" y "comprendiendo", se entenderán como que implican la inclusión de un entero o etapa o grupo de enteros o etapas expresados, pero no la exclusión de cualquier otro entero o etapa o grupo de enteros o etapas. Cuando se utiliza en la presente, el término "que comprende" puede ser sustituido con el término "que contiene" o "que incluye" o a veces cuando se utiliza en la presente con el término "que tiene". Cuando se utiliza en la presente, "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado.

[00418] El término "incluyendo" significa "incluyendo pero no limitado a". "Incluyendo" e "incluyendo pero no limitado a" se utilizan indistintamente.

[00419] Como se utiliza en la presente los términos "alrededor de", "aproximadamente" o "esencialmente" significan dentro del 20%, preferiblemente dentro del 15%, preferiblemente dentro del 10%, y más preferiblemente dentro del 5% de un valor o rango dados. También incluye el número concreto, es decir "aproximadamente 20" incluye el número 20.

[00420] Debe entenderse que esta invención no está limitada a la metodología, protocolos, materiales, reactivos y sustancias, etc. particulares, descriptos en la presente y como tales pueden variar. La terminología utilizada en la presente es con propósito de describir solamente formas de realización particulares y no está destinada a limitar el alcance de la presente invención, que está definido únicamente por las reivindicaciones.

[00421] Todas las publicaciones citadas a lo largo del texto de esta descripción (incluyendo todas las patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, instrucciones, etc.), ya sea anteriormente o a continuación, están incorporadas de este modo a la presente como referencia en su totalidad. Nada en la presente debe ser interpretado como una admisión de que la invención no tiene derecho a anteceder dicha divulgación en virtud de una invención anterior. En la medida en que el material incorporado como referencia contradice o es inconsistente con esta descripción, la descripción prevalecerá sobre dicho material.

[00422] El contenido de todos los documentos y documentos de patente citados en la presente está incorporado como referencia en su totalidad.

EJEMPLOS

[00423] Una mejor comprensión de la presente invención y de sus ventajas será evidente a partir de los siguientes ejemplos, ofrecidos con propósito ilustrativo solamente. Los ejemplos no están destinados a limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera.

Información General, Materiales y Métodos

Agentes Químicos, Solventes y Anticuerpos

[00424] Se adquirieron los agentes químicos y solventes a Merck (Merck group, Alemania), TCI (Tokyo chemical industry CO., LTD., Japón), Iris Biotech (Iris Biotech GmbH, Alemania), MCE (MedChemExpress, EE.UU.) y Carl Roth (Carl Roth GmbH + Co. KG, Alemania) y se utilizaron sin purificación adicional. Los aminoácidos tenían todos su configuración natural (es decir configuración L), a menos que se indicara lo contrario. Los solventes secos se adquirieron a Merck (Merck group, Alemania). Se adquirió Trastuzumab a Roche (Hoffmann-La Roche AG, Suiza). Brentuximab fue producido por Evitria (Evitria AG, Suiza). PEG24 se adquirió a BiochemPEG (Pure Chemistry Scientific Inc., EE.UU.).

HPLC Preparativa

[00425] La HPLC preparativa se llevó a cabo en un sistema BÜCHI Pure C-850 Flash-Prep (BÜCHI Labortechnik AG, Suiza) utilizando una columna VP 250/10 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum (Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Alemania) para escalas menores. Se utilizaron los siguientes gradientes: Método C: (A = H₂O + TFA 0,1% (ácido trifluoroacético), B = MeCN (acetonitrilo) + TFA 0,1%, caudal 6 ml/min, 30% de B 0-5 min, 30-70% de B 5-35 min, 99% de B 35-45 min. Para escalas mayores, se utilizó una columna VP 250/21 Macherey-Nagel Nucleodur C18 HTec Spum (Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Alemania) y se utilizaron los siguientes gradientes: Método D: (A = H₂O + TFA 0,1% (ácido

trifluoroacético), B = MeCN (acetonitrilo) + TFA 0,1%, caudal 14 ml/min, 30% de B 0-5 min, 30-70% de B 5-35 min, 99% de B 35-45 min.

LC/MS

[00426] Las moléculas pequeñas se analizaron utilizando una UPLC Water Acquity equipada con un administrador de solvente binario, un administrador de muestras y un detector TUV, utilizando una columna Waters XSelect Peptide HSS T3 XP (2,1 x 150 mm, 100 Å, 2,5 µm). Se eluyeron las muestras a una temperatura de columna de 45°C. Se utilizó el siguiente gradiente: A: ácido fórmico 0,1% en H₂O; B: ácido fórmico 0,1% en MeCN. 5% de B 0-0,5 min, 5-95% de B 0,5-3,5 min, 95% de B 3,5-4 min, 95-5% de B 4-4,01 min, 5% de B 4,01-5 min. Se detectaron los compuestos a 220 y 254 nm. El análisis de masa se llevó a cabo con un detector de masa Waters 3100.

LC/MS (alta Resolución)

[00427] Se analizaron las moléculas pequeñas, enlazador-cargas útiles, anticuerpos y ADIC utilizando un instrumento Waters H-class equipado con un administrador de solvente cuaternario, un Waters Sample Manager-FTN, un detector Waters PDA y un administrador de columna Waters con una columna Acquity UPLC Protein BEH C4 (300 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 50 mm) para anticuerpos y ADC. Aquí, las muestras se eluyeron a una temperatura de columna de 80°C. Se utilizó el siguiente gradiente: A: ácido fórmico 0,1% en H₂O; B: ácido fórmico 0,1% en MeCN. 25% de B 0-1 min, 0,4 mL/min, 25-95% de B 1-3,5 min 0,2 mL/min, 95% de B 3,5-4,5 min 0,2 mL/min, 95-25% de B 4,5-5 min 0,4 mL/min, 25-95% de B 5-5,5 min 0,4 mL/min, 95-25% de B 5,5-7,5 min 0,4 mL/min. Se realizó el análisis de masa con un analizador Waters XEVO G2-XS QTof. Se ionizaron las proteínas en modo de ion positivo aplicando una tensión de cono de 40 kV. Se analizaron los datos crudos con MaxEnt 1. Se analizaron las moléculas pequeñas y enlazador-carga útil con una columna Acquity UPLC-BEH C18 (300 Å, 1,7 µm, 2,1 mm x 50 mm). Aquí, se eluyeron las muestras a una temperatura de columna de 45°C con un caudal de 0,4 mL/min. Se utilizó el siguiente gradiente: A: ácido fórmico 0,1% en H₂O; B: ácido fórmico 0,1% en MeCN. 2% de B 0-1 min, 2-98% de B 1-5 min, 98% de B 5-5,5 min, 98-2% de B 5,5-6 min, 2% de B 6-7min.

RMN

[00428] Se registraron los espectros de RMN con un espectrómetro Bruker Ultrashield 300 MHz y un espectrómetro Bruker Avance III 600 MHz (Bruker Corp., EE.UU.) a temperatura ambiente. Los desplazamientos químicos δ se informan en ppm en relación con el pico del solvente residual (CDCl₃: 7,26 [ppm]; DMSO-d₆: 2,50 [ppm]) para los espectros de ¹H y CDCl₃:

77,16 [ppm]; DMSO-d₆: 39,52 [ppm] para los espectros de ¹³C. Las constantes de acoplamiento *J* se expresan en Hz. Las multiplicidades de señales se abrevian como sigue: s: singulete; d: doblete; t: triplete; q: cuarteto; m: multiplete.

Cromatografía de Exclusión de Tamaño Preparativa

[00429] Se realizó la purificación de proteínas mediante cromatografía de exclusión de tamaño con un sistema ÄKTA Pure FPLC (GE Healthcare, EE.UU.) equipada con un colector de fracciones F9-C.

Determinación de la Concentración de ADC

[00430] Las concentraciones de los ADC se determinaron en una placa de 96 pocillos con un kit Pierce™ Rapid Gold BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) y un Bradford Reagent B6916 (Merck, Alemania) con estándares de ensayo de proteínas prediluidas de gammaglobulina bovina (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.). Los resultados de ambos Ensayos se promediaron aritméticamente.

Preparación de muestras de los ADC y anticuerpos para MS

[00431] Se agregaron 0,5 µl de solución de PNGase-F (Pomega, Alemania, Recombinante, clonada de Elizabethkingia miricola 10 u/µl) y 5 µL de una solución 100 mM de DTT en agua, a 50 µl de anticuerpo o ADC 0,2 mg/mL en PBS y se incubó la solución a 37°C durante al menos 2 horas. Se sometieron las muestras a LC/MS, inyectando 2 µl para cada muestra.

Cromatografía de exclusión de tamaño analítica

[00432] Se realizó una cromatografía de exclusión de tamaño analítica (A-SEC, por sus siglas en inglés) de los ADC en un sistema Vanquish Flex UHPLC System con un detector DAD, Split Sampler FT (4°C), Column Compartment H (25°C) y bomba binaria F (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) utilizando una columna MAbPac SEC-1 300 Å, 4 x 300 mm (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) con un caudal de 0,15 mL/min. Se logró la separación de las diferentes poblaciones de ADC/mAb durante un gradiente isocrático de 30 minutos utilizando un buffer fosfato a pH 7 (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄ 20 mM, NaCl 300 mM, alcohol isopropílico 5% v/v como fase móvil. Se cargaron 8 µg de ADC/mAb en una columna para análisis por A-SEC. Se registraron los cromatogramas de UV a 220 y 280 nm.

Cromatografía de interacción hidrofóbica analítica

[00433] Se realizaron las mediciones en un sistema Vanquish Flex UHPLC System (2.9) con una columna MabPac HIC Butyl 4,6 x 100 mm (Thermo Fischer Scientific, EE.UU.). Se logró la separación de diferentes ADC/anticuerpos con el siguiente gradiente: A: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 M, NaCl 500 mM, NaH_2PO_4 100 mM pH 7,4, B: NaH_2PO_4 20 mM, alcohol isopropílico 20% (v/v), pH 7,4. 0% de B: 0-1 min, 0-95% de B: 1-15 min, 95% de B: 15-20 min, 95-0% de B: 20-23 min, 0% de B: 23-25 min, con un caudal de 700 $\mu\text{L}/\text{min}$. Se cargaron muestras de 15 μg en la columna para cada análisis. Se registraron cromatogramas UV a 220 y 280 nm.

Método General para la conjugación de constructos enlazador-carga útil basados en P5 a anticuerpos para lograd DAR8.

[00434] Se mezclaron 50 μL de la solución de anticuerpo de 10,0 mg/ml en un buffer que contenía NH_4HCO_3 100 mM con 3,33 μL de una solución de TCEP 10 mM en buffer de conjugación con P5. Directamente a continuación, se agregaron 1,67 μL de una solución 40 mM del constructo P5-enlazador-carga útil disuelto en DMSO. Se agitó la mezcla a 350 rpm y 25°C durante 16 horas. Se purificaron las mezclas de reacción mediante cromatografía de exclusión de tamaño preparativa con una Superdex™ 200 Increase 10/300GL (Cytiva, Suecia) de 25 ml y un caudal de 0,8 ml/min eluyendo con PBS estéril (Merck, Alemania). Se combinaron las fracciones que contenían anticuerpo y se concentraron mediante filtrado rotativo (Amicon® Ultra- 2mL MWCO: 30 kDa, Merck, Alemania).

Citotoxicidad in vitro

[00435] Para investigar la citotoxicidad directa de los ADC, se incubaron las células respectivas durante 4 días para los ADC de Brentuximab y 7 días para los ADC de trastuzumab con concentraciones crecientes de los ADC (0-3 $\mu\text{g}/\text{ml}$) para generar una curva de respuesta a la dosis. Se analizó la mortandad usando colorante de viabilidad celular de resazurina a una concentración final de 55 μM (Sigma-Aldrich) dividiendo la fluorescencia de células de control en medio por la fluorescencia de células tratadas con los ADC. Se midió la emisión de fluorescencia 590 nm en un lector de microplacas Infinite M1000 Pro (Tecan).

Capacidad para Espectadoras In vitro

[00436] Para analizar la actividad para espectadoras de los ADC en células negativas para la diana, se incubaron 20.000 células positivas para la diana (L-540 para los ADC de brentuximab) con concentraciones crecientes de los ADC (0-3 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Después de 5 días, se transfirió la mitad de los volúmenes del sobrenadante del cultivo celular a 5.000 células negativas para la diana (HL-60 para los ADC de brentuximab) y se incubó durante otros 5

días. Se analizó la mortandad mediante una medición de viabilidad basada en resazurina como se describió anteriormente.

Estudio Farmacocinético (PK, por sus siglas en inglés) in vivo

[00437] Se trataron ratas Sprague-Dawley hembra intravenosamente vía la vena de la cola con 5 mg de ADC por kilogramo de peso corporal (bolo) con el respectivo ADC. Se recolectó aproximadamente 1 mL de sangre después de 0,5 h, 1 h, 4 h, 24 h, 48 h, 96 h, 168 h, 336 h, y 504 h. Se dejó reposar las muestras de sangre a temperatura ambiente para coagulación durante 30 minutos. Se aisló el suero sanguíneo a partir de las muestras después de centrifugación y recolección del sobrenadante. Se analizaron las muestras de sangre mediante ELISA como sigue.

Análisis de las muestras in vivo mediante ELISA en cuanto a anticuerpo total

[00438] Para evaluar la PK de los ADC *in vivo*, se midió la concentración total de anticuerpo en diferentes puntos de tiempo en suero de ratas SD tratadas con los ADC. Se analizó el anticuerpo anti-CD30 humanizado total en el suero de rata a través del rango 2000 – 15,6 ng/ml. Se recubrieron placas Nunc de 96 pocillos (100 µl/pocillo) con CD30/TNFRSF8 Recombinante Humano diluido en PBS (concentración requerida: 0,25 µg/ml) y se sellaron con Foil (lámina) para PCR. Se incubaron las placas en un refrigerador para mantener una temperatura entre 2-8°C durante la noche. Se lavaron las placas recubiertas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 200 µl/pocillo de solución bloqueante (Albúmina 2% en PBST), se sellaron las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavaron las placas recubiertas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 100 µl/pocillo de estándares preparados (2000 – 15,6 ng/ml de los respectivos ADC, QC y muestras de ensayo, se sellaron las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavaron las placas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 100 µl/pocillo de anticuerpo IgG Anti-Humana (específica cadena γ)-Peroxidasa (dilución 1:60000 en PBS) y se incubó durante 1h a TA. Se lavaron las placas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 50 µl/pocillo de TMB, se sellaron las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 min. Se agregaron 50 µl/pocillo de Ácido Sulfúrico 1 M. Utilizando un lector de placas Tecan Plate Reader, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm.

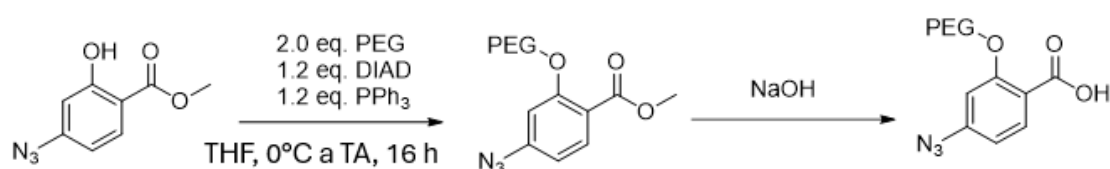
Análisis de las muestras in vivo mediante ELISA en cuanto a ADC intactos

[00439] Para evaluar la estabilidad de los ADC *in vivo*, se midió la concentración de los ADC intactos en diferentes puntos de tiempo en suero de ratas SD tratadas con ADC. Se analizó el ADC intacto en el suero de las ratas a través del rango 2000 – 15,6 ng/ml. Se

recubrieron placas Nunc de 96 pocillos (100 µl/pocillo) con pAb anti-vc-PAB-MMAE de conejo diluido en PBS (concentración requerida: 1 µg/ml) y se sellaron con Foil (lámina) para PCR. Se incubaron las placas en un refrigerador para mantener una temperatura entre 2-8°C durante la noche. Se lavaron las placas recubiertas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 200 µl/pocillo de solución bloqueante (Albúmina 2% en PBST), se sellaron las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavaron las placas recubiertas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 100 µl/pocillo de estándares preparados (2000 – 15,6 ng/ml de los respectivos ADC, QC y muestras de ensayo, se sellaron las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se lavaron las placas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 100 µl/pocillo de IgG (H+L) anti-humana de cabra preabsorbida (dilución 1:25000 en PBS y se incubó durante 1 h a TA. Se lavaron las placas 3x con 300 µl de PBST. Se agregaron 100 µl/pocillo de TMB, se sellaron las placas y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 min. Se agregaron 100 µl/pocillo de Ácido Sulfúrico 1 M. Utilizando un lector de placas Tecan Plate Reader, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm.

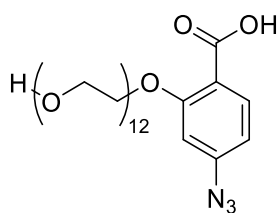
Ejemplo 1: Síntesis Química

Método general 1 para la síntesis de Fenilazidas PEGiladas



[00440] En un matraz de fondo redondo de 25 mL, se disolvieron 50 mg de 4-azido-2-hidroxybenzoato de metilo (0,259 mmol, 1,0 eq.), 0,518 mmol del PEG-alcohol deseado (2,0 eq.) y 82 mg de trifenilfosfina (0,311 mmol, 1,2 eq.) en 5 mL de THF seco y se enfrió la mezcla de reacción a 0°C. Se agregaron de a gotas 54 mg de azodicarboxilato de diisopropilo (0,311 mmol, 1.2 eq.) y se dejó calentar la solución a temperatura ambiente durante la noche con agitación. Se separaron todos los volátiles en una corriente de N₂ y se disolvieron los sólidos en 1 mL de NaOH 2 N. Se agitó la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente, se neutralizó con HCl 2N y el producto crudo fue purificado mediante HPLC preparativa.

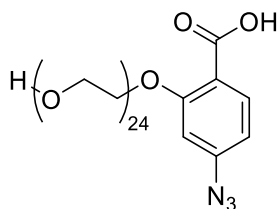
4-azido-2-(dodecaetilenglicol)benzoato de metilo



[00441] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 1 a partir de 18 mg de 4-azido-2-hidroxibenzoato de metilo (91 μmol , 1,00 eq.), 100 mg de dodecaetilenglicol (183 μmol , 2,0 eq), 29 mg de trifenilfosfina (110 μmol , 1,2 eq.), 19 mg de azodicarboxilato de diisopropilo (110 μmol , 1,2 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (6,2 mg, 8,8 μmol , 10%). HR para $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{N}_3\text{O}_{15}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc.: 708,3550, hallado 708,74.

La **Figura 1** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto 4-azido-2-(dodecaetilenglicol)benzoato de metilo. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

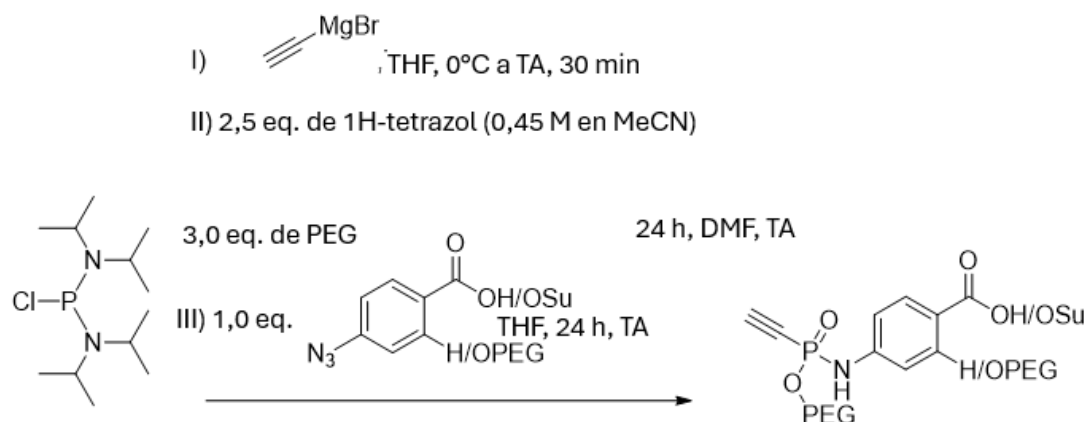
4-azido-2-(tetracosaetilenglicol)benzoato de metilo



[00442] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 1 a partir de 36 mg de 4-azido-2-hidroxibenzoato de metilo (186 μmol , 1,00 eq.), 400 mg de PEG24 (372 μmol , 2,0 eq), 59 mg de trifenilfosfina (223 μmol , 1,2 eq.), 39 mg de azodicarboxilato de diisopropilo (223 μmol , 1,2 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (58 mg, 46,9 μmol , 10%). MS para $\text{C}_{55}\text{H}_{102}\text{N}_3\text{O}_{27}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc.: 1236,6696, hallado 1237,05.

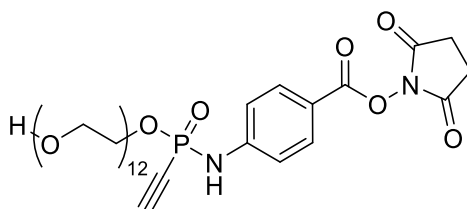
La **Figura 2** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto 4-azido-2-(tetracosaetilenglicol)benzoato de metilo. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

Método General 2 para la síntesis de Bloques de Construcción P5 PEGilados mediante la Reacción de Fosfonita de Staudinger



[00443] Se cargó un matraz Schlenk de 25 ml con 267 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (1,00 mmol, 1,00 eq.) bajo una atmósfera de argón, se enfrió a 0 °C y se agregaron de a gotas 2,20 mL de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 1,10 mmol, 1,10 eq.). Se dejó calentar la solución amarillenta a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos adicionales. Se agregaron 3,00 mmol (3,0 eq.) del PEG-alcohol deseado, disuelto en 5,56 mL de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 2,50 mmol, 2,50 eq.) y se agitó la suspensión blanca durante la noche a temperatura ambiente. Se monitoreó la formación de la fosfonita deseada mediante ^{31}P -RMN. Se agregó 1,0 mmol (1,0 eq.) de la azida deseada disuelta en 2 mL de DMF, se agregó THF o MeCN y la suspensión fue agitada adicionalmente durante 24h a temperatura ambiente. Se purificó la mezcla de reacción cruda utilizando HPLC preparativa.

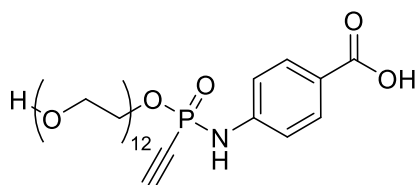
P5(PEG12)-OSu



[00444] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 2 a partir de 19,5 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (73 μmol , 1,00 eq.), 146 μL de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 73 μmol , 1,00 eq.), 100 mg de dodecaetilenglicol

(183 μmol , 2,50 eq), 400 μL de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 183 μmol) y 19 mg de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido 4-azidobenzoico (73 μmol , 1,00 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (42,5 mg, 50 μmol , 68%). ^1H RMN (300 MHz, Acetonitrilo- d_3) δ 8,06 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,40 – 4,14 (m, 2H), 3,79 – 3,69 (m, 2H), 3,66 – 3,47 (m, 40H), 3,21 (d, J = 13,1 Hz, 1H), 2,86 (s, 4H), 1,30 (m, 2H), 1,13 – 0,79 (m, 2H). ^{13}C RMN (151 MHz, CDCl_3) δ 169,77, 169,46, 161,66, 161,47, 152,75, 146,09, 132,90, 132,24, 117,82, 113,97, 113,29, 89,25, 88,92, 77,27, 77,06, 76,85, 74,69, 72,57, 71,19, 70,62, 70,54, 70,51, 70,47, 70,44, 70,36, 70,27, 70,20, 69,74, 69,70, 68,14, 65,77, 65,73, 61,63, 61,60, 40,72, 30,34, 25,68. ^{31}P RMN (122 MHz, Acetonitrilo- d_3) δ -10,87. HRMS $\text{C}_{37}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_{19}\text{P}^+$ calc.: 851,3573 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 851,3571.

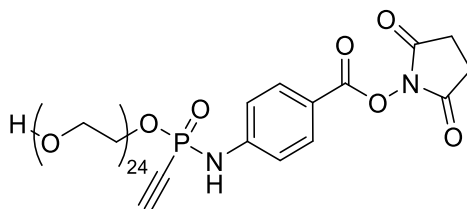
P5(PEG12)-COOH



[00445] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 2 a partir de 40 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (150 μmol , 1,00 eq.), 360 μL de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 180 μmol , 1,2 eq.), 245 mg de PEG12 (450 μmol , 3,0 eq), 0,83 mL de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 450 μmol , 2,5 eq.) y 39 mg de ácido 4-azidobenzoico (150 μmol , 1,00 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (25 mg, 34 μmol , 23%). HR-MS para $\text{C}_{33}\text{H}_{57}\text{NO}_{16}\text{P}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ calc.: 754,3410, hallado 754,3398

La **Figura 3** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12)-COOH.

P5(PEG24)-OSu

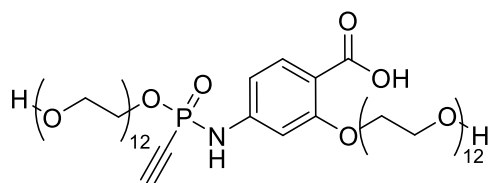


[00446] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 2 a partir de 41 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (159 μmol , 1,00 eq.), 370 μL de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 185 μmol , 1,2 eq.), 450 mg de PEG24 (388 μmol ,

2,50 eq), 1,02 mL de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 466 μmol , 3,0 eq.) y 40 mg de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido 4-azidobenzoico (155 μmol , 1,00 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (79 mg, 57 μmol , 37%). MS para $\text{C}_{61}\text{H}_{109}\text{N}_2\text{O}_{30}\text{P}^{2+}$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ calc.: 690,3396, hallado 690,81.

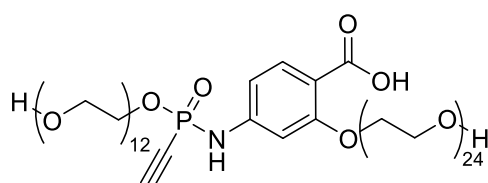
La **Figura 4** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24)-OSu. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

P5(PEG12, PEG12)-COOH



[00447] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 2 a partir de 6,8 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (25 μmol , 1,00 eq.), 61 μL de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 31 μmol , 1,2 eq.), 42 mg de Dodecaetilenglicol (76 μmol , 3,0 eq), 164 μL de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 64 μmol , 2,5 eq.) y 18,4 mg de 4-azido-2-(dodecaetilenglicol) benzoato de metilo (25 μmol , 1,00 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (4,8 mg, 3,4 μmol , 13%). MS para $\text{C}_{57}\text{H}_{106}\text{NO}_{29}\text{P}^{2+}$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ calc.: 649,8289, hallado 650,22.

P5(PEG12,PEG24)-COOH

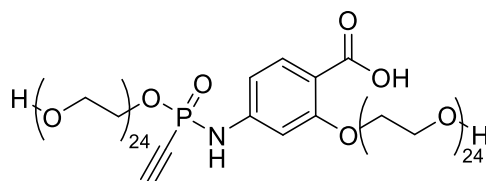


[00448] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 2 a partir de 5,4 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (20 μmol , 1,00 eq.), 50 μL de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 24 μmol , 1,2 eq.), 33 mg de Dodecaetilenglicol (61 μmol , 3,0 eq), 115 μL de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 51 μmol , 3,0 eq.) y 25 mg de 4-azido-2-(tetraeicosetilenglicol) benzoato de metilo (20 μmol , 1,00 eq.). Se obtuvo el

producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (6,6 mg, 3,6 μ mol, 18%). MS para $C_{81}H_{154}NO_{41}P^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ calc.: 913,9862, hallado 914,45.

La **Figura 5** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12,PEG24)-COOH. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

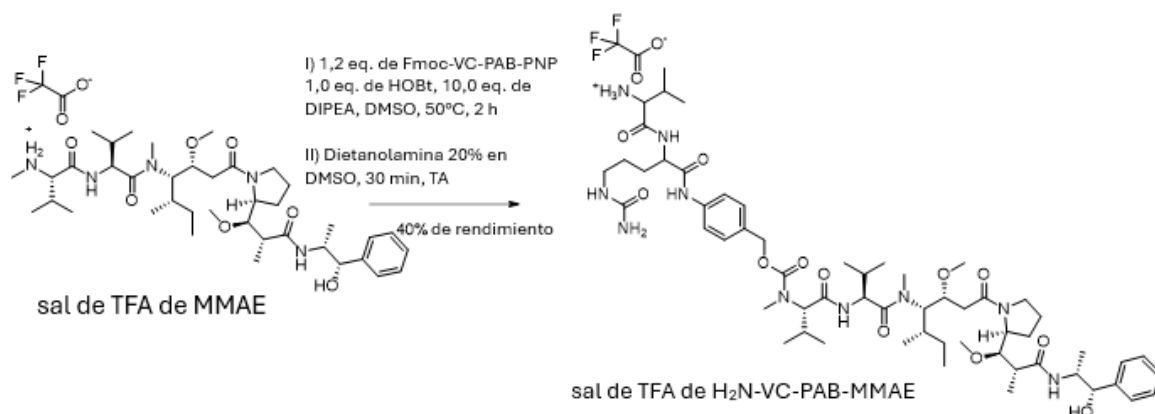
P5(PEG24,PEG24)-COOH



[00449] Se sintetizó el compuesto del título de acuerdo con el Método general 2 a partir de 5,4 mg de bis(diisopropilamino)clorofosfina (20 μ mol, 1,00 eq.), 50 μ L de solución de bromuro de etinilmagnesio (0,5 M en THF, 24 μ mol, 1,2 eq.), 65 mg de PEG24 (61 μ mol, 3,0 eq), 115 μ L de solución de 1H-tetrazol (0,45 M en MeCN, 51 μ mol, 3,0 eq.) y 25 mg de 4-azido-2-(tetracosaelilenglicol) benzoato de metilo (20 μ mol, 1,00 eq.). Se obtuvo el producto como aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método D) y liofilización. (18,4 mg, 7,5 μ mol, 37%). MS para $C_{105}H_{202}NO_{53}P^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ calc.: 1178,6451, hallado 1178,69.

La **Figura 6** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24,PEG24)-COOH. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

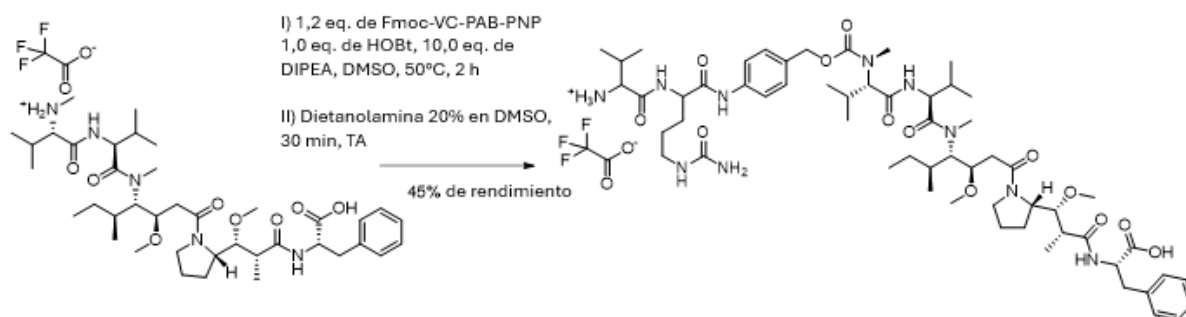
Sal de TFA de NH_2 -VC-PAB-MMAE



[00450] Se cargó un vial con tapa a rosca de 10 ml con 60 µl de una solución 1 mol/l de la sal de TFA de MMAE en DMSO (50 mg, 0,06 mmol, 1,0 eq.), 180 µl de una solución 0,4 mol/L de solución Fmoc-VC-PAB-PNP en DMSO (0,072 mmol, 1,2 eq.) y 60 µl de una solución 1 mol/l de trihidrato de hidroxibenzotriazol en DMSO (0,06 mmol, 1,0 eq.). Se agregaron 105 µl de DIPEA (0,6 mmol, 10,0 eq.) y se agitó la solución amarilla durante tres horas a temperatura ambiente. Después del consumo completo del material de partida MMAE, monitoreado mediante UPLC/MS, se agregaron 120 µl de una solución 50% (p/p) de dietanolamina en DMSO y se agitó adicionalmente la solución amarilla durante una hora. Se agregaron 1,5 ml de acetonitrilo y 3 ml de agua y se purificó la solución mediante HPLC preparativa utilizando el método D. Se obtuvo el producto deseado como sal de TFA como un polvo blanco después de liofilización. (29,5 mg, 39,7%). HR-MS para $C_{58}H_{95}N_{10}O_{12}^+$ $[M+H]^+$ calc.: 1123,7125, hallado 1123,7130.

La **Figura 7** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto sal de TFA de NH_2 -VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

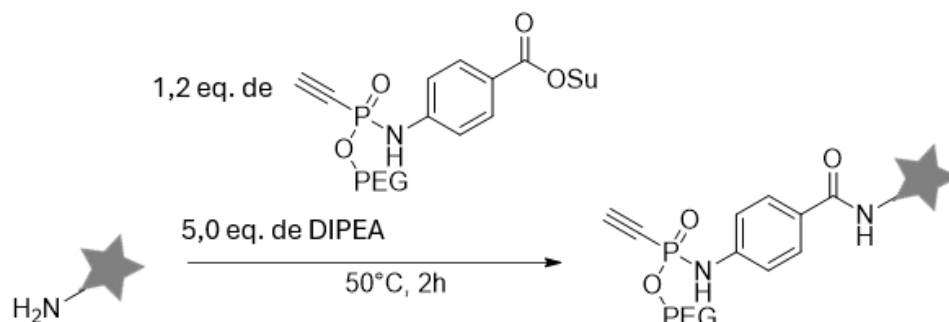
Sal de TFA de NH_2 -VC-PAB-MMAF



[00451] Se cargó un vial con tapa a rosca de 10 ml con 60 µl de una solución 1 mol/l de la sal de TFA de MMAF en DMSO (0,06 mmol, 1,0 eq.), 180 µl de una solución 0,4 mol/L de solución de Fmoc-VC-PAB-PNP en DMSO (0,072 mmol, 1,2 eq.) y 60 µl de una solución 1 mol/l de trihidrato de hidroxibenzotriazol en DMSO (0,06 mmol, 1,0 eq.). Se agregaron 105 µl de DIPEA (0,6 mmol, 10,0 eq.) y se agitó la solución amarilla durante tres horas a temperatura ambiente. Después del consumo completo del material de partida MMAF, monitoreado mediante UPLC/MS, se agregaron 120 µl de una solución 50% (p/p) de dietanolamina en DMSO y se agitó adicionalmente la solución amarilla durante una hora. Se agregaron 1,5 ml de acetonitrilo y 3 ml de agua y se purificó la solución mediante HPLC preparativa utilizando el método D. Se obtuvo el producto deseado como sal de TFA como un polvo blanco después

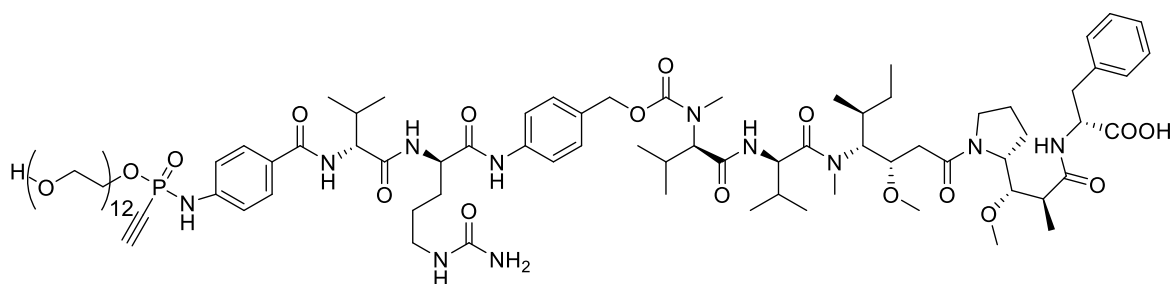
de liofilización. (33,7 mg, 44,9%). MS para $C_{58}H_{93}N_{10}O_{13}^+$ $[M+H]^+$ calc.: 1137,6919, hallado 1138,27

Método General 4 para la Síntesis de Constructos Enlazador-Carga Útil a partir de P5-OSu



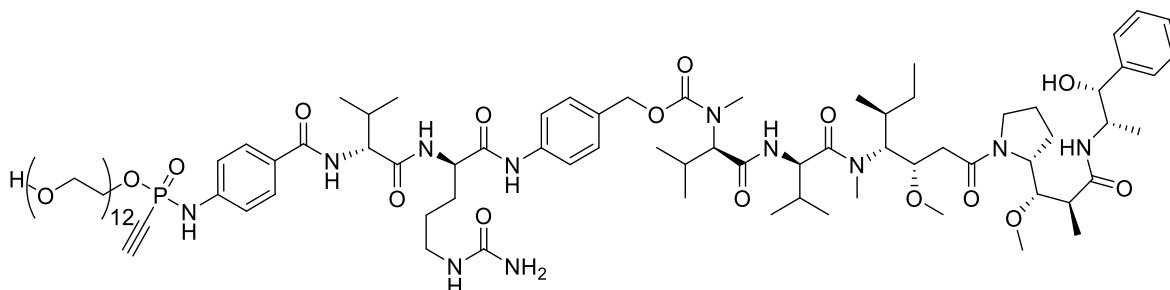
[00452] Se cargó un vial con tapa a rosca con 48 μ L de una solución 200 mM del P5(OR,OR)-COOH deseado en DMSO seco (9,6 μ mol, 1,20 eq.) y se agregaron 40 μ L de una solución 200 mM del enlazador-carga útil conteniendo amino en DMSO seco (8 μ mol, 1,00 eq.) y 7 μ L de DIPEA (40 μ mol, 5,00 eq.). Se agitó la solución durante 2h a 50°C, se dejó que la solución se calentara hasta temperatura ambiente, se disolvió en 1,5 mL de MeCN y 3 mL de H_2O y se inyectó directamente en HPLC preparativa para purificación.

P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF



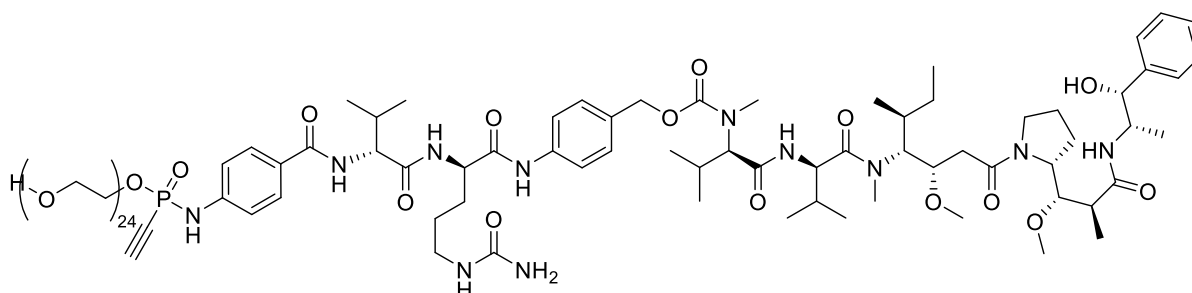
[00453] Se sintetizó el compuesto de acuerdo con el método general 4 a partir de 60 μ L de una solución 200 mM de P5(PEG12)-OSu en DMSO seco (12 μ mol, 1,00 eq.), 60 μ L de una solución 200 mM de H2N-VC-PAB-MMAF en DMSO seco (12 μ mol, 1,00 eq.) y 10,5 μ L de DIPEA (120 μ mol, 10,00 eq.). Se obtuvo el producto como un aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método C) y liofilización. (8,45 mg, 4,56 μ mol, 38%) HR-MS para $C_{91}H_{148}N_{11}O_{28}P^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ calc.: 937,0111, hallado 937,5

P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE



La **Figura 9** muestra un cromatograma de HPLC del compuesto P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE

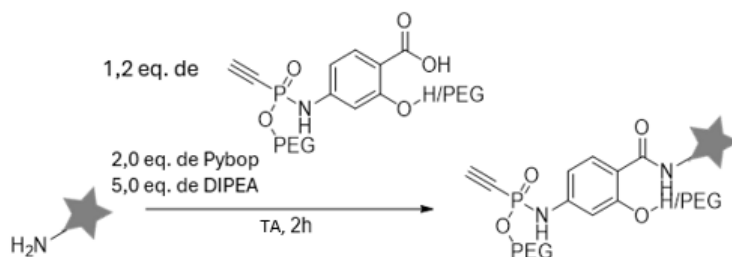


212

C) y liofilización. (1,31 mg, 0,55 μmol , 18%) HR-MS para $\text{C}_{115}\text{H}_{199}\text{N}_{11}\text{O}_{39}\text{P}^{3+}$ $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$ calc.: 796,7894, hallado 796,7839

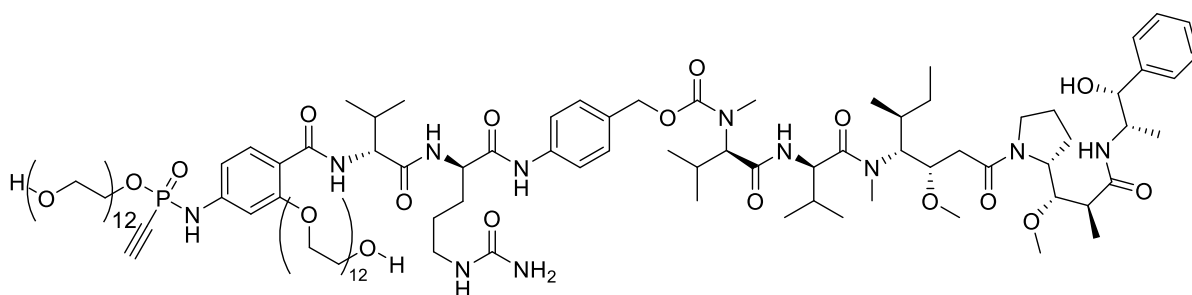
La **Figura 10** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE.

Método General 5 para la Síntesis de Constructos Enlazador-Carga Útil a partir de P5-COOH



[00456] Se cargó un vial con tapa a rosca con 60 μL de una solución 200 mM del P5(OR,OR)-COOH deseado en DMSO seco (12 μmol , 1,20 eq.), se agregaron 50 μL de una solución 400 mM de Pybop en DMSO seco (20 μmol , 2,00 eq.) y 50 μL de una solución 200 mM del enlazador-carga útil conteniendo amino en DMSO seco (10 μmol , 1,00 eq.) y 8,7 μL de DIPEA (50 μmol , 5,00 eq.). Se agitó la solución durante 2 h a temperatura ambiente, se disolvió en 1,5 mL de MeCN y 3 mL de H_2O y se inyectó directamente en HPLC preparativa para purificación.

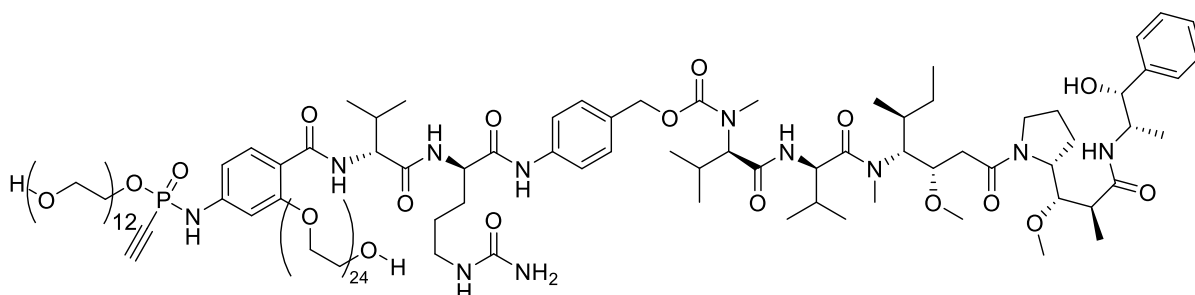
P5(PEG12, PEG12)-VC-PAB-MMAE



[00457] Se sintetizó el compuesto de acuerdo con el método general 5 a partir de 4,8 mg de P5(PEG12,PEG12)-COOH (3,7 μmol , 1,00 eq.), 27,7 μL de una solución 200 mM de Pybop en DMSO seco (5,54 μmol , 1,50 eq.), 8,9 μL de una solución 500 mM de H_2N -VC-PAB-MMAE en DMSO seco (4,45 μmol , 1,20 eq.) y 2,4 μL de DIPEA (18,5 μmol , 5,00 eq.). Se obtuvo el producto como un aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método C) y

liofilización. (6,41 mg, 2,66 μmol , 72%) MS para $\text{C}_{115}\text{H}_{198}\text{N}_{11}\text{O}_{240}\text{P}^{2+}$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ calc.: 1202,6779, hallado 1202,74

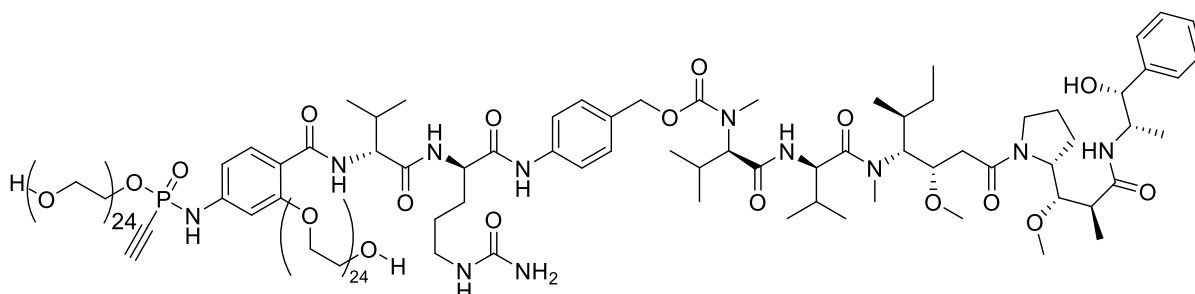
P5(PEG12,PEG24)-VC-PAB-MMAE



[00458] Se sintetizó el compuesto de acuerdo con el método general 5 a partir de 9,8 μL de una solución 200 mM del P5(PEG12)-COOH deseado en DMSO seco (1,9 μmol , 1,20 eq.), 8,2 μL de una solución 400 mM de Pybop en DMSO seco (3,2 μmol , 2,00 eq.), 8,2 μL de una solución 200 mM del enlazador-carga útil conteniendo amino en DMSO seco (1,6 μmol , 1,00 eq.) y 1,4 μL de DIPEA (8 μmol , 5,00 eq.). Se obtuvo el producto como un aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método C) y liofilización. (4,16 mg, 1,42 μmol , 86%) MS para $\text{C}_{139}\text{H}_{247}\text{N}_{11}\text{O}_{52}\text{P}^{3+}$ $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$ calc.: 978,2259, hallado 978,74

La **Figura 11** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG12,PEG24)-VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

P5(PEG24,PEG24)-VC-PAB-MMAE



Se sintetizó el compuesto de acuerdo con el método general 5 a partir de 26 μL de una solución 200 mM del P5(OR,OR)-COOH deseado en DMSO seco (5,3 μmol , 1,20 eq.), 22 μL de una solución 400 mM de Pybop en DMSO seco (8,8 μmol , 2,00 eq.), 22 μL de una solución

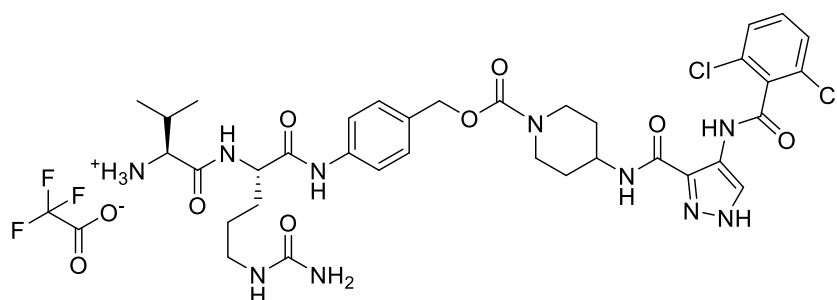
200 mM del enlazador-carga útil conteniendo amino en DMSO seco (4,4 μmol , 1,00 eq.) y 3,9 μL de DIPEA (22 μmol , 5,00 eq.). Se obtuvo el producto como un aceite incoloro después de HPLC preparativa (Método C) y liofilización. (3,6 mg, 1,04 μmol , 23%) MS para $\text{C}_{163}\text{H}_{295}\text{N}_{11}\text{O}_{64}\text{P}^{3+}$ $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$ calc.: 1154,3308, hallado 1154,77

La **Figura 12** muestra un cromatograma de HPLC analítica del compuesto P5(PEG24,PEG24)-VC-PAB-MMAE. El eje horizontal representa el tiempo de retención en minutos.

Procedimiento general para la Síntesis de compuestos enlazadores Valina-Citrulina-PAB- o Valina-Alanina-PAB-Droga

[00459] En un vial con tapa a rosca equipado con una barra agitadora, se disolvieron Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (1,00 eq.) o Fmoc-Val-Ala-PAB-PNP (1,00 eq.), $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1,00 eq.) y la amina deseada (1,00 eq.) en DMF o DMSO. Luego se agregó DIPEA (2,00 eq.) y se agitó la solución durante 1h o hasta completamiento a temperatura ambiente. Luego se agregaron 100 μL de piperidina hasta alcanzar una concentración final de 20% v/v y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H_2O y se sometió a Purificación por HPLC semi-preparativa (30-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H_2O + 0,1% de TFA durante 40 min).

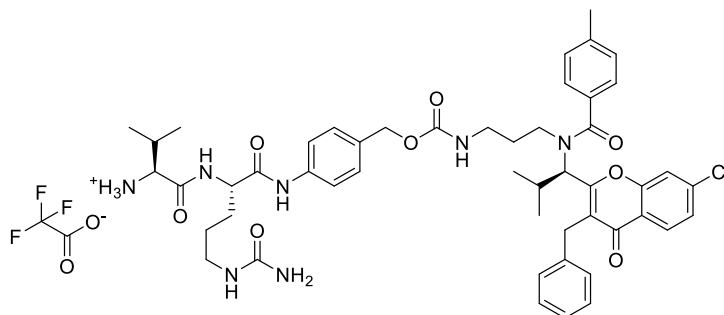
Sal de TFA de NH_2 -VC-PAB-AT7519



[00460] Se sintetizó el compuesto indicado arriba de acuerdo con el procedimiento general para la síntesis del enlazador VC-PAB-droga a partir de 10 mg de Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (13 μmol , 1,00 eq.), 2 mg de $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (13 μmol , 1,00 eq.) y 5 mg de AT7519 (13 μmol , 1 eq.) en 500 μL de DMF y 4,5 μL de DIPEA (26 μmol , 2,00 eq.). Luego se agregaron 100 μL de piperidina hasta alcanzar una concentración final de 20% v/v y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H_2O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (30-90% de MeCN + 0,1% de TFA

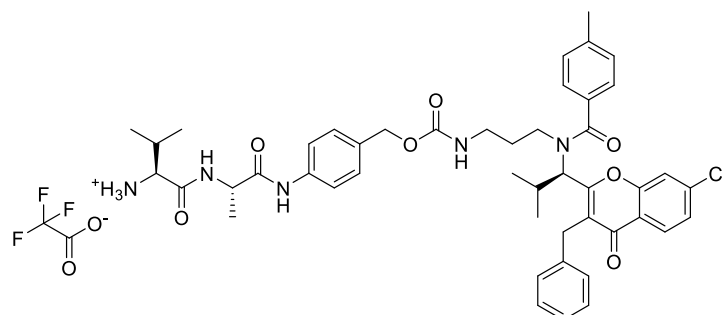
en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (4,5 mg, 5,0 μmol, 38,4%). MS para C₃₅H₄₅Cl₂N₁₀O₇⁺, calc.: 787,28 [M+H]⁺, exp.: 787,19.

Sal de TFA de NH₂-VC-PAB-SB743921



[00461] Se sintetizó el compuesto indicado arriba de acuerdo con el procedimiento general para la síntesis del enlazador VC-PAB-droga a partir de 11,3 mg de Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (14,8 μmol, 1,00 eq.), 1,9 mg de HOBt*H₂O (12,3 μmol, 1,00 eq.) y 6,8 mg de SB743921 (12,3 μmol, 1 eq.) en 500 μL de DMF y 4 μL de DIPEA (24,6 μmol, 2,00 eq.). Luego se agregaron 100 μL de piperidina hasta alcanzar una concentración final de 20% v/v y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H₂O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (30-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (6,4 mg, 6,17 μmol, 41,7%). MS para C₅₀H₆₁ClN₇O₈⁺, calc.: 922,43 [M+H]⁺, exp.: 922,76.

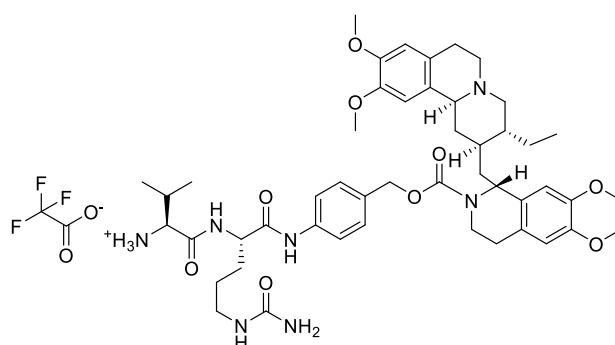
Sal de TFA de NH₂-VA-PAB-SB743921



[00462] Se sintetizó el compuesto indicado arriba de acuerdo con el procedimiento general para la síntesis del enlazador VA-PAB-droga a partir de 10,3 mg de Fmoc-Val-Cit-

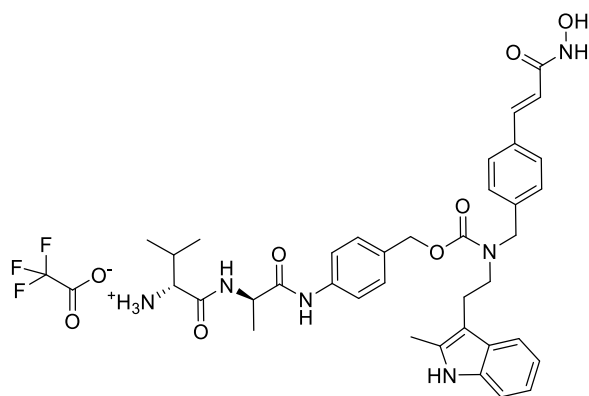
PAB-PNP (13,56 μmol , 1,00 eq.), 1,9 mg de HOBt*H₂O (12,3 μmol , 1,36 eq.) y 5 mg de SB743921 (9,04 μmol , 1 eq.) en 300 μL de DMSO y 4 μL de DIPEA (24,6 μmol , 2,72 eq.). Luego se agregaron 100 μL de piperidina hasta alcanzar una concentración final de 20% v/v y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H₂O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (30-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (5,5 mg, 5,79 μmol , 64,0%). MS para C₄₇H₅₅ClN₅O₇⁺, calc.: 836,3785 [M+H]⁺, exp.: 836,39416.

Sal de TFA de NH₂-VC-PAB-Emetina



[00463] Se sintetizó el compuesto indicado arriba de acuerdo con el procedimiento general para la síntesis del enlazador VC-PAB-droga a partir de 57 mg de Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (74 μmol , 1,20 eq.), 9,4 mg de HOBt*H₂O (61,6 μmol , 1,00 eq.) y 34 mg de Emetina*HCl (61,6 μmol , 1 eq.) en 500 μL de DMF y 21 μL de DIPEA (123 μmol , 2,00 eq.). Luego se agregaron 100 μL de piperidina hasta alcanzar una concentración final de 20% v/v y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H₂O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (30-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (30,5 mg, 30,5 μmol , 41,2%). MS para C₄₈H₆₈N₇O₉⁺, calc.: 886,51 [M+H]⁺, exp.: 886,88.

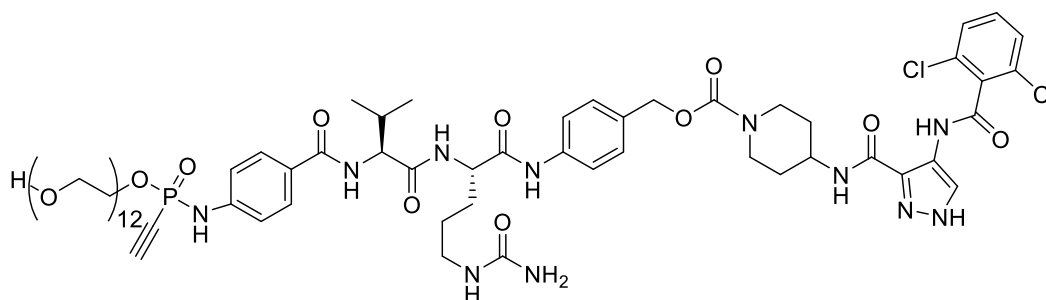
Sal de TFA de NH₂-VA-PAB-Panobinostat



[00464] Se sintetizó el compuesto indicado arriba de acuerdo con el procedimiento general para la síntesis del enlazador VA-PAB-droga a partir de 60 mg de Fmoc-Val-Ala-PAB-PNP (88,14 μmol , 1,54 eq.), 13,5 mg de HOBT $\cdot\text{H}_2\text{O}$ (100 μmol , 1,74 eq.) y 20 mg de Panobinostat (57,2 μmol , 1 eq.) en 300 μL de DMSO y 100 μL de DIPEA (588 μmol , 10,28 eq.). Luego se agregaron 50 μL de piperidina y se agitó la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H_2O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (30-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H_2O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (19,5 mg, 24,9 μmol , 43,5%). MS para $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{N}_6\text{O}_6^+$, calc.: 669,3396 $[\text{M}+\text{H}]^+$, exp.: 669,36175.

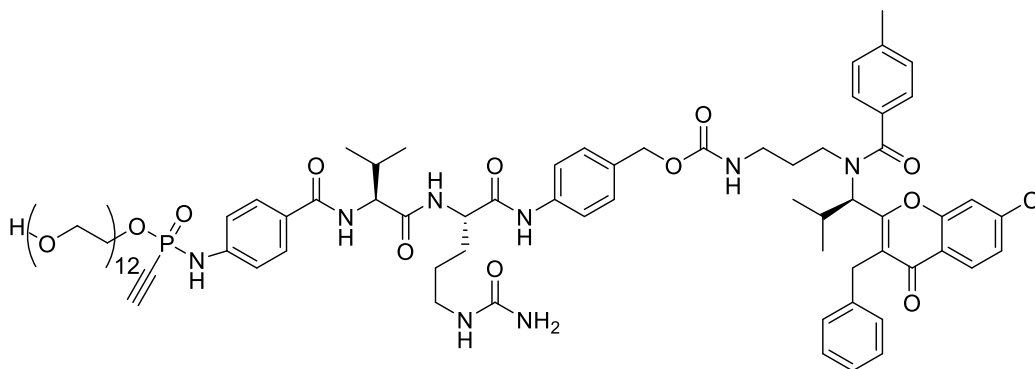
Compuestos P5 con lados de escisión basados en Dipéptidos

P5(PEG12)-VC-PAB-AT7519

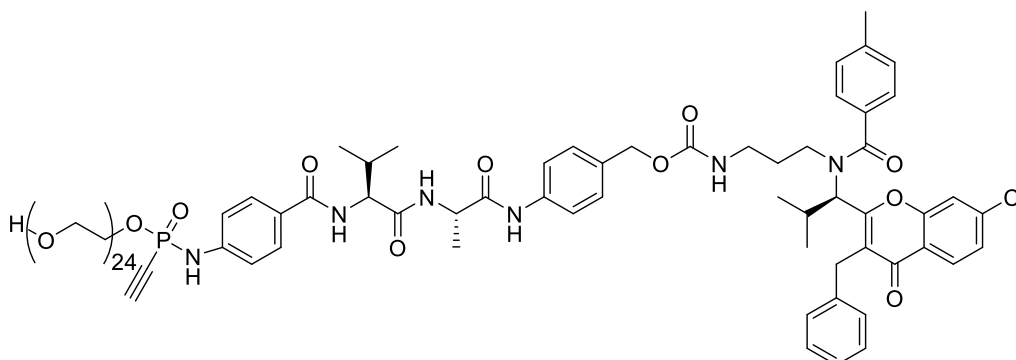


[00465] En un vial con tapa a rosca equipado con una barra agitadora, se disolvieron 4,5 mg de sal de TFA de H_2N -Val-Cit-PAB-AT7519 (5,0 μmol , 1,00 eq.) y 4,8 mg de P5(PEG12)-OSu (5,7 μmol , 1,14 eq.) en 500 μL de DMSO. Se agregaron 4 μL de DIPEA (22,8 μmol , 4,56 eq.) y se agitó la solución durante la noche a temperatura ambiente. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 30% en H_2O y se sometió a purificación por HPLC semi-

P5(PEG12)-VC-PAB-SB743921



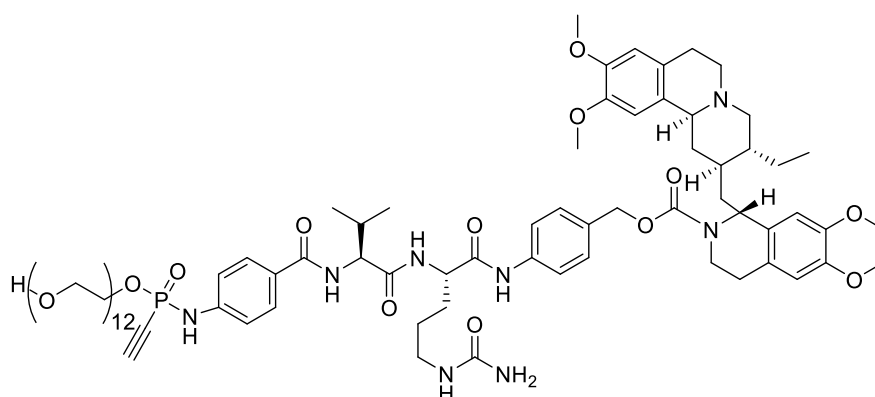
P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921



219

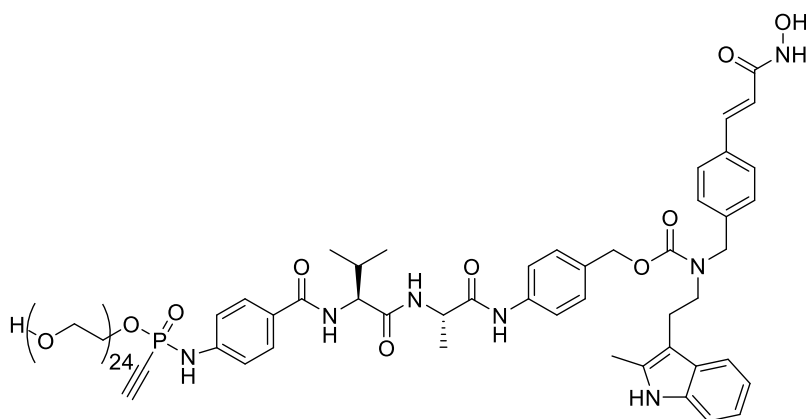
P5(PEG24)-OSu (6,8 μmol , 1,2 eq.) en 500 μl de DMSO. Se agregaron 3 μL de DIPEA (17,2 μmol , 3,02 eq.) y se agitó la solución durante la noche a 50°C. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 40% en H₂O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (40-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (8,79 mg, 4,27 μmol , 74,9%). HRMS C₁₀₄H₁₅₈ClN₆O₃₄P²⁺ calc.: 1051,0134 [M+H]⁺, exp.: 1051,01605.

P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina



[00468] En un vial con tapa a rosca equipado con una barra agitadora, se disolvieron 10,3 mg de sal de TFA de H₂N-Val-Cit-PAB-Emetina (10,3 μmol , 1,00 eq.) y 12 mg de P5(PEG12)-OSu (14 μmol , 1,36 eq.) en 500 μl de DMSO. Se agregaron 5 μL de DIPEA (28 μmol , 2,72 eq.) y se agitó la solución durante la noche a 50°C. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 40% en H₂O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (40-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (9,37 mg, 5,78 μmol , 456,1%). HRMS C₈₁H₁₂₂N₈O₂₄P⁺ calc.: 1621,8304 [M+H]⁺, exp.: 1621,8298.

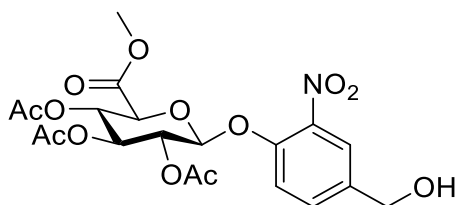
P5(PEG24)-VA-PAB-Panobinostat



[00469] En un vial con tapa a rosca equipado con una barra agitadora, se disolvieron 3,9 mg de sal de TFA de NH₂-VA-PAB-Panobinostat (5 µmol, 1,00 eq.) y 8,2 mg de P5(PEG24)-OSu (6 µmol, 1,2 eq.) en 500 µl de DMSO. Se agregaron 3 µL de DIPEA (17,2 µmol, 3,44 eq.) y se agitó la solución durante la noche a 50°C. Se diluyó la solución con 3 ml de MeCN 40% en H₂O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa (40-90% de MeCN + 0,1% de TFA en H₂O + 0,1% de TFA durante 40 min). Se obtuvo el compuesto deseado como un sólido blanco después de liofilización. (2,51 mg, 1,30 µmol, 26,0%). HRMS C₉₄H₁₄₈N₇O₃₃P²⁺ calc.: 967,4939 [M+2H]⁺, exp.: 967,5337.

Lados de escisión basados en ácido glucurónico

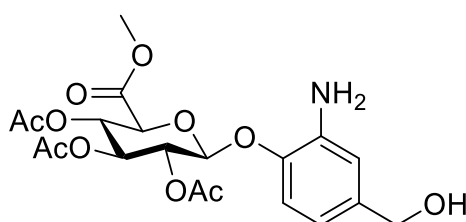
(3-nitro-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopirranurónico)fenil)metanol



[00470] Se sintetizó 4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopirranurónico)-3-nitrobenzaldehído de acuerdo con un procedimiento publicado previamente (ver, por ej., Walther et al., “*Combating implant-associated biofilms through localized drug synthesis*”, Journal of Controlled Release 287 (2018) 94-10s, doi: 10.1016/j.jconrel.2018.08.025) y se utilizó a continuación como se describe. En un matraz secado a la llama se disolvió el derivado de aldehído (207 µmol, 1,0 eq) en CHCl₃/i-PrOH (2,0 mL/0,5 mL) y se enfrió a 0°C bajo una atmósfera de N₂. Luego se agregó gel de sílice (100 mg) y se dejó en agitación durante 10 min. Se agregó NaBH₄ (0,414 mmol, 2,0 eq) en una

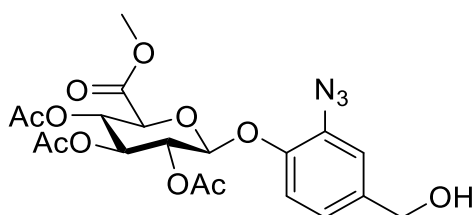
cucharada. Se monitoreó la reacción mediante TLC. La reacción se completaba usualmente dentro de los 30-45 min, en caso contrario, se agregaba NaBH₄ adicional (0,23 mmol, 1,0 eq). Después de completamiento, se diluyó la reacción con CH₂Cl₂ y se filtró sobre un lecho de Celite®, y se lavó con CH₂Cl₂ varias veces. Se lavó el filtrado con salmuera (3 x 20 mL), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se separó el solvente bajo presión reducida. Se aisló el producto como un sólido blancuzco (96 mg, 198 μmol, 95,7%). ¹H RMN (600 MHz, Cloroformo-d) δ 7,89 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,61 (dd, J = 8,6, 2,2 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 5,51 – 5,31 (m, 3H), 5,27 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 4,80 (s, 2H), 4,28 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,13 (s, 3H). ¹³C RMN (151 MHz, CDCl₃) δ 172,75, 172,04, 172,02, 169,45, 150,91, 144,08, 140,07, 134,64, 125,94, 123,04, 102,65, 79,95, 79,74, 79,52, 75,29, 73,88, 72,95, 71,49, 66,20, 55,78, 55,44, 23,27, 16,92.

(3-amino-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiranurónico)fenil)metanol



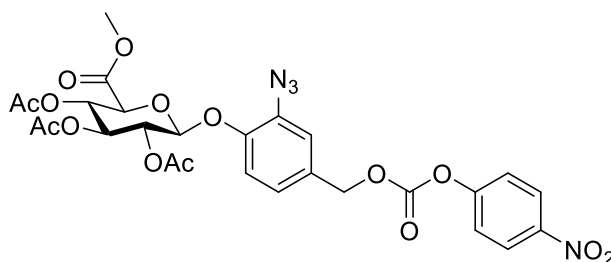
[00471] Se disolvieron 890 mg del compuesto (3-nitro-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiranurónico)fenil)metanol (1,8 mmol) en MeOH con un poco de EtOAc. En un matraz barrido con argón, se colocaron 200 mg de Pd-C y se suspendieron en MeOH/EtOAc que contenía (3-nitro-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiranurónico)fenil)metanol. La suspensión se agitó vigorosamente. Se evacuó el matraz utilizando una bomba de vacío y se barrió tres veces con argón. Luego se reemplazó el balón de argón con un balón de H₂ y la suspensión fue nuevamente evacuada y luego barrida con H₂ tres veces. Se dejó la suspensión en agitación durante la noche. Se separaron los sólidos mediante filtración a través de celite y se concentró el filtrado bajo presión reducida para brindar el compuesto del título (733 mg, 1,61 mmol, 90%). ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ 6,87 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 6,52 (dd, J = 8,2, 2,0 Hz, 1H), 5,54 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 5,46 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,25 – 5,10 (m, 2H), 5,03 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,38 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 3,71 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,07 (s, 6H). ¹³C RMN (151 MHz, DMSO) δ 172,68, 172,66, 172,48, 170,36, 145,36, 141,36, 118,93, 117,64, 116,54, 102,08, 74,09, 74,06, 74,02, 72,27, 65,97, 55,76, 51,78, 23,75, 23,68, 23,50, 23,40.

(3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiranurónico)fenil)metanol



[00472] Se cargó un matraz de 500 ml de fondo redondo con 733 mg de (3-amino-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopiránurónico)fenil)metanol (1,61 mmol), suspendido en 2,5 mL de agua y se enfrió a 0°C. Se agregaron 800 μ L de HCl acuoso concentrado, seguido por adición de a gotas de solución de 167 mg de nitrito de sodio (2,4 mmol, 1,50 eq.) en 1,5 mL de agua. Se agitó la mezcla durante 20 min a 0 °C, se agregaron 15 mL de EtOAc y se agregó de a gotas una solución de 157 mg de azida de sodio (2,4 mmol, 1,5 eq.) en 750 μ L de agua. Se dejó que la solución se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante una hora más. Se separaron las fases, se extrajo la fase acuosa dos veces con EtOAc, las fracciones orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua, se secaron (MgSO_4) y se separaron los componentes volátiles bajo presión reducida, brindando 718 mg del compuesto del título (1,5 mmol, 92,7%). ^1H RMN (600 MHz, Cloroformo-*d*) δ 7,18 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,15 – 7,11 (m, 2H), 5,44 – 5,37 (m, 2H), 5,36 – 5,32 (m, 1H), 5,14 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 4,70 (s, 2H), 4,23 – 4,16 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,11 (s, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, CDCl_3) δ 173,91, 172,84, 171,98, 169,52, 150,32, 140,63, 133,39, 126,73, 121,96, 102,91, 79,97, 79,76, 79,55, 75,35, 74,51, 73,59, 71,79, 71,64, 66,94, 63,13, 55,71, 25,40, 23,32, 16,90, 16,82.

(4-nitrofenil)carbonato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopiránurónico)bencilo)



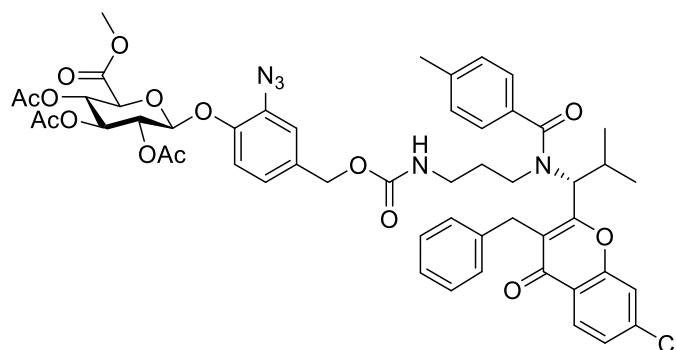
[00473] Se disolvieron 718 mg de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopiránurónico)fenil)metanol (1,5 mmol) en 8,5 mL de DMF y se agregaron 912 mg de carbonato de bisnitrofenilo (3 mmol) junto con 523 μ L de DIPEA (3 mmol). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con DCM. Se lavó la solución orgánica

con salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se evaporó a sequedad. La coevaporación con tolueno separó la DMF residual. Se purificó el producto crudo en cromatografía en columna de sílice (hexano/EtOAc 2:1 a 1:1) y brindó 553 mg del compuesto del título (0,856 mmol, 57%). ^1H RMN (600 MHz, Cloroformo- d) δ 8,30 (dd, $J = 8,8, 1,2$ Hz, 2H), 7,40 (dd, $J = 8,9, 1,2$ Hz, 2H), 7,28 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 7,22 – 7,12 (m, 3H), 5,41 – 5,29 (m, 3H), 5,24 (s, 2H), 5,17 (dd, $J = 7,2, 1,0$ Hz, 1H), 4,27 – 4,10 (m, 2H), 3,77 (d, $J = 1,0$ Hz, 3H), 2,12 (d, $J = 1,0$ Hz, 3H), 2,08 (d, $J = 1,0$ Hz, 3H), 2,07 (d, $J = 1,0$ Hz, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, CDCl_3) δ 170,09, 169,29, 169,15, 166,71, 155,40, 152,34, 148,94, 145,49, 130,91, 130,86, 118,82, 99,76, 77,22, 77,01, 76,80, 72,72, 71,70, 70,86, 69,84, 68,95, 60,38, 53,03, 21,04, 20,63, 20,60, 20,49, 14,20. HRMS $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{KN}_4\text{O}_{15}^+$ calc.: 685,1026 $[\text{M}+\text{H}]^+$, exp.: 685,1028.

Procedimiento General para la Síntesis de carbamatos de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopirranurónico)bencilo)

[00474] Se colocó (4-nitrofenil)carbonato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopirranurónico)bencilo) (1,2 equivalentes) en un frasco con forma de pera y se colocó en atmósfera de argón. Se disolvió la amina deseada (1 equivalente) en DMF seca (60 $\mu\text{mol}/\text{mL}$) y se agregó al (4-nitrofenil)carbonato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopirranurónico)bencilo) para disolver todo. Se agregaron HOBt (0,1 equivalentes) y DIPEA (2,3 equivalentes) y se agitó la reacción durante 1 hora a temperatura ambiente o hasta completamiento. Se separó la DMF en un Rotavap y se disolvió el residuo en 40% de MeCN en H_2O y se sometió a purificación mediante HPLC semi-preparativa.

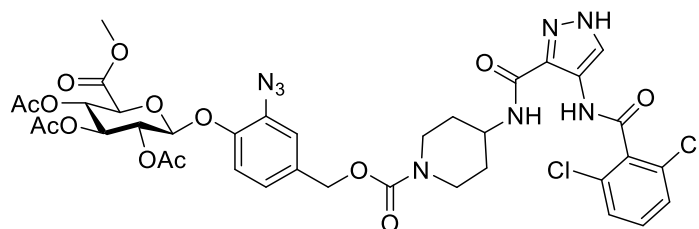
Carbamato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopirranurónico)bencilo) SB743921



[00475] Se sintetizó el compuesto indicado arriba siguiendo el procedimiento general para la síntesis de carbamatos de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopirranurónico)bencilo) a partir de 10 mg de SB743921 (18 μmol), 14 mg de (4-nitrofenil)

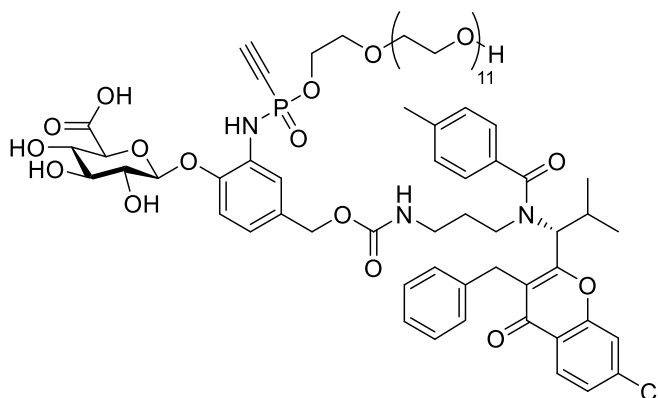
carbonato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiránurónico)bencilo) (21,6 μmol), 1,8 μL de solución de HOBt (1 M en DMSO) y 7,3 μL de DIPEA. Se aislaron 12,3 mg del compuesto del título (12 μmol, 67%).

Carbamato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiránurónico)bencilo) AT7519



[00476] Se sintetizó el compuesto indicado arriba siguiendo el procedimiento general para la síntesis de carbamatos de bencilo a partir de 8,8 mg de AT7519 (23,2 μmol), 15 mg de (4-nitrofenil)carbonato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiránurónico)bencilo) (23,2 μmol), 2,3 μL de solución de HOBt (1 M en DMSO) y 8 μL de DIPEA. Se aislaron 11,7 mg del compuesto del título (13,2 μmol, 56,7%). HRMS C₃₇H₃₉Cl₂N₈O₁₄⁺ calc.: 889,1957 [M+H]⁺, exp.: 889,1942.

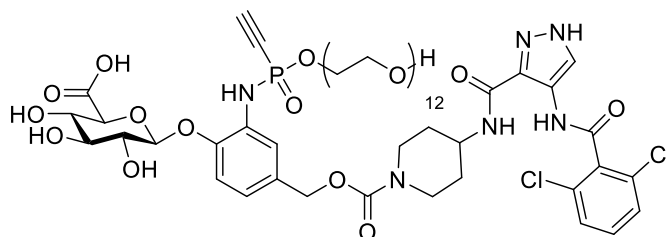
P5(PEG12)-GlcA-SB743921



[00477] Se disolvieron 12,3 mg de carbamato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-glucopiránurónico)bencilo) SB743921 (12 μmol) en 1 mL de MeOH y se agregaron 4,4 mg de LiOH (104 μmol) disueltos en 1 mL de H₂O. Se agitó la reacción durante 15 min a 0°C y luego se neutralizó utilizando ácido acético (8 μL). Se evaporaron los solventes y se secó al vacío. Se colocó el residuo bajo atmósfera de argón y se disolvió en 500 μL de

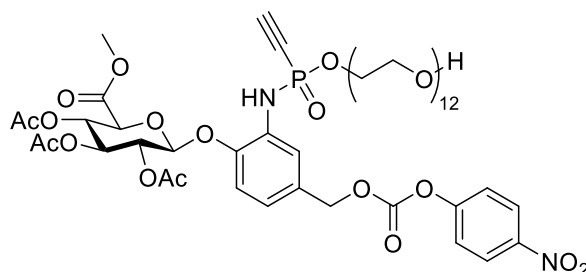
DMF. Luego se agregaron 214 μL de di-(dodecaetilenglicol)etinilfosfonita (24 μmol , 111 μM en THF/MeCN) recién preparada y se agitó durante 24h. Se evaporaron los solventes y el producto crudo se disolvió en MeCN 40% en H_2O y se sometió a purificación mediante HPLC semi-preparativa. Se aislaron 2,2 mg del compuesto arriba indicado (1,5 μmol , 12,5%).

P5(PEG12)-GlcA-AT7519



[00478] Se disolvieron 11,7 mg de carbamato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopiranurónico)bencilo AT7519 (13,2 μmol) en 1 mL de MeOH y se agregaron 4,8 mg de LiOH (114,4 μmol) disueltos en 1 mL de H_2O . Se agitó la reacción durante 15 min a 0 °C y luego se neutralizó utilizando ácido acético (8 μL). Se evaporaron los solventes y se secó al vacío. Se colocó el residuo bajo atmósfera de argón y se disolvió en 500 μL de DMF. Luego se agregaron 180 μL de Di-(dodecaetilenglicol)etinilfosfonita (19,8 μmol , 111 μM en THF/MeCN) recién preparada y se agitó durante 24h. Se evaporaron los solventes y el producto crudo se disolvió en MeCN 40% en H_2O y se sometió a purificación mediante HPLC semi-preparativa. Se aislaron 2,73 mg del compuesto arriba indicado (2,04 μmol , 15%).

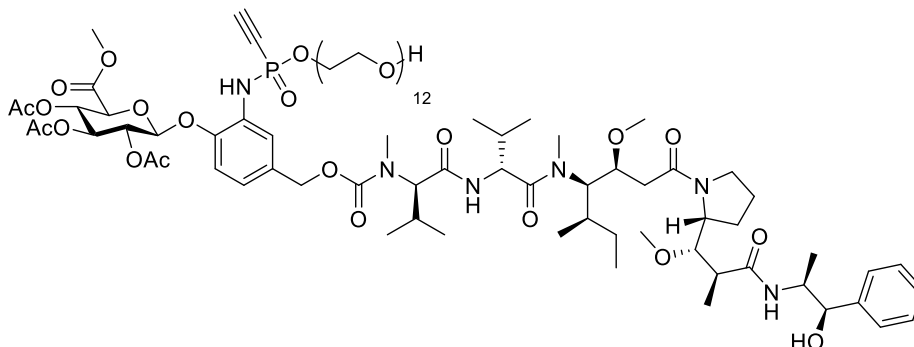
(4-nitrofenil)carbonato de (3-O-dodecaetilenglicol-P-etinil-fosforamidato-4-(éster metílico de ácido 2,3,4-tri-O-acetil β -D-glucopiranurónico)bencilo)



[00479] Se colocaron 31,3 mg de (4-nitrofenil)carbonato de (3-azido-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopiranurónico)bencilo (48,5 μmol) en un matraz de fondo redondo con forma de pera y se disolvió en 1 mL de DMF, se agregaron 520 μL de Di-

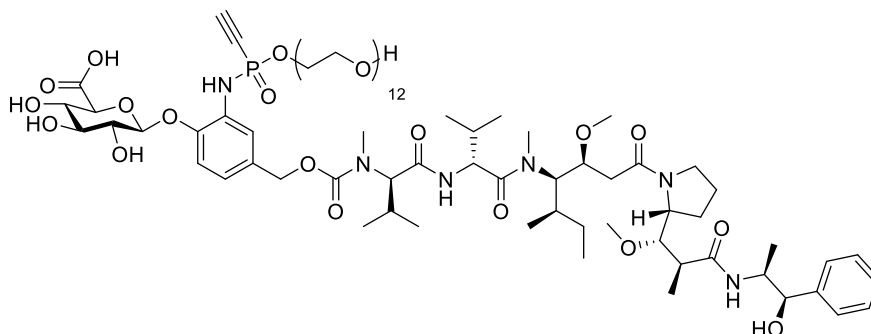
(dodecaetilenglicol)etnilfosfonita (58,2 μmol , 111 μM en THF/MeCN) recién preparada y se agitó durante 24h. Se evaporaron los solventes y se disolvió el producto crudo en MeCN 40% en H_2O y se sometió a purificación mediante HPLC semi-preparativa. Se aislaron 12 mg del compuesto arriba indicado (9,7 μmol , 20%).

MMAE carbamato de (3-O-dodecaetilenglicol-P-etnil-fosforamidato-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil β -D-glucopiránurónico)bencilo)



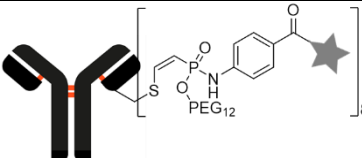
[00480] Se colocó (4-nitrofenil)carbonato de (3-O-dodecaetilenglicol-P-etnil-fosforamidato-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil β -D-glucopiránurónico)bencilo (1,00 equivalentes) en un matraz con forma de pera y colocado bajo atmósfera de argón y se disolvió en 500 μL de DMF. Se agregaron 10 μL de una solución de MMAE (10 μmol , 1M en DMSO, 1,1 equivalentes) seguido por 1 μL de HOBt (1 μmol 0,1 equivalentes) y 3,5 μL de DIPEA (2,3 equivalentes). Se agitó la reacción durante 1 hora a temperatura ambiente. Se separó la DMF en el Rotavap y se disolvió el residuo en MeCN 40% en H_2O y se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa para brindar 4,7 mg del compuesto del título (2,6 μmol , 26,7%)

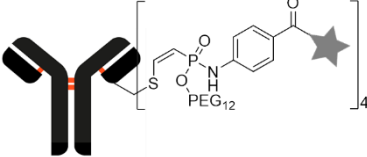
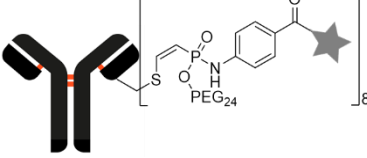
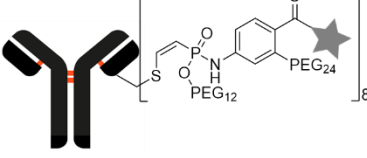
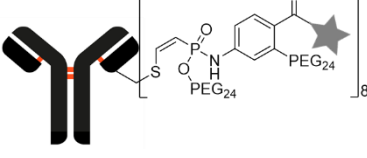
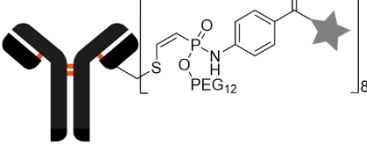
P5(PEG12)-GlcA-MMAE

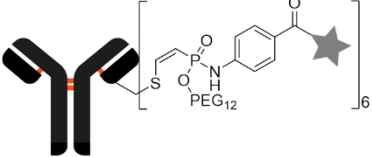
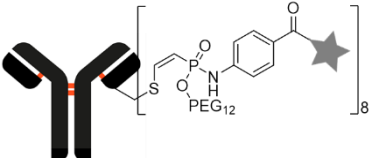
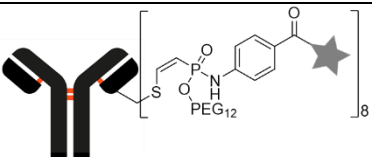


[00481] Se colocaron 4,7 mg de MMAE carbamato de (3-O-dodecaetilenglicol-P-etinil-fosforamidato-4-(éster metílico del ácido 2,3,4-tri-O-acetil β-D-glucopiranurónico)bencilo en un matraz con forma de pera y se disolvieron en 100 µL de MeOH, se agregaron 100 µL de una solución de LiOH (104,8 mM en H₂O, 10,4 µmol) y se agitó la reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregaron 3 mL de MeCN 40% en H₂O con TFA 0,1%, la mezcla se sometió a purificación por HPLC semi-preparativa para brindar 2,47 mg del compuesto del título (1,47 µmol, 57%).

Ejemplo 2: Datos analíticos para los Materiales de Partida de los ADC y Anticuerpos Sintetizados

Anticuerpo/ADC	SEC Analítica	HIC Analítica	Análisis MS del DAR8, DAR completamente conjugado
 Trastuzumab	Ver Figura 13	Ver Figura 14	LC: calc.: 23439 hallado: 23438 HC: calc.: 49146 hallado: 49149
 Brentuximab	Ver Figura 15	Ver Figura 16	LC: calc.: 23724 hallado: 23724 HC: calc.: 48878 hallado: 48877
 Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE	Ver Figura 17	Ver Figura 18	DARprom:8,0 LC: calc.: 25582 hallado: 25583 HC: calc.: 54452 hallado: 54454

 Brentuximab-P5(PEG12)- VC-PAB-MMAE	Ver Figura 19		DARprom: 4,0 LC: calc.: 25528 hallado: 25583 HC: calc.: 54452 hallado: 54454
 Brentuximab-P5(PEG24)- VC-PAB-MMAE	Ver Figura 20	Ver Figura 21	DARprom: 8,0 LC: calc.: 26111 hallado: 26110 HC: calc.: 56039 hallado: 56040
 Brentuximab-P5(PEG12, PEG24)-VC-PAB-MMAE	Ver Figura 22	Ver Figura 23	DARprom: 8,0 LC: calc.: 26655 hallado: 26655 HC: calc.: 57672 hallado: 57673
 Brentuximab-P5(PEG24, PEG24)-VC-PAB-MMAE	Ver Figura 24	Ver Figura 25	DARprom: 8,0 LC: calc.: 27183 hallado: 27184 HC: calc.: 59261 hallado: 59260
 Brentuximab-P5(PEG12)- VC-PAB-MMAF		Ver Figura 26	DARprom: 8,0

 Brentuximab-P5(PEG12)- Cy5			DARprom: 5,9 LC: calc.: 24941 hallado: 24942 HC: calc.: 52528 hallado: 52529
 Trastuzumab-P5(PEG12)- VC-PAB-MMAE	Ver Figura 27	Ver Figura 28	DARprom: 8,0 LC: calc.: 25297 hallado: 25298 HC: calc.: 54720 hallado: 54728
 Trastuzumab -P5(PEG12)- VC-PAB-MMAF	Ver Figura 29	Ver Figura 30	DARprom: 8,0

DARprom significa la proporción droga-a-anticuerpo promedio. LC: Masa de la cadena liviana; HC: Masa de la cadena pesada

[00482] La **Figura 13** muestra un cromatograma de SEC analítica de Trastuzumab. SEC significa cromatografía de exclusión de tamaño.

[00483] La **Figura 14** muestra un cromatograma de HIC analítica de Trastuzumab. HIC significa cromatografía de interacción hidrofóbica.

[00484] La **Figura 15** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab.

[00485] La **Figura 16** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab.

[00486] La **Figura 17** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE.

[00487] La **Figura 18** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE.

[00488] La **Figura 19** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE.

[00489] La **Figura 20** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[00490] La **Figura 21** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[00491] La **Figura 22** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG12, PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[00492] La **Figura 23** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG12, PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[00493] La **Figura 24** muestra un cromatograma de SEC analítica de Brentuximab-P5(PEG24, PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[00494] La **Figura 25** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG24, PEG24)-VC-PAB-MMAE.

[00495] La **Figura 26** muestra un cromatograma de HIC analítica de Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF.

[00496] La **Figura 27** muestra un cromatograma de SEC analítica de Trastuzumab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE.

[00497] La **Figura 28** muestra un cromatograma de HIC analítica de Trastuzumab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE.

[00498] La **Figura 29** muestra un cromatograma de SEC analítica de Trastuzumab - P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF.

[00499] La **Figura 30** muestra un cromatograma de HIC analítica de Trastuzumab - P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF.

[00500] Los cromatogramas de SEC (SEC = cromatografía de exclusión de tamaño) muestran que los conjugados exhiben baja a sustancialmente ninguna agregación. Los datos de la SEC muestran ADC altamente monoméricos, con menos de 5% de agregados después de purificación en todas las variantes ensayadas. En combinación con elevados rendimientos de conjugación, típicamente en el rango de 80-90% en base a la determinación de la concentración de anticuerpo antes y después del proceso de conjugación, esto muestra claramente que solo se forman porcentajes menores de agregados durante el proceso de conjugación, cuando se utiliza la tecnología de conjugación con P5 descrita en la presente.

[00501] Los cromatogramas de la HIC (HIC = cromatografía de interacción hidrofóbica) muestran que los conjugados exhiben una buena hidrofiliidad, combinada con excelente homogeneidad de sólo una especie principal de ADC DAR8 formada durante el proceso de conjugación.

Ejemplo 3: Conjugación de Anticuerpos con Etinilfosforamidatos PEGilados

- La modificación de anticuerpos con Etinilfosforamidatos puede llevarse a cabo de manera general en una simple reacción en un recipiente con TCEP (como se ha descrito previamente, por ej., en Kasper et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2019, 58, 11631-11636).
- Los inventores observaron en general que las cadenas de PEG más largas permiten utilizar menos equivalentes de los derivados enlazador-carga útil citotóxicos y costosos para lograr un ADC etiquetado DAR 8 ("DAR" significa proporción droga a anticuerpo). Esto es más difícil para el derivado PEG2 (ejemplo de referencia).
- Una posible razón es que, la reacción de conjugación con el anticuerpo podían llevarse a cabo a mayores concentraciones en el medio de reacción acuoso.
- Los resultados del experimento de relevamiento para hallar las condiciones óptimas para la generación de un ADC DAR 8 pueden hallarse en la **Figura 31**. Solo un muy

leve exceso de enlazador-carga útil es necesario para generar un ADC DAR 8 completamente modificado.

[00502] La **Figura 31** muestra un experimento de relevamiento para identificar las condiciones óptimas para modificaciones de anticuerpos con fosforamidatos PEGilados. La proporción Droga a Anticuerpo (DAR) fue medida mediante MS. Gráfico de la izquierda: 10 eq. de P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE se utilizaron bajo las condiciones antes mencionadas y se variaron los equivalentes de TCEP. Se alcanzó un grado máximo de modificación con 8 equivalentes de TCEP. Gráfico de la derecha: Esos 8 equivalentes se llevaron a cabo en un segundo experimento en el cual los equivalentes de P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE fueron incrementados con el objeto de lograr un DAR máximo de 8. Se identificaron las condiciones óptimas para lograr DAR8 como 8 eq. de TCEP y 12 eq. de P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE con respecto al anticuerpo (= solamente 1,5 eq. por cada Cys).

- Se sintetizaron conjugados Brentuximab-P5-VC-PAB-MMAE con diferentes longitudes de cadena de PEG y se analizaron adicionalmente en cuanto a hidrofiliidad mediante Cromatografía de Interacción Hidrofóbica (HIC) (**Figura 32**).

[00503] La **Figura 32** muestra una Cromatografía de Interacción Hidrofóbica de Brentuximab conjugado con P5(PEG2)-, P5(PEG12)- y P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE en comparación directa con Adcetris comercialmente disponible (Brentuximab-Maleimidocapril-VC-PAB-MMAE, DAR4prom, negro).

- Adcetris comercialmente disponible está conjugado con un promedio de 4 moléculas MC-VC-PAB-MMAE por cada Brentuximab y consiste en una Mezcla de DAR0, DAR2, DAR4, DAR6 y DAR8. Adcetris (Brentuximab-vedotina) se eligió como referencia ya que está aprobado y comercializado para tratamiento de linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés) relapsado o refractario y linfoma de células grandes anaplásicas sistémicas (ALCL, por sus siglas en inglés), un tipo de linfoma de no Hodgkin de células T. Adcetris tiene una proporción promedio de droga a anticuerpo de 4.
- P5(PEG12)- y P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE pueden utilizarse para sintetizar ADC DAR8 altamente homogéneos (solamente un Pico agudo en el cromatograma).

- Las especies DAR 8 están desplazadas a tiempos de retención más breves (= más polar) cuanto más larga la cadena de PEG. La polaridad de Brentuximab-P5-VC-PAB-MMAE DAR8 es igual a la polaridad de las especies DAR5 de Adcetris.
- Las trazas de PEG12 y PEG 24 muestran el patrón deseado de una especie principal aguda para DAR8. En contraste, el derivado PEG2 (ejemplo de referencia) es muy amplio con dos picos extra para DAR7 y DAR6, posiblemente debido a insuficiente solubilidad en el proceso de conjugación.
- Se analizaron Dual-PEG-ADC en concordancia (**Figura 33**). Las cadenas de PEG adicionales desplazan adicionalmente el ADC hacia menores tiempos de retención.

[00504] La **Figura 33** muestra una Cromatografía de Interacción Hidrofóbica de Brentuximab conjugado con P5(PEG24,PEG12)-, P5(PEG24,PEG24)- y P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE en comparación directa con Adcetris comercialmente disponible (Brentuximab-Maleimidocapril-VC-PAB-MMAE, DAR4prom, negro).[#] Picos adicionales, no identificados.

- Los ensayos de almacenamiento sugieren una muy buena estabilidad. No se formaron agregados y no se observa pérdida de carga útil durante almacenamiento a largo plazo (**Figura 34**)

[00505] La **Figura 34** muestra una Cromatografía de Exclusión de Tamaño Analítica (SEC) (izquierda) y HIC (derecha) después de almacenamiento de un Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE DAR 8 durante varias semanas. No eran visibles agregados en la SEC y ninguna pérdida de droga en la HIC.

Ejemplo 4: Evaluación de la Citotoxicidad *in vitro* de los Constructos

- Los ADC, descritos en el último párrafo, fueron evaluados en cuanto a la potencia *in vitro* en líneas celulares positivas para antígeno (dianas) y negativas para antígeno (no dianas).
- Se observó selectividad para la línea celular positiva para antígeno para todos los constructos ensayados.

[00506] La **Figura 35** muestra la citotoxicidad *in vitro* de ADC de Brentuximab (anti-CD30) en una línea celular positiva para antígeno (Karpas 299, izquierda) y una línea celular negativa para antígeno (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de 3 diferentes ADC

DAR8 que solamente difieren en la longitud del sustituyente PEG (PEG2 vs. PEG12 vs. PEG24) contra Brentuximab no modificado.

- La longitud de las cadenas de PEG no tiene influencia en la citotoxicidad de los constructos.

[00507] La **Figura 36** muestra la citotoxicidad *in vitro* de los ADC de Brentuximab (anti-CD30) en una línea celular positiva para antígeno (Karpas 299, izquierda) y una línea celular negativa para antígeno (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de Brentuximab-P5(PEG24)-vc-PAB-MMAE (DAR8) contra Adcetris comercial (DAR4).

- Brentuximab-P5(PEG24)-vc-PAB-MMAE (DAR8) es más potente que Adcetris comercial

[00508] La **Figura 37** muestra la toxicidad *in vitro* de los ADC de Brentuximab (anti-CD30) en una línea celular positiva para antígeno (Karpas 299, izquierda) y una línea celular negativa para antígeno (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de Brentuximab-P5(PEG24)-vc-PAB-MMAE, modificado con 4 (DAR4) u 8 (DAR8) moléculas de enlazador-carga útil por cada anticuerpo.

- Los constructos de Brentuximab-P5(PEG24)-vc-PAB-MMAE DAR8 son más potentes que DAR4, probablemente debido a la mayor carga de droga.

[00509] La **Figura 38** muestra la citotoxicidad *in vitro* de los ADC de Brentuximab (anti-CD30) en una línea celular positiva para antígeno (Karpas 299, izquierda) y una línea celular negativa para antígeno (HL-60, derecha). Se muestra una comparación de Brentuximab-P5(PEG12)-vc-PAB-MMAE (DAR8) versus el mismo constructo, que lleva una carga útil de MMAF.

- El constructo de MMAF es más potente que el correspondiente constructo de MMAE.

[00510] La **Figura 39** muestra la citotoxicidad *in vitro* de los ADC de Trastuzumab (anti-Her2) en una línea celular positiva para antígeno (SKBR3, izquierda) y una línea celular negativa para antígeno (MDAMB, derecha). Se muestra una comparación de Trastuzumab-P5(PEG12)-vc-PAB-MMAF (DAR8) versus Trastuzumab no modificado.

- Los ADC basados en P5(PEG12)-VC-PAB-MMAF también funcionan en una configuración basada en Her2 utilizando células cancerosas de tumor sólido positivas para Her2.

Ejemplo 5: Efecto Espectador *in vitro*

- Se asumió que un problema de los sustituyentes PEG largos podría surgir de bloqueo estérico de los lados de escisión VC-PAB, conduciendo a una insuficiente liberación de MMAE dentro de la célula.
- Como el MMAE no escindido es aún potente, este efecto no puede ser evaluado en un simple ensayo de mortandad celular, como se describe más arriba.
- Pero la escisión es necesaria para inducir un efecto espectador, el cual es la mortandad de células vecinas no diana.
- En consecuencia, los inventores diseñaron un experimento en donde se incubaron células diana (L-540) con diferentes constructos VC-PAB-MMAE PEGilados, y se trataron células no diana (HL60) con el sobrenadante del cultivo de L-540. Las células HL60 solo pueden ser matadas por MMAE liberado en este diseño.
- Sorprendentemente, no hubo una diferencia visible en el efecto Espectador para todos los constructos ensayados, lo que sugiere que la escisión de VC-PAB mediada por cathepsina B no se deteriora por los sustituyentes de PEG largos.

[00511] La **Figura 40** muestra la evaluación del efecto espectador en dependencia de los constructos Brentuximab-P5-VC-PAB-MMAE diferentemente Pegilados. Parte superior izquierda: La citotoxicidad *in vitro* de los ADC de Brentuximab (anti-CD30) en dos líneas celulares positivas para antígeno (Karpas 299, izquierda y L-540, derecha) y una línea celular negativa para antígeno (HL-60, parte inferior izquierda). La transferencia del sobrenadante después de incubación de L-540 con los ADC a las HL-60 se realizó con el fin de evaluar el efecto de mortandad de espectadoras (HL60, parte inferior derecha).

Ejemplo 6: Evaluación *in vivo* de los Constructos

- Se evaluó Brentuximab(PEG12)-VC-PAB-MMAE en un estudio de eficacia *in vivo* en una versión de DAR4 y de DAR8.

- La DAR4 ya muestra un efecto superior respecto de Adcetris comercial a la misma dosis y cargas útiles iguales.
- La DAR 8 puede aumentar más este efecto. Sorprendentemente, esto conduce a remisión completa del tumor en el 90% de los ratones tratados.

[00512] La **Figura 41** muestra la evaluación *in vivo* de Brentuximab-(PEG12)-VC-PAB-MMAE (DAR8 y DAR4), Adcetris (DAR4) y un control no tratado en modelo de xenoinjerto de tumor basado en Karpas299 en ratones SCID con 10 animales por grupo. Se trataron ratones con 0,5 mg/kg de los constructos cuatro veces, cada cuatro días. El gráfico de la izquierda muestra el volumen tumoral medio para todos los 10 ratones por grupo. Se llevó a cabo el último punto de observación de los animales sacrificados (LOCF, por sus siglas en inglés). El gráfico de la derecha muestra el diagrama de Kaplan-Meier de supervivencia en cada grupo.

Ejemplo 7: Evaluación de la Farmacocinética *in vivo* de los Constructos

- Se realizaron experimentos PK (farmacocinética) *in vivo* con Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE en comparación directa con Adcetris.
- Se trataron ratas Sprague Dawley hembras con 5 mg/kg de Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE o Adcetris, un ADC aprobado para el tratamiento de linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés) relapsado o refractario y linfoma de células grandes anaplásico sistémico (ALCL, por sus siglas en inglés), como comparación.
- Se realizó el muestreo sanguíneo después de diferentes puntos de tiempo y se cuantificó la cantidad de ADC en un ensayo ELISA de anticuerpo Brentuximab total.

[00513] La **Figura 42** muestra la cuantificación mediante ELISA de la cantidad de anticuerpo total en la circulación sanguínea después de tratamiento de ratas Sprague-Dawley hembra con Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE o con Adcetris.

- Los datos del experimento muestran claramente un buen comportamiento PK del conjugado de acuerdo con una forma de realización de la invención a pesar de la elevada proporción de droga a anticuerpo (DAR) de 8 con una razonable tasa de eliminación (*clearance*), especialmente cuando se compara con Adcetris aprobado que tiene una DARprom de solamente 4.

- Adicionalmente: Brentuximab-P5(PEG24)-VC-PAB-MMAE mostró una muy elevada estabilidad, ya que las curvas de ADC intacto y de anticuerpo total no están significativamente separadas entre sí.

Ejemplo 8: Síntesis de ADC y evaluación *in vitro* utilizando P5(PEG12)-VC-PAB-SB743921 y P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921

[00514] Se sintetizaron los ADC a partir del anticuerpo Trastuzumab que se une a Her2, en la reacción con ambos enlazador-carga útil, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos. Se aumentaron los equivalentes de enlazador-carga útil con respecto al anticuerpo para impulsar la reacción.

[00515] La **Figura 43** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-VC-PAB-SB743921 y P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 con Trastuzumab; B) Eficiencia de la conjugación estimada mediante espectrometría de masa (MS). Se calculó la Proporción de Droga-a-Anticuerpo a partir de las intensidades de MS de las especies de cadena pesada y liviana modificadas y no modificadas; se destaca que en este ejemplo se observó solamente poca o lenta conjugación cuando se utilizó un residuo PEG2 corto (es decir un residuo PEG que comprende 2 unidades de PEG), mientras que pudo lograrse una reacción de conjugación más eficiente cuando se utilizó PEG12 (es decir un residuo PEG que comprende 12 unidades de PEG) y aún más cuando se utiliza PEG24 (es decir un residuo PEG que comprende 24 unidades de PEG) como lo indica la alta proporción de droga a anticuerpo (DAR); C) Espectro de MS a modo de ejemplo de la conjugación de P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 con Trastuzumab. El espectro de masa muestra una cadena liviana no modificada (23438 Da), una cadena liviana modificada (25439 Da), una cadena pesada no modificada (49149 Da), una cadena pesada triplemente modificada (55452 Da).

[00516] La **Figura 44** muestra la eficacia del ADC Trastuzumab-P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 en una línea celular negativa para diana (L-540) y varias líneas celulares Her2+ de tumores sólidos. Trastuzumab-P5(PEG24)-VA-PAB-SB743921 muestra solamente un efecto en la L-540 no diana a la concentración más alta ensayada, mientras que pudo mostrarse una eficacia mucho mejor en las líneas celulares positivas para diana ensayadas.

[00517] La cadena de PEG en el Fosforamidato permite la conjugación con el mAb. PEG2 no mostró ninguna conjugación con el mAb (datos no mostrados), PEG12 permite la modificación y PEG24 conduce a una buena eficiencia de conjugación que brinda ADC que

son eficaces *in vitro* y selectivos para la línea celular diana como se muestra para una gran variedad de células cancerosas de tumores sólidos.

Ejemplo 9: Síntesis de ADC utilizando P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina

[00518] Se sintetizaron ADC a partir del anticuerpo Trastuzumab de unión a Her2 en la reacción con P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos.

[00519] La **Figura 45** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina con Trastuzumab; B) Eficiencia de conjugación estimada mediante espectrometría de masa (MS). Se calculó la Proporción de Droga-a-Anticuerpo a partir de las intensidades de MS de las especies de cadena pesada y liviana modificadas y no modificadas; C) Espectro de HIC a modo de ejemplo de la conjugación de 16 equivalentes de P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina con Trastuzumab, que brinda un ADC DAR 8,0. Ningún Trastuzumab no conjugado era visible en el tiempo de retención conocido para el anticuerpo no modificado (apx. 8-9 minutos).

[00520] La **Figura 46** muestra cromatogramas de HIC normalizados de Trastuzumab-P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina DAR8 y Adcetris (Brentuximab vedotina). Como puede apreciarse, el ADC DAR8 Emetina es tan polar como el ADC DAR3 de la medicación Adcetris aprobada. Adcetris consiste en una mezcla heterogénea de diferentes especies de DAR (0-8) con un DAR promedio en la mezcla de 4. La unidad P5(PEG12) facilita la formación de un ADC DAR8 que se asume es estable en circulación sin tasas de eliminación (*clearance*) aumentadas *in vivo*. La hidrofobicidad medida según HIC es menor que una de una molécula de Adcetris DAR4.

Ejemplo 10: Síntesis de ADC utilizando P5(PEG12)-VC-PAB- AT7519

[00521] Se sintetizaron ADC a partir del anticuerpo Trastuzumab de unión a Her2 en la reacción con P5(PEG12)-VC-PAB-AT7519, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos.

[00522] La **Figura 47** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-VC-PAB-Emetina con Trastuzumab; B) Análisis de los ADC DAR8 purificados mediante Cromatografía de Exclusión de Tamaño (SEC) y Cromatografía de Interacción Hidrofóbica (HIC). Ningún agregado era visible en el cromatograma de SEC. Solo una especie DAR8 era visible en el cromatograma de HIC; C) Análisis de MS de la conjugación de 16 equivalentes de P5(PEG12)-VC-PAB-

AT7519 con Trastuzumab, que brindan un ADC DAR 8.0. No se observó ningún Trastuzumab no conjugado.

Así, se demostró la síntesis exitosa de un ADC que tiene DAR8 con la carga útil AT7519 en combinación con P5(PEG12).

Ejemplo 11: Síntesis de ADC utilizando P5(PEG24)-VA-PAB-Panobinostat

[00523] Se sintetizaron ADC a partir del anticuerpo Trastuzumab de unión a Her2 en la reacción con P5(PEG24)-VA-PAB-Panobinostat, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos.

[00524] La **Figura 48** muestra A) conjugación de P5(PEG24)-VA-PAB-Panobinostat con Trastuzumab; B) Análisis de los ADC DAR8 purificados mediante Cromatografía de Interacción Hidrofóbica (HIC).

Así, se demostró la conjugación exitosa de la carga útil Panobinostat en combinación con una unidad P5(PEG24) con Trastuzumab para formar un ADC que tiene DAR8, según se confirmó mediante cromatografía HIC.

Ejemplo 12: Síntesis de ADC utilizando P5(PEG12)-GlcA-AT7519

[00525] Se sintetizaron ADC a partir del anticuerpo Trastuzumab de unión a Her2 en la reacción con P5(PEG12)-GlcA-AT7519, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos.

[00526] La **Figura 49** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-GlcA-AT7519 con Trastuzumab; B) Eficiencia de conjugación estimada mediante MS en dependencia de los equivalentes de P5(PEG12)-GlcA-AT7519. Se llevó a cabo la reacción como se describe en la presente con 8 eq. de TCEP. Se calculó la Proporción de Droga-a-Anticuerpo a partir de las intensidades de MS de las especies de cadena pesada y liviana modificadas y no modificadas; C) Espectro de MS a modo de ejemplo de la conjugación de 6 eq. de P5(PEG12)-GlcA-AT7519 con Trastuzumab para brindar un ADC DAR 3,9.

[00527] La **Figura 50** muestra cromatogramas de HIC normalizados de Tras-P5(PEG12)-GlcA-AT7519 y Adcetris (Brentuximab vedotina); y un cromatograma de SEC de Tras-P5(PEG12)-GlcA-AT7519.

[00528] El análisis de HIC muestra que el ADC DAR8 con AT7519 que tiene DAR8 (es decir una proporción de droga a anticuerpo de 8) es tan polar como el ADC DAR3 de la medicación Adcetris aprobada. Adcetris consiste en una mezcla heterogénea de diferentes especies de DAR (0-8) con un DAR promedio en la mezcla de 4. El lado de la unidad P5(PEG12) facilita la formación de un ADC DAR8 que se asume es estable en circulación sin tasas de eliminación (*clearance*) *in vivo* aumentadas. La hidrofobicidad medida mediante HIC es menor que la de una molécula de Adcetris DAR4. Más aún, el análisis de SEC muestra claramente que no está presente ningún agregado.

Ejemplo 13: Síntesis de ADC y evaluación *in vitro* utilizando P5(PEG12)-GlcA-MMAE

Se sintetizaron ADC a partir del anticuerpo Brentuximab de unión a CD30 en reacción con P5(PEG12)-P5(PEG12)-GlcA-MMAE, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos. Los ADC que tenían una proporción de droga a anticuerpo de 8 (DAR8) se aislaron y ensayaron en cuanto a eficacia *in vitro*. Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE también se ensayó para comparación. Resultó que Brentuximab-P5(PEG12)-GlcA-MMAE, que tiene un lado de escisión GlcA, era tan eficaz como Brentuximab-P5(PEG12)-VC-PAB-MMAE, que tiene un lado de escisión VC-PAB que puede ser escindido mediante cathepsina B.

[00529] La **Figura 51** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-GlcA-MMAE con Brentuximab; B) Eficacia en una línea celular negativa para diana (HL-60, parte inferior) y una línea celular positiva para diana (Karpas299, parte superior); Brentuximab-P5(PEG12)-GlcA-MMAE no muestra ningún efecto en la línea celular negativa para diana (HL-60), mientras que pudo mostrarse una mejor eficacia en la línea celular positiva para diana Karpas299.

Ejemplo 14: Síntesis de ADC y evaluación *in vitro* utilizando P5(PEG12)-GlcA-SB743921

[00530] Se sintetizaron ADC a partir del anticuerpo Trastuzumab de unión a Her2 en reacción con P5(PEG12)-GlcA-SB743921, como se describe anteriormente en Información General, Materiales y Métodos.

[00531] La **Figura 52** muestra A) conjugación de P5(PEG12)-GlcA-SB743921 con Trastuzumab; B) Eficiencia de conjugación estimada mediante espectrometría de masa (MS) en dependencia de los equivalentes de P5(PEG12)-GlcA-SB743921. Se llevó a cabo la reacción como se describe en el Ejemplo 3 anterior con 8 eq. de TCEP. Se calculó la Proporción de Droga-a-Anticuerpo a partir de las intensidades de MS de las especies de cadena pesada y liviana modificadas y no modificadas; C) Análisis de los ADC DAR8

purificados mediante Cromatografía de Exclusión de Tamaño (SEC) y Cromatografía de Interacción Hidrofóbica (HIC). Casi ningún agregado era visible en el cromatograma de SEC.

[00532] La **Figura 53** muestra los resultados del ensayo de eficacia de Trastuzumab-P5(PEG12)GlcA-SB743921 en una línea celular negativa para diana (MDA-MB468) y una línea celular positiva para diana (SKBR3). Trastuzumab-P5(PEG12)-GlcA-SB743921 no muestra ningún efecto en la línea celular negativa para diana (MDA-MB468), mientras que pudo mostrarse una mejor eficacia en SKBR-3.

[00533] Se observó citotoxicidad específica para diana para todos los DAR de los ADC de Trastuzumab-P5(PEG12)GlcA-SB743921 ensayados. Los resultados muestran un aumento dependiente de DAR de la citotoxicidad y claramente muestran el suministro exitoso de la carga útil mediante el enlazador P5(PEG12)-GlcA.