

COMPUESTOS, COMPOSICIONES Y MÉTODOS

REFERENCIAS CRUZADAS A APLICACIONES RELACIONADAS

[0001] La solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Internacional Número PCT/CN2022/124073, presentada el 9 de octubre de 2022, que se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES

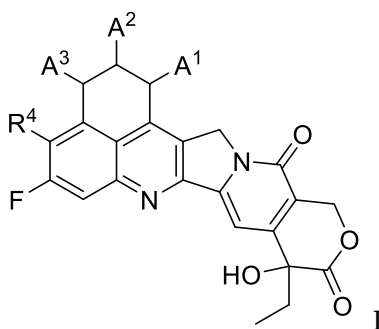
[0002] Los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) son moléculas complejas que componen un anticuerpo unido a una carga citotóxica biológicamente activa diseñada para ser una terapia dirigida para el tratamiento del cáncer. A diferencia de la quimioterapia tradicional, los ADC están destinados a atacar y matar las células tumorales sin afectar a las células sanas.

[0003] El concepto de administración dirigida de un fármaco activo a una ubicación celular específica de elección es un enfoque poderoso para el tratamiento de una amplia gama de enfermedades, con muchos aspectos beneficiosos en comparación con la administración sistémica del mismo medicamento. Si bien ha habido terapias ADC aprobadas por la FDA, sigue siendo necesario contar con terapias potentes y dirigidas para tratar los cánceres.

RESUMEN

[0004] La presente divulgación se refiere a compuestos anticancerígenos, incluidos, entre otros, conjugados anticuerpo-fármaco que utilizan los mismos, compuestos y ACD de los mismos que son adecuados para el tratamiento del cáncer.

[0005] La presente divulgación, en una realización, proporciona compuestos de la Fórmula I:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que:

A¹ es -NHR¹, donde R¹ es hidrógeno, -arilC₆-alquilC₁₋₆-NH₂, -C(O)R⁵ o -arilC₆-alquilC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A² y A³ son ambos hidrógeno; o

A² es -NHR², donde R² es hidrógeno, -arilC₆-alquilC₁₋₆-NH₂, -C(O)R⁵ o -arilC₆-alquilC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A¹ y A³ son ambos hidrógeno; o

A³ es -NHR³, donde R³ es hidrógeno, -arilC₆-alquilC₁₋₆-NH₂, -C(O)R⁵ o -arilC₆-alquilC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A¹ y A² son hidrógeno;

R⁴ es -alquiloC₁₋₆; siempre que cuando A¹ es -NHR¹, entonces R⁴ es distinto del metilo;

R⁵ es -L-R⁶;

L es una fracción de enlace; y

R⁶ es hidrógeno o heterocíclico, en el que dicho heterociclilo se une opcionalmente de forma covalente a un anticuerpo o a un fragmento de unión a antígenos.

[0006] También se proporcionan en este documento composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0007] También se proporcionan en este documento métodos para tratar el cáncer en un paciente que lo necesita, que comprenden la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprenda el mismo. Los cánceres ejemplares incluyen, entre otros, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de mama, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de estómago y cáncer de esófago.

[0008] También se proporcionan en este documento métodos para tratar, prevenir o inhibir el crecimiento tumoral en un paciente que lo necesita, que incluyen la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprenda el mismo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0009] La figura 1A muestra la unión de los conjugados del anticuerpo HER2 a las células NCI-N87.

[0010] La FIG. 1B muestra la unión de los conjugados del anticuerpo HER2 a las células SK-BR-3.

[0011] La figura 1C muestra la unión de los conjugados del anticuerpo HER2 a las células BT-474.

- [0012]** La figura 1D muestra la unión de los conjugados del anticuerpo HER2 a las células JIMT-1.
- [0013]** La FIG. 1E muestra la unión de los conjugados del anticuerpo HER2 a las células MDA-MB-468.
- [0014]** La FIG. 2A muestra la unión de conjugados de fármaco de anticuerpos HER2 con una proporción de fármaco a anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a las células NCI-N87.
- [0015]** La FIG. 2B muestra la unión de los conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a las células SK-BR-3.
- [0016]** La figura 2C muestra la unión de los conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una proporción de fármaco a anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a las células BT-474.
- [0017]** La figura 2D muestra la unión de los conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a las células JIMT-1.
- [0018]** La FIG. 2E muestra la unión de conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a las células MDA-MB-231.
- [0019]** La FIG. 2F muestra la unión de los conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a las células MDA-MB-468.
- [0020]** La figura 3A muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco del anticuerpo HER2 en las células NCI-N87.
- [0021]** La FIG. 3B muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco del anticuerpo HER2 en las células SK-BR-3.
- [0022]** La figura 3C muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco del anticuerpo HER2 en las células BT-474.
- [0023]** FIG. 3D muestra citotoxicidad de los conjugados de fármacos del anticuerpo HER2 en las células JIMT-1.
- [0024]** La FIG. 3E muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármacos del anticuerpo HER2 en las células MDA-MB-468.

[0025] La figura 4A muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármacos con anticuerpos HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células NCI-N87

[0026] La figura 4B muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células SK-BR-3.

[0027] La figura 4C muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco con anticuerpos HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células BT-474.

[0028] La figura 4D muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármacos con anticuerpos HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células JIMT-1.

[0029] La FIG. 4E muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco con anticuerpos HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células MDA-MB-231.

[0030] La FIG. 4F muestra la citotoxicidad de los conjugados de fármaco anticuerpo HER2 con una relación fármaco-anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células MDA-MB-468.

[0031] Las FIG. 5A y FIG. 5B muestran el efecto destructor de los transeúntes de los conjugados de fármacos anticuerpo HER2 en células MDA-MB-468 humanas HER2 negativas.

[0032] Las FIG. 6A y FIG. 6B muestran el efecto espectador de los conjugados de fármacos anticuerpo HER2 con una proporción de fármaco a anticuerpo de 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células humanas HER2 negativas MDA-MB-468.

[0033] La FIG. 7 muestra una comparación de ADC-2 con Trastuzumab-DXd en modo JIMT-1 CDX.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones

[0034] La siguiente descripción expone realizaciones ejemplares de la tecnología actual. Debe reconocerse, sin embargo, que dicha descripción no pretende ser una limitación en el alcance de la presente divulgación, sino que se proporciona como una descripción de realizaciones ejemplares.

[0035] Tal como se utilizan en la presente descripción, las siguientes palabras, frases y símbolos generalmente tienen los significados que se establecen a continuación, excepto en la medida en que el contexto en el que se utilizan indique lo contrario.

[0036] Un guión ("-") que no está entre dos letras o símbolos se utiliza para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, el -C(O)NH_2 se une a través del átomo de carbono. Un guión al frente o al final de un grupo químico es una cuestión de conveniencia; Los grupos químicos pueden representarse con o sin uno o más guiones sin perder su significado ordinario. Una línea ondulada trazada a través de una línea en una estructura indica un punto de unión de un grupo. A menos que se requiera química o estructuralmente, no se indica ni implica direccionalidad en el orden en que se escribe o nombra un grupo químico.

[0037] El prefijo "Cu-v" indica que el siguiente grupo tiene átomos de carbono de u a v. Por ejemplo, "alquilo C_{1-6} " indica que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

[0038] La referencia a "alrededor de" un valor o parámetro en este documento incluye (y describe) realizaciones que se dirigen a ese valor o parámetro *per se*. En ciertas realizaciones, el término "alrededor de" incluye la cantidad indicada $\pm 10\%$. En otras realizaciones, el término "alrededor de" incluye la cantidad indicada $\pm 5\%$. En algunas otras realizaciones, el término "alrededor de" incluye la cantidad indicada $\pm 1\%$. También, al término "con respecto a X" se incluye la descripción de "X". Además, las formas singulares "un" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "el compuesto" incluye una pluralidad de tales compuestos y la referencia a "el ensayo" incluye la referencia a uno o más ensayos y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la materia.

[0039] "Alquilo" se refiere a una cadena de hidrocarburos saturados no ramificada o ramificada. Tal como se usa en este documento, el alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono (*es decir*, alquilo C_{1-20}), de 1 a 8 átomos de carbono (*es decir*, alquilo C_{1-8}), de 1 a 6 átomos de carbono (*es decir*, alquilo C_{1-6}) o de 1 a 4 átomos de carbono (*es decir*, alquilo C_{1-4}). Algunos ejemplos de grupos alquilo son el metilo, el etilo, el propil, el isopropil, el n-butilo, el sec-butilo, el isobutilo, el terc-butilo, el pentilo, el 2-pentilo, el isopentilo, el neopentilo, el hexilo, el 2-hexilo, el 3-hexilo y el 3-metilpentilo. Cuando un residuo de alquilo que tiene un número específico de carbonos se denomina por su nombre químico o se identifica por fórmula molecular, todos los isómeros posicionales que tienen ese número de carbonos pueden abarcarse; Así, por ejemplo, el "butilo" incluye el n-butilo (*es decir*, $\text{-(CH}_2)_3\text{CH}_3$), el sec-butilo (*es decir*, $\text{-CH(CH}_3\text{)CH}_2\text{CH}_3$), el isobutilo (*es decir*, $\text{-CH}_2\text{CH(CH}_3)_2$) y el terc-butilo (*es decir*, $\text{-C(CH}_3)_3$); y "propilo" incluye n-propilo (*es decir*, $\text{-(CH}_2)_2\text{CH}_3$) e isopropilo (*es decir*, $\text{-CH(CH}_3)_2$).

[0040] "Alquenil" se refiere a un grupo alquilo que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que tiene de 2 a 20 átomos de carbono (*es decir*, alqueno C_{2-20}), 2 a 8 átomos de carbono (*es decir*,

alqueno (C_{2-8}), 2 a 6 átomos de carbono (*es decir*, alqueno C_{2-6}) o 2 a 4 átomos de carbono (*es decir*, alqueno C_{2-4}). Ejemplos de grupos alqueno incluyen etenilo, propenilo, butadienilo (incluidos 1,2-butadienil y 1,3-butadienilo).

[0041] "Alquino" se refiere a un grupo alquilo que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono y que tiene de 2 a 20 átomos de carbono (*es decir*, alquino C_{2-20}), 2 a 8 átomos de carbono (*es decir*, alquino C_{2-8}), 2 a 6 átomos de carbono (*es decir*, alquino C_{2-6}) o 2 a 4 átomos de carbono (*es decir*, alquino C_{2-4}). El término "alquino" también incluye aquellos grupos que tienen un enlace triple y un enlace doble.

[0042] "Alcoxi" se refiere al grupo "alquil-O-". Ejemplos de grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, n-butoxi, terc-butoxi, sec-butoxi, n-pentoxi, n-hexoxi y 1,2-dimetilbutoxi.

[0043] "Haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo ramificado o no ramificado, como se definió anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno son reemplazados por un halógeno. Por ejemplo, cuando un residuo se sustituye por más de un halógeno, se puede hacer referencia a él utilizando un prefijo correspondiente al número de fracciones de halógeno adheridas. El dihaloalquilo y el trihaloalquilo se refieren al alquilo sustituido por dos ("di") o tres (tri) grupos halo, que pueden ser, pero no necesariamente, el mismo halógeno. Algunos ejemplos de haloalquilo son el difluorometilo ($-CHF_2$) y el trifluorometilo ($-CF_3$).

[0044] "Haloalcoxi" se refiere a un grupo alcoxi como se definió anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno son reemplazados por un halógeno.

[0045] "Alquiltio" se refiere al grupo "alquil-S-".

[0046] "Acilo" se refiere a un grupo $-C(O)R$, en el que R es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo, heteroalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente, según se define en este documento. Algunos ejemplos de acilo son el formilo, el acetilo, el ciclohexilcarbonilo, el ciclohexilmetil-carbonilo y el benzoilo.

[0047] "Amido" se refiere tanto a un grupo "C-amido" que se refiere al grupo $-C(O)NR^yR^z$ como a un grupo "N-amido" que se refiere al grupo $-NR^yC(O)R^z$, en el que R^y y R^z se seleccionan independientemente del grupo formado por hidrógeno, alquilo, arilo, haloalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente.

[0048] "Amino" se refiere al grupo NR^yR^z en el que R^y y R^z se seleccionan independientemente del grupo formado por hidrógeno, alquilo, haloalquilo, arilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente.

[0049] "Aril" se refiere a un grupo carbocíclico aromático que tiene un solo anillo (por ejemplo, monocíclico) o varios anillos (por ejemplo, bicíclico o tricíclico), incluidos los sistemas fusionados. Tal como se usa aquí, el arilo tiene de 6 a 20 átomos de carbono de anillo (*es decir*, arilo C_{6-20}), de 6 a 12 átomos de anillo de carbono (*es decir*, arilo C_{6-12}) o de 6 a 10 átomos de anillo de carbono (*es decir*, arilo C_{6-10}). Algunos ejemplos de grupos arilo son el fenilo, el naftilo, el fluorenilo y el antrilo. Arilo, sin embargo, no abarca ni se superpone de ninguna manera con el heteroarilo definido a continuación. Si uno o más grupos arilo se fusionan con un heteroarilo, el sistema de anillos resultante es heteroarilo. Si uno o más grupos arilo se fusionan con un heterocíclico, el sistema de anillos resultante es heterocíclico.

[0050] "Carbamoil" se refiere tanto a un grupo "O-carbamoil" que se refiere al grupo $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{NR}^y\text{R}^z$ como a un grupo "N-carbamoil" que se refiere al grupo $-\text{NR}^y\text{C}(\text{O})\text{OR}^z$, en el que R^y y R^z se seleccionan independientemente del grupo formado por hidrógeno, alquilo, arilo, haloalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente.

[0051] "Éster carboxílico" se refiere tanto a $-\text{OC}(\text{O})\text{R}$ como a $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$, donde R es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo, heteroalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente, según se define en este documento.

[0052] "Cicloalquilo" se refiere a un grupo alquilo cíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene un solo anillo o varios anillos, incluidos los sistemas de anillos fusionados, puenteados y espiros. El término "cicloalquilo" incluye los grupos cicloalquenilo (*es decir*, el grupo cíclico que tiene al menos un doble enlace). Tal como se usa en este documento, el cicloalquilo tiene de 3 a 20 átomos de carbono de anillo (*es decir*, cicloalquilo C_{3-20}), de 3 a 12 átomos de carbono de anillo (*es decir*, cicloalquilo C_{3-12}), de 3 a 10 átomos de carbono de anillo (*es decir*, cicloalquilo C_{3-10}), de 3 a 8 átomos de carbono de anillo (*es decir*, cicloalquilo C_{3-8}) o de 3 a 6 átomos de carbono de anillo (*es decir*, cicloalquilo C_{3-6}). Algunos ejemplos de grupos cicloalquilo son el ciclopropilo, el ciclobutilo, el ciclopentilo y el ciclohexilo.

[0053] "Imino" se refiere a un grupo $-\text{C}(\text{NR})\text{R}$, en el que cada R es independientemente alquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo, heteroalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente, según se define en este documento.

[0054] "Halógeno" o "halo" incluye fluoro, cloro, bromo y yodo.

[0055] "Heteroalquilo" se refiere a un grupo alquilo en el que uno o más de los átomos de carbono (y cualquier átomo de hidrógeno asociado) se reemplazan independientemente por el mismo o diferente grupo heteroatómico (por ejemplo, un grupo heteroalquilo C₂ tiene un átomo de carbono y un heteroátomo). El término "heteroalquilo" incluye cadenas saturadas ramificadas o no ramificadas que tienen carbono y heteroátomos. A modo de ejemplo, 1, 2 o 3 átomos de carbono pueden ser reemplazados independientemente por el mismo o diferente grupo heteroatómico. Los grupos heteroatómicos incluyen, entre otros, -NR-, -O-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, y similares, donde R es hidrógeno, alquilo, arilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heterocíclico, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente. Ejemplos de grupos heteroalquilo incluyen -OCH₃, -CH₂OCH₃, -SCH₃, -CH₂SCH₃, -NRCH₃ y -CH₂NRCH₃, donde R es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente. Tal como se utiliza en este documento, los heteroalquilos incluyen de 1 a 10 átomos de carbono, de 1 a 8 átomos de carbono o de 1 a 4 átomos de carbono; y de 1 a 3 heteroátomos, de 1 a 2 heteroátomos o 1 heteroátomo.

[0056] "Heteroalquilenos" se refiere a un grupo heteroalquilo divalente. Los grupos "heteroalquilenos" deben tener al menos un carbono y al menos un grupo heteroatómico dentro de la cadena. El término "heteroalquilenos" incluye la cadena saturada ramificada o no ramificada que tiene carbono y heteroátomos. A modo de ejemplo, 1, 2 o 3 átomos de carbono pueden ser reemplazados independientemente por el mismo o diferente grupo heteroatómico. Los grupos heteroatómicos incluyen, pero no se limitan a, -NR-, -O-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, y similares, en los que R es hidrógeno, alquilo, alquénil, alquínil, cicloalquilo, heterocíclico, arilo, heteroalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente, como se define en este documento. Ejemplos de grupos heteroalquilenos incluyen, por ejemplo, -CH₂OCH₂-, -CH(CH₃)OCH₂-, -CH₂CH₂OCH₂-, -OCH₂-, -CH(CH₃)O-, -CH₂CH₂O-, -CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂-, -CH₂CH₂OCH₂CH₂O-, -CH₂SCH₂-, -CH(CH₃)SCH₂-, -CH₂CH₂SCH₂-, -CH₂CH₂SCH₂CH₂SCH₂-, -SCH₂-, -CH(CH₃)S-, -CH₂CH₂S-, -CH₂CH₂SCH₂CH₂S-, -CH₂S(O)₂CH₂-, -CH(CH₃)S(O)₂CH₂-, -CH₂CH₂S(O)₂CH₂-, -CH₂CH₂S(O)₂CH₂CH₂OCH₂-, -CH₂NRCH₂-, -CH(CH₃)NRCH₂-, -CH₂CH₂NRCH₂-, -CH₂CH₂NRCH₂CH₂NRCH₂-, etc., donde cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquénil, alquínil, cicloalquilo, heterocíclico, arilo, heteroalquilo o heteroarilo; cada uno de los cuales puede ser sustituido opcionalmente, según se define en este documento). Tal como se utiliza en este documento, el heteroalquilenos incluye de 1 a 10 átomos de carbono, de 1 a 8 átomos de carbono o de 1 a 4 átomos de carbono; y de 1 a 3 heteroátomos, de 1 a 2 heteroátomos o 1 heteroátomo.

[0057] "Heteroarilo" se refiere a un grupo aromático que tiene un solo anillo, varios anillos o múltiples anillos fusionados, con uno o más heteroátomos de anillo seleccionados independientemente del

nitrógeno, el oxígeno y el azufre. Tal como se utiliza en este documento, el heteroarilo incluye átomos de carbono de 1 a 20 anillos (*es decir*, heteroarilo_{C₁₋₂₀}), de 3 a 12 átomos de carbono de anillo (*es decir*, heteroarilo_{C₃₋₁₂}) o de 3 a 8 átomos de anillo de carbono (*es decir*, heteroarilo_{C₃₋₈}); y de 1 a 5 heteroátomos, de 1 a 4 heteroátomos, de 1 a 3 heteroátomos de anillo, de 1 a 2 heteroátomos de anillo o de 1 heteroátomo de anillo seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre. Algunos ejemplos de grupos heteroarilo son el pirimidinil, el purinilo, el piridilo, el piridazinil, el benzotiazolilo y el pirazolil. Ejemplos de los anillos heteroarilo fusionados incluyen, entre otros, benzo[d]tiazolil, quinolinilo, isoquinolinilo, benzo[b]tiofenilo, indazolil, benzo[d]imidazolil, pirazolo[1,5-a]piridinil e imidazo[1,5-a]piridinilo, donde el heteroarilo se puede unir a través de cualquiera de los anillos del sistema fusionado. Cualquier anillo aromático, que tenga uno o varios anillos fusionados, que contengan al menos un heteroátomo, se considera un heteroarilo independientemente de la unión al resto de la molécula (*es decir*, a través de cualquiera de los anillos fusionados). El heteroarilo no abarca ni se superpone con el arilo tal y como se ha definido anteriormente.

[0058] "Heterociclilo" se refiere a un grupo alquilo cíclico saturado o insaturado, con uno o más heteroátomos de anillo seleccionados independientemente del nitrógeno, el oxígeno y el azufre. El término "heterociclilo" incluye grupos heterocicloalquenilo (*es decir*, el grupo heterociclilo que tiene al menos un doble enlace), grupos heterociclilo puenteados, grupos heterociclilo fusionados y grupos espirocíclicos. Un heterociclilo puede ser un solo anillo o varios anillos, en los que los múltiples anillos pueden estar fusionados, puenteados o espiros. Cualquier anillo no aromático que contenga al menos un heteroátomo se considera un heterocíclico, independientemente de la unión (*es decir*, puede unirse a través de un átomo de carbono o un heteroátomo). Además, el término heterociclilo está destinado a abarcar cualquier anillo no aromático que contenga al menos un heteroátomo, cuyo anillo puede fusionarse con un anillo de arilo o heteroarilo, independientemente de la unión al resto de la molécula. Tal como se usa en este documento, el heterociclilo tiene de 2 a 20 átomos de carbono en anillo (*es decir*, heterociclilo_{C₂₋₂₀}), de 2 a 12 átomos de carbono en anillo (*es decir*, heterociclilo_{C₂₋₁₂}), de 2 a 10 átomos de carbono en anillo (*es decir*, heterociclilo_{C₂₋₁₀}), de 2 a 8 átomos de carbono en anillo (*es decir*, heterociclilo_{C₂₋₈}), de 3 a 12 átomos de carbono en anillo (*es decir*, heterociclilo_{C₃₋₁₂}), de 3 a 8 átomos de carbono en anillo (*es decir*, heterociclilo_{C₃₋₈}), o átomos de carbono de 3 a 6 anillos (*es decir*, heterociclilo_{C₃₋₆}); que tienen de 1 a 5 heteroátomos de anillo, de 1 a 4 heteroátomos de anillo, de 1 a 3 heteroátomos de anillo, de 1 a 2 heteroátomos de anillo o de 1 heteroátomo de anillo seleccionado independientemente de nitrógeno, azufre u oxígeno. Algunos ejemplos de grupos heterocíclicos son el pirrolidinil, el piperidinilo, el piperazinilo, el oxetanilo, el dioxolanilo, el azetidil y el morfolinil. Tal como se usa en este documento, el término "heterocíclico puenteado" se refiere a una fracción cíclica de

cuatro a diez miembros conectada en dos átomos no adyacentes del heterocíclico con una o más (*por ejemplo*, 1 o 2) fracción cíclica de cuatro a diez miembros que tiene al menos un heteroátomo donde cada heteroátomo se selecciona independientemente del nitrógeno, el oxígeno y el azufre. Tal como se utiliza en este documento, el heterociclilo puenteado incluye sistemas de anillos bicíclicos y tricíclicos. También utilizado aquí, el término "espiro-heterocíclico" se refiere a un sistema de anillos en el que un heterociclilo de tres a diez miembros tiene uno o más anillos adicionales, en el que uno o más anillos adicionales son cicloalquilados de tres a diez miembros o heterociclos de tres a diez miembros, donde un solo átomo de uno o más anillos adicionales es también un átomo del heterociclilo de tres a diez miembros. Ejemplos de los anillos espiro-heterocíclicos incluyen sistemas de anillos bicíclicos y tricíclicos, como 2-oxa-7-azaspiro[3.5]nonanil, 2-oxa-6-azaspiro[3.4]octanil y 6-oxa-1-azaspiro[3.3]heptanilo. Ejemplos de los anillos heterocíclicos fusionados incluyen, entre otros, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil, 4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridinil, indolinil e isoindolinil, donde el heterociclilo se puede unir a través de cualquiera de los anillos del sistema fusionado.

[0059] "Sulfonilo" se refiere al grupo $S(O)_2R$, donde R es alquilo, haloalquilo, heterocíclico, cicloalquilo, heteroarilo o arilo. Ejemplos de sulfonilo son el metilsulfonilo, el etilsulfonilo, el fenilsulfonilo y el toluenosulfonilo.

[0060] "Alquilsulfonilo" se refiere al grupo $S(O)_2R$, donde R es alquilo.

[0061] "Alquilsulfonilo" se refiere al grupo $S(O)R$, donde R es alquilo.

[0062] Es posible que se utilicen ciertos nombres químicos alternativos de uso común. Por ejemplo, un grupo divalente como un grupo "alquilo" divalente, un grupo "arilo" divalente, etc., también puede denominarse grupo "alquilenilo" o grupo "alquilenilo", grupo "arileno" o grupo "arilenilo", respectivamente. Además, a menos que se indique explícitamente lo contrario, cuando las combinaciones de grupos se denominan en este documento como una mitad, *por ejemplo*, arilalquilo, el último grupo mencionado contiene el átomo por el cual la fracción se une al resto de la molécula.

[0063] Los términos "opcional" u "opcionalmente" significan que el evento o circunstancia descrito posteriormente puede ocurrir o no, y que la descripción incluye casos en los que dicho evento o circunstancia ocurre y casos en los que no. Además, el término "opcionalmente sustituido" se refiere a uno o más átomos de hidrógeno en el átomo o grupo designado que puede o no ser reemplazado por una fracción distinta del hidrógeno.

[0064] Tal como se utiliza en este documento, el término "compuesto" incluye todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas. Los compuestos identificados en este documento por su nombre o estructura como una forma tautomérica particular están destinados a incluir otras formas tautoméricas, a menos que se especifique lo contrario.

[0065] Algunos de los compuestos existen como tautómeros. Los tautómeros están en equilibrio entre sí. Por ejemplo, los compuestos que contienen amida pueden existir en equilibrio con los tautómeros de ácido imídico. Independientemente del tautómero que se muestre, e independientemente de la naturaleza del equilibrio entre los tautómeros, los compuestos son entendidos, por una habilidad ordinaria en la técnica, que comprenden tautómeros de amida y ácido imídico. Por lo tanto, se entiende que los compuestos que contienen amida incluyen sus tautómeros de ácido imídico. Del mismo modo, se entiende que los compuestos que contienen ácido imídico incluyen sus tautómeros amida.

[0066] Cualquier fórmula o estructura dada en este documento también está destinada a representar formas no etiquetadas, así como formas etiquetadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en este documento, excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa seleccionados. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a los compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como, entre otros, ^2H (deuterio, D), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl y ^{125}I . Varios compuestos marcados isotópicamente de la presente divulgación, por ejemplo, aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos como ^3H , ^{13}C y ^{14}C . Estos compuestos marcados isotópicamente pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios cinéticos de reacción, técnicas de detección o imagen, como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), incluidos los ensayos de distribución de fármacos o tejidos sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes.

[0067] La divulgación también incluye "análogos deuterados" de compuestos de la Fórmula I en los que de 1 a n hidrógenos unidos a un átomo de carbono son reemplazados por deuterio, en el que n es el número de hidrógenos en la molécula. Dichos compuestos exhiben una mayor resistencia al metabolismo y, por lo tanto, son útiles para aumentar la vida media de cualquier compuesto de la Fórmula I cuando se administra a un mamífero, particularmente a un ser humano. Véase, por ejemplo, Foster, "Efectos de los isótopos de deuterio en los estudios del metabolismo de los fármacos", Trends Pharmacol. Sci. 5(12):524-527 (1984). Tales compuestos se sintetizan por medios bien conocidos en la técnica, por ejemplo,

mediante el empleo de materiales de partida en los que uno o más hidrógenos han sido reemplazados por deuterio.

[0068] Los compuestos terapéuticos marcados o sustituidos con deuterio de la divulgación pueden tener propiedades mejoradas de DMPK (metabolismo y farmacocinética de medicamentos), relacionadas con la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME). La sustitución por isótopos más pesados, como el deuterio, puede aportar ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de *la vida media in vivo*, una reducción de los requisitos de dosis y/o una mejora del índice terapéutico. Un compuesto marcado con ¹⁸F puede ser útil para estudios PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de esta divulgación y los profármacos de los mismos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones que se describen a continuación, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo no marcado isotópicamente. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera un sustituyente en el compuesto de la Fórmula I.

[0069] La concentración de un isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede definirse por un factor de enriquecimiento isotópico. En los compuestos de esta divulgación, cualquier átomo que no esté específicamente designado como un isótopo particular está destinado a representar cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se indique lo contrario, cuando una posición se designa específicamente como "H" o "hidrógeno", se entiende que la posición tiene hidrógeno en su composición isotópica de abundancia natural. En consecuencia, en los compuestos de esta divulgación, cualquier átomo designado específicamente como deuterio (D) está destinado a representar deuterio.

[0070] En muchos casos, los compuestos de esta divulgación son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos.

[0071] También se proporcionan sales, hidratos, solvatos, formas tautoméricas, polimorfos y profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos aquí descritos. "Farmacéuticamente aceptable" o "fisiológicamente aceptable" se refiere a compuestos, sales, composiciones, formas farmacéuticas y otros materiales que son útiles para preparar una composición farmacéutica que sea adecuada para uso farmacéutico veterinario o humano.

[0072] El término "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto dado se refiere a las sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades del compuesto dado y que no son biológicamente o de otro modo indeseables. Las "sales farmacéuticamente aceptables" o "sales fisiológicamente aceptables" incluyen, por ejemplo, las sales con ácidos inorgánicos y las sales con un ácido orgánico. Además, si los

compuestos descritos en este documento se obtienen como sal de adición ácida, la base libre se puede obtener basificando una solución de la sal ácida. Por el contrario, si el producto es una base libre, se puede producir una sal de adición, en particular una sal de adición farmacéuticamente aceptable, disolviendo la base libre en un disolvente orgánico adecuado y tratando la solución con un ácido, de acuerdo con los procedimientos convencionales para preparar sales de adición ácidas a partir de compuestos básicos. Los expertos en la materia reconocerán diversas metodologías sintéticas que pueden utilizarse para preparar sales de adición no tóxicas y farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir de ácidos inorgánicos y orgánicos. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Las sales derivadas de los ácidos orgánicos incluyen, por ejemplo, el ácido acético, el ácido propiónico, el ácido glucónico, el ácido glicólico, el ácido pirúvico, el ácido oxálico, el ácido málico, el ácido malónico, el ácido succínico, el ácido maleico, el ácido fumárico, el ácido tartárico, el ácido cítrico, el ácido benzoico, el ácido cinámico, el ácido mandélico, el ácido metanosulfónico, el ácido etanosulfónico, el ácido p-tolueno-sulfónico, el ácido salicílico y similares. Del mismo modo, las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables se pueden preparar a partir de bases inorgánicas y orgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen, solo a modo de ejemplo, sales de sodio, potasio, litio, aluminio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, entre otras, sales de NH_3 , o aminas primarias, secundarias y terciarias, como sales derivadas de un heterociclo que contiene N, un heteroarilo que contiene N o derivadas de una amina de fórmula $\text{N}(\text{RN})_3$ (por ejemplo, $\text{HN}^+(\text{RN})_3$ o $(\text{alquil})\text{N}^+(\text{RN})_3$) donde cada RN es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo, en los que cada uno se sustituye opcionalmente, por ejemplo, por uno o más (por ejemplo, 1-5 o 1-3) sustituyentes (por ejemplo, halo, ciano, hidroxilo, amino, alquilo, alquenil, alquinilo, haloalquilo, alcoxi o haloalcoxi). Ejemplos específicos de aminas adecuadas incluyen, a modo de ejemplo solamente, isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, tri(iso-propil) amina, tri(n-propil) amina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, piperazina, piperidina, morfolina, N-etilpiperidina y similares.

[0073] El término "sustituido" significa que uno o más átomos de hidrógeno en el átomo o grupo designado se reemplazan por uno o más sustituyentes distintos del hidrógeno, siempre que no se exceda la valencia normal del átomo designado. Los uno o más sustituyentes incluyen, entre otros, alquilo, alquenil, alquinilo, alcoxi, acilo, amino, amido, amino, amino, amino, aminino, arilo, azido, carbamilo, carboxilo, éster de carboxilo, ciano, guanidino, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroalquiloxilo, heterocilo, heterociclil, hidroxilo, hidrazino, imino, oxo, nitro, alquilsulfonilo, ácido sulfónico, alquilsulfonilo, tiocianato, tiol, tiona o combinaciones de los mismos. Los polímeros o estructuras indefinidas similares a

las que se llega definiendo sustituyentes con sustituyentes adicionales añadidos ad infinitum (por ejemplo, un arilo sustituido que tiene un alquilo sustituido que a su vez es sustituido por un grupo arilo sustituido, que a su vez es sustituido por un grupo heteroalquilo sustituido, etc.) no están destinados a ser incluidos en este documento. A menos que se indique lo contrario, el número máximo de sustituciones en serie en los compuestos descritos en este documento es tres. Por ejemplo, las sustituciones en serie de grupos arilo sustituidos por otros dos grupos arilo sustituidos se limitan a ((arilo sustituido)arilo sustituido) arilo sustituido. Del mismo modo, las definiciones anteriores no pretenden incluir patrones de sustitución no permitidos (por ejemplo, metilo sustituido por 5 flúor o grupos heteroarilo que tienen dos átomos de anillo de oxígeno adyacentes). Tales patrones de sustitución inadmisibles son bien conocidos por el artesano experto. Cuando se utiliza para modificar un grupo químico, el término "sustituido" puede describir otros grupos químicos definidos en este documento. A menos que se especifique lo contrario, cuando un grupo se describe como opcionalmente sustituido, los sustituyentes del grupo no están sustituidos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el término "alquilo sustituido" se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más sustituyentes que incluyen hidroxilo, halo, alcoxi, cicloalquilo, heterocíclico, arilo y heteroarilo. En otras realizaciones, uno o más sustituyentes pueden sustituirse además con halo, alquilo, haloalquilo, hidroxilo, alcoxi, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales se sustituye. En otras realizaciones, los sustituyentes pueden ser sustituidos por halo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, hidroxilo, cicloalquilo, heterocíclico, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales no está sustituido.

[0074] Tal como se utiliza en el presente documento, "portador farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. También se pueden incorporar ingredientes activos complementarios a las composiciones.

[0075] El término "farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en el presente documento, indica que el compuesto, la sal o la composición de los mismos es compatible química y/o toxicológicamente con los demás ingredientes que componen una formulación y/o con el sujeto que se trata con ella.

[0076] El término "administración" o "administrando" se refiere a un método para administrar una dosis de un compuesto o composición farmacéutica a un vertebrado o invertebrado, incluido un mamífero, un ave, un pez o un anfibio. El método de administración puede variar dependiendo de varios factores,

por ejemplo, los componentes de la composición farmacéutica, el sitio de la enfermedad y la gravedad de la enfermedad.

[0077] Los términos "cantidad efectiva" o "dosis efectiva" o "cantidad farmacéuticamente efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva", tal como se utilizan en este documento, se refieren a una cantidad suficiente de una entidad química (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma) que se administra y que aliviará hasta cierto punto uno o más de los síntomas de la enfermedad o afección que se está tratando. y puede incluir la cura de la enfermedad. "Curar" significa que se eliminan los síntomas de la enfermedad activa. El resultado incluye la reducción y/o el alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Por ejemplo, una "cantidad efectiva" para usos terapéuticos es la cantidad de la composición que comprende un compuesto, tal como se describe en este documento, necesaria para proporcionar una disminución clínicamente significativa de los síntomas de la enfermedad. Una cantidad "efectiva" apropiada en cada caso individual se determina utilizando cualquier técnica adecuada, como un estudio de aumento de dosis. En algunas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto, tal como se proporciona en este documento, se refiere a una cantidad del compuesto que es efectiva como monoterapia o terapia combinada.

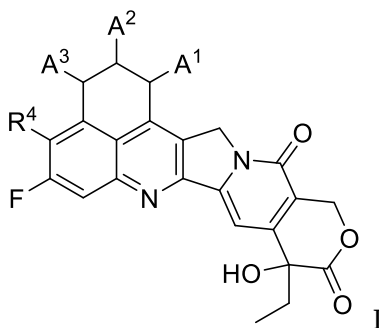
[0078] El término "excipiente" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, como un relleno líquido o sólido, diluyente, portador, solvente o material encapsulante. En algunas realizaciones, cada componente es "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de una formulación farmacéutica, y adecuado para su uso en contacto con el tejido u órgano de humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Filadelfia, Pensilvania, 2005; Manual de Excipientes Farmacéuticos, 6ª ed.; Rowe et al., Eds.; La Prensa Farmacéutica y la Asociación Farmacéutica Americana: 2009; Manual de Aditivos Farmacéuticos, 3ª ed.; Ceniza y Ceniza Eds.; Editorial Gower: 2007; Preformulación y Formulación Farmacéutica, 2ª ed.; Ed. Gibson; CRC Press LLC: Boca Ratón, FL, 2009.

[0079] El término "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de un compuesto de la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, según lo dispuesto en el presente documento, con otros componentes químicos (denominados colectivamente en el presente documento como "excipientes"), como portadores, estabilizadores, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de

suspensión y/o agentes espesantes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. Existen múltiples técnicas de administración de un compuesto en la técnica, que incluyen, entre otras, la administración rectal, oral, intravenosa, en aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar y tópica.

Compuestos

[0080] En un aspecto, se proporciona en este documento un compuesto de la Fórmula I:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que:

A¹ es -NHR¹, donde R¹ es hidrógeno, -C(O)R⁵, -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NH₂ o -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A² y A³ son hidrógeno; o

A² es -NHR², donde R² es hidrógeno, -C(O)R⁵, -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NH₂ o -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A¹ y A³ son hidrógeno; o

A³ es -NHR³, donde R³ es hidrógeno, -C(O)R⁵, -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NH₂ o -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A¹ y A² son hidrógeno;

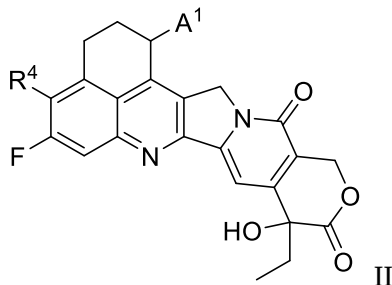
R⁴ es -alquiloC₁₋₆; siempre que, cuando A¹ es -NHR¹, entonces R⁴ es distinto de metilo;

R⁵ es -L-R⁶;

L es una fracción de enlace; y

R⁶ es hidrógeno o heterociclilo, en el que dicho heterociclilo se une opcionalmente de forma covalente a un anticuerpo o a un fragmento de unión a antígenos.

[0081] En algunas realizaciones, A¹ es -NHR¹, donde R¹ es hidrógeno, -C(O)R⁵, -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NH₂, o -ariloC₆-alquiloC₁₋₆-NHC(O)R⁵; y A² y A³ son hidrógeno. En consecuencia, en algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula II:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R^4 es -alquilo C_{2-6} , y A^1 es independientemente como se define en este documento.

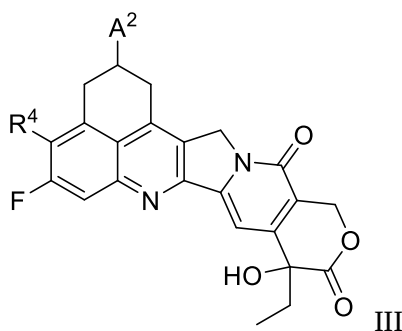
[0082] En algunas realizaciones, A^1 es $-NH_2$; y A^2 y A^3 son hidrógeno.

[0083] En algunas realizaciones, A^1 es $-NH-C(O)R^5$; y A^2 y A^3 son hidrógeno.

[0084] En algunas realizaciones, A^1 es -arilo C_6 -alquilo C_{1-6} - NH_2 ; y A^2 y A^3 son hidrógeno. En algunas realizaciones, A^1 es $-NH$ -arilo C_6 - CH_2 - NH_2 ; y A^2 y A^3 son hidrógeno.

[0085] En algunas realizaciones, A^1 es $-NH$ -arilo C_6 -alquilo C_{1-6} - $NHC(O)R^5$; y A^2 y A^3 son hidrógeno. En algunas realizaciones, A^1 es $-NH$ -arilo C_6 - CH_2 - $NHC(O)R^5$; y A^2 y A^3 son hidrógeno.

[0086] En algunas realizaciones, A^2 es $-NHR^2$, donde R^2 es hidrógeno, $-C(O)R^5$, -arilo C_6 -alquilo C_{1-6} - NH_2 , o -arilo C_6 -alquilo C_{1-6} - $NHC(O)R^5$; y A^1 y A^3 son hidrógeno. En consecuencia, en algunas realizaciones, siempre que se encuentre un compuesto de la Fórmula III:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que A^2 y R^4 son cada uno de forma independiente como se define en este documento.

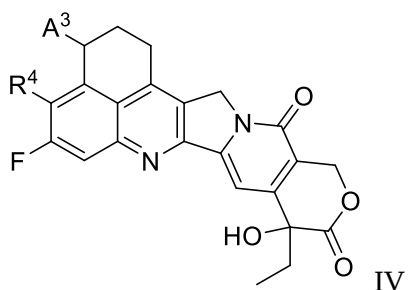
[0087] En algunas realizaciones, A^2 es $-NH_2$; y A^1 y A^3 son hidrógeno.

[0088] En algunas realizaciones, A^2 es $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^3 son hidrógeno.

[0089] En algunas realizaciones, A^2 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-alquiloC}_{1-6}\text{-NH}_2$; y A^1 y A^3 son hidrógeno. En algunas realizaciones, A^2 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-CH}_2\text{-NH}_2$; y A^1 y A^3 son hidrógeno.

[0090] En algunas realizaciones, A^2 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-alquiloC}_{1-6}\text{-NHC}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^3 son hidrógeno. En algunas realizaciones, A^2 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-CH}_2\text{-NHC}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^3 son hidrógeno.

[0091] En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NHR}^3$, donde R^3 es hidrógeno, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$, $-\text{ariloC}_6\text{-alquiloC}_{1-6}\text{-NH}_2$, o $-\text{ariloC}_6\text{-alquiloC}_{1-6}\text{-NHC}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^2 son hidrógeno. En consecuencia, en algunas realizaciones, siempre que se presente un compuesto de la Fórmula IV:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que A^3 y R^4 son cada uno de forma independiente como se define en el presente documento.

[0092] En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NH}_2$; y A^1 y A^2 son hidrógeno.

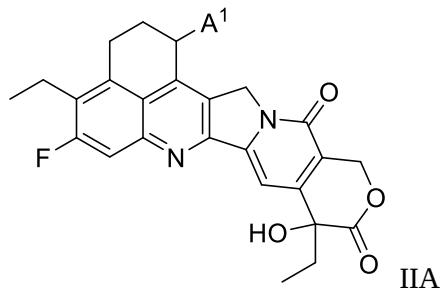
[0093] En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^2 son hidrógeno.

[0094] En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-alquiloC}_{1-6}\text{-NH}_2$; y A^1 y A^2 son hidrógeno. En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-CH}_2\text{-NH}_2$; y A^1 y A^2 son hidrógeno.

[0095] En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-alquiloC}_{1-6}\text{-NHC}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^2 son hidrógeno. En algunas realizaciones, A^3 es $-\text{NH}-\text{ariloC}_6\text{-CH}_2\text{-NHC}(\text{O})\text{R}^5$; y A^1 y A^2 son hidrógeno.

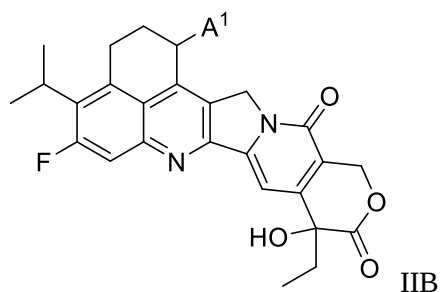
[0096] En algunas realizaciones, R^4 es metilo, etilo o isopropilo. En algunas realizaciones, R^4 es etilo o isopropilo. En algunas realizaciones, R^4 es metilo. En algunas realizaciones, R^4 es etilo. En algunas realizaciones, R^4 es isopropilo.

[0097] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IIA:



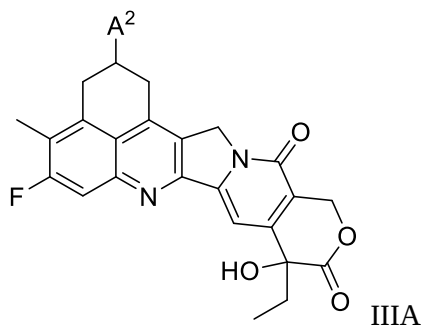
o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A¹ es independientemente como se define en este documento.

[0098] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IIB:



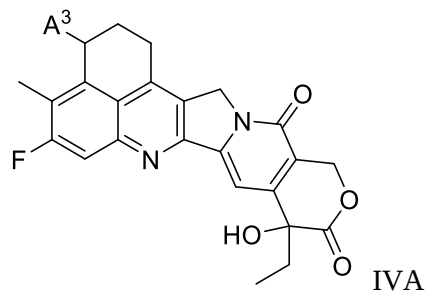
o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A¹ es independientemente como se define en este documento.

[0099] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IIIA:



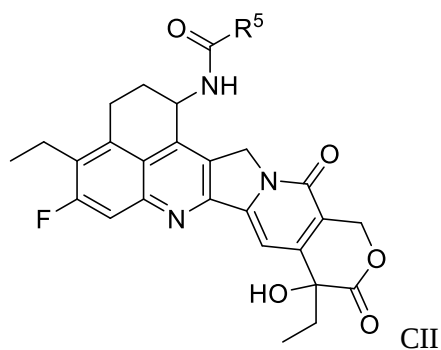
o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A² es independientemente como se define en este documento.

[0100] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IVA:



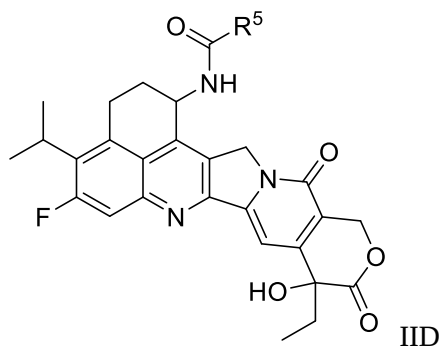
o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A^3 es independientemente como se define en este documento.

[0101] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IIC:



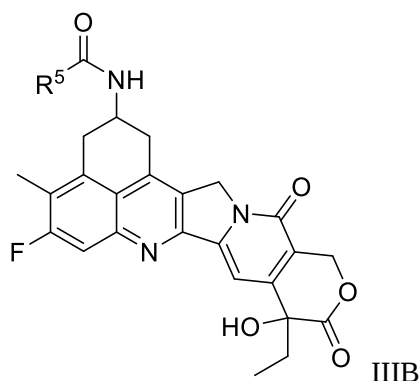
o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R^5 es independientemente como se define en este documento.

[0102] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de Fórmula IID:



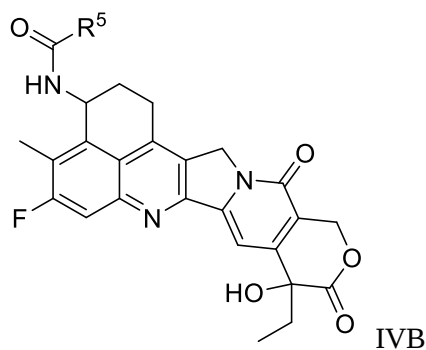
o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R^5 es independientemente como se define en este documento.

[0103] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IIIB:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R^5 es independientemente como se define en este documento.

[0104] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de la Fórmula IVB:



o estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R^5 es independientemente como se define en este documento.

[0105] En algunas realizaciones, cuando R^1 , R^2 o R^3 es distinto del hidrógeno, el compuesto comprende una fracción de enlace, L, que une covalentemente R^6 al resto del compuesto.

[0106] En algunas realizaciones, L es un enlazador no escindible.

[0107] En algunas realizaciones, L es un enlazador escindible.

[0108] [0108] En algunas realizaciones, L comprende de 1 a 100 átomos de enlace, de 1 a 50 átomos de enlace, o de 5 a 50 átomos de enlace, o de 10 a 50 átomos de enlace, o de 1 a 40 átomos de enlace, o de 1 a 30 átomos de enlace, o de 1 a 20 átomos de enlace, o de 5 a 30 átomos de enlace, o de 10 a 30 átomos

de enlace, o de 5 a 40 átomos de enlace, o de 5 a 50 átomos de enlace, o de 10 a 50 átomos de enlace, o de 20 a 50 átomos de enlace, o de 20 a 40 átomos de enlace, o de 20 a 30 átomos de enlace.

[0109] [0109] En algunas realizaciones, L comprende uno o más heteroátomos de cadena y uno o más restos alquileo, alquenileo, alquinileo, arileno, heteroarileno, cicloalquileo o heterocicloalquileo; en donde cada resto alquileo, alquenileo, alquinileo, arileno, heteroarileno, cicloalquileo o heterocicloalquileo, puede estar opcionalmente sustituido independientemente con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo, halo, alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , haloalquilo C_{1-4} y bencilo.

[0110] En algunas realizaciones, L es un enlazador de alquileo que comprende opcionalmente uno o más grupos funcionales -O-, -S-, amina, éster, amida, carbamato, carbonato, tiosuccinimida o cetonas.

[0111] En algunas realizaciones, L comprende uno o más aminoácidos. En algunas realizaciones, L comprende uno o más aminoácidos lineales o ramificados, naturales o no naturales. En algunas realizaciones, L comprende un polipéptido.

[0112] En algunas realizaciones, L comprende una o más unidades de polietilenglicol (por ejemplo, PEG que tiene un peso molecular medio de 300 g/mol a 10.000 g/mol).

[0113] En algunas realizaciones, L es $-L^1-(AA)_n-L^2-R^6$, donde cada L^1 , AA, n, L^2 y R^6 son independientes como se definen en este documento.

[0114] En algunas realizaciones, L^1 es alquileo C_{1-20} o heteroalquileo C_{2-20} ;
n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;
cada AA es independientemente un aminoácido; y
 L^2 es alquileo C_{1-40} o heteroalquileo C_{2-40} , donde el alquileo C_{1-40} o el heteroalquileo C_{2-40} comprenden opcionalmente un fenileno dentro de la cadena de alquileo C_{1-40} o heteroalquileo C_{2-40} , y el alquileo C_{1-40} o el heteroalquileo C_{2-40} se sustituyen opcionalmente por uno o más (por ejemplo, uno o dos) oxo.

[0115] En algunas realizaciones, L^1 es alquileo C_{1-20} o heteroalquileo C_{2-20} ;
n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;
cada AA es independientemente un aminoácido; y
 L^2 es alquileo C_{1-40} o heteroalquileo C_{2-40} , donde el alquileo C_{1-40} o el heteroalquileo C_{2-40} se sustituyen opcionalmente por uno o más (por ejemplo, uno o dos) oxo.

[0116] En algunas realizaciones, n es 0. En algunas realizaciones, n es 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7. En algunas realizaciones, n es 2, 3, 4, 5, 6 o 7. En algunas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, n es 2. En algunas realizaciones, n es 3. En algunas realizaciones, n es 4. En algunas realizaciones, n es 5. En algunas realizaciones, n es 6. En algunas realizaciones, n es 7.

[0117] En algunas realizaciones, L^1 es alquileo C_{1-20} . En algunas realizaciones, L^1 es alquileo C_{1-10} . En algunas realizaciones, L^1 es alquileo C_{2-6} .

[0118] En algunas realizaciones, L^1 es heteroalquileo C_{2-20} . En algunas realizaciones, L^1 es heteroalquileo C_{2-10} . En algunas realizaciones, L^1 es heteroalquileo C_{2-6} .

[0119] En algunas realizaciones, L^1 es $-(CH_2)_p-X^1-(CH_2)_q-X^2-*$ o $-X^1-(CH_2)_p$ -fenileno- $(CH_2)_q-X^2-*$; en el que el enlace * está unido a $-(AA)_n-L^2-R^6$; y

X^1 es un enlace, -O-, -S-, o -NH-;

X^2 es un enlace, -O-, -S-, o -NH-;

p es 1, 2, 3 o 4; y

q es 1, 2, 3 o 4.

[0120] En algunas realizaciones, L^1 es $-X^1-(CH_2)_p$ -fenileno- $(CH_2)_q-X^2-*$; en el que el enlace * está unido a $-(AA)_n-L^2-R^6$; y

X^1 es un enlace, -O-, -S-, o -NH-;

X^2 es un enlace, -O-, -S-, o -NH-;

p es 1, 2, 3 o 4; y

q es 1, 2, 3 o 4.

[0121] En algunas realizaciones, L^1 es $-(CH_2)_p-X^1-(CH_2)_q-X^2-*$; en donde el enlace * está unido al $-(AA)_n-L^2-R^6$; y

X^1 es un enlace, -O-, -S-, o -NH-;

X^2 es un enlace, -O-, -S-, o -NH-;

p es 1, 2, 3 o 4; y

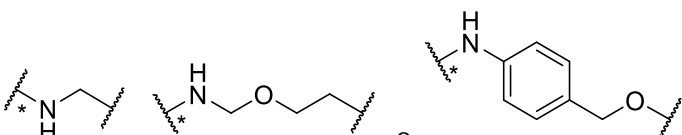
q es 1, 2, 3 o 4.

[0122] En algunas realizaciones, L^1 es $-CH_2-X^1-CH_2-X^2-*$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(CH_2)_2-X^1-CH_2-X^2-*$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(CH_2)_3-X^1-CH_2-X^2-*$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(CH_2)_4-X^1-CH_2-X^2-*$.

[0133] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2)_2\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_2\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-(CH}_2)_2\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-(CH}_2)_2\text{-X}^2\text{-*}$.

[0134] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2)_3\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_3\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-(CH}_2)_3\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-(CH}_2)_3\text{-X}^2\text{-*}$.

[0135] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2)_4\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_4\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-(CH}_2)_4\text{-X}^2\text{-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-(CH}_2)_4\text{-X}^2\text{-*}$.

[0136] En algunas realizaciones, L^1 es . en donde el enlace * está unido al $-(\text{AA})_n\text{-L}_2\text{-R}^6$.

[0137] En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_p\text{-O-(CH}_2)_q\text{-NH-*}$.

[0138] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-CH}_2\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-CH}_2\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-CH}_2\text{-NH-*}$.

[0139] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2)_2\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_2\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-(CH}_2)_2\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-(CH}_2)_2\text{-NH-*}$.

[0140] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2)_3\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_3\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-(CH}_2)_3\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-(CH}_2)_3\text{-NH-*}$.

[0141] En algunas realizaciones, L^1 es $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2)_4\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-(CH}_2)_4\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_3\text{-O-(CH}_2)_4\text{-NH-*}$. En algunas realizaciones, L^1 es $-(\text{CH}_2)_4\text{-O-(CH}_2)_4\text{-NH-*}$.

[0142] En ciertas realizaciones, L comprende más de un aminoácido secuencial para formar una unidad peptídica de fórmula $-(\text{AA})_n\text{-}$. En ciertas realizaciones, la unidad peptídica de la fórmula $-(\text{AA})_n\text{-}$ consta

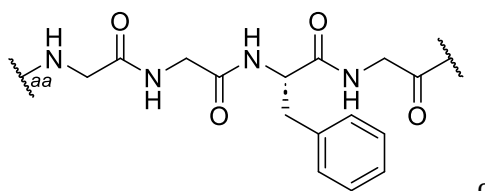
de 2 a 7 aminoácidos, donde los aminoácidos están unidos por un enlace peptídico (es decir, amida). En ciertas realizaciones, la unidad peptídica de la fórmula $-(AA)_n-$, el enlazador L^1 está unido a AA en su extremo C-, y a la fracción $-L^2-R^6$ en su extremo N-terminal.

[0143] La secuencia de aminoácidos de la unidad peptídica $-(AA)_n-$ no es particularmente limitada, pero ejemplos de la misma incluyen un aminoácido L o D, y puede comprender un aminoácido que tenga una estructura como β -alanina, ácido ε -aminocaproico, ácido γ -aminobutírico, un α -aminoácido o un aminoácido de tipo no natural, como el aminoácido N-metilado. Ejemplos específicos incluyen fenilalanina (Phe; F), tirosina (Tyr; Y), leucina (Leu; L), glicina (Gly; G), alanina (Ala; A), valina (Val; V), lisina (Lys; K), citrulina (Cit), serina (Ser; S), ácido glutámico (Glu; E) y ácido aspártico (Asp; D). En ciertas realizaciones, la unidad peptídica $-(AA)_n-$ comprende uno o más (por ejemplo, 2 a 7, o 2 a 5, o 3 a 5, o 4) residuos de aminoácidos seleccionados independientemente de fenilalanina, glicina, valina, lisina, citrulina, serina, ácido glutámico y ácido aspártico.

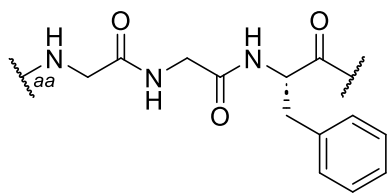
[0144] En ciertas realizaciones, $-(AA)_n-$ se selecciona de -FGG-, -FGGD-, -FGG-(D-)D-, -FGGE-, -GFGG-, -FGGS-, -FGGK-, -GFGGD-, -GGFGG-, -GFGGDD-, -GFGGDK-, -FGGGFGG-, en donde (D-)D se refiere al ácido D-aspártico.

[0145] En algunas realizaciones, n es 2, 3, 4, 5, 6 o 7, y cada AA se selecciona independientemente de Gly y Phe.

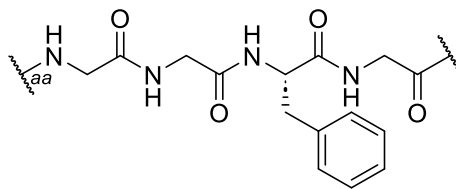
[0146] En algunas realizaciones, $-(AA)_n-$ es -Gly-Phe-Gly-Gly- (-GFGG-).

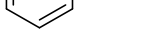


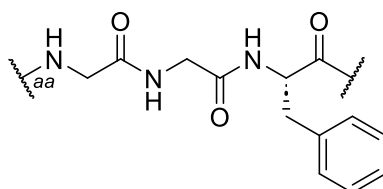
[0147] En algunas realizaciones, $-(AA)_n-$ es



, en donde el enlace aa está unido a L^2 .



[0148] En algunas realizaciones, $-(AA)_n-$ es , en donde el enlace aa está unido a L^2 .



[0149] En algunas realizaciones, $-(AA)_n-$ es , en donde el enlace aa está unido a L^2 .

[0150] En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{1-40} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{1-30} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{1-20} opcionalmente sustituido por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{1-10} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{5-40} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{5-30} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{5-20} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es alquileo C_{5-10} opcionalmente sustituido por uno o más oxo.

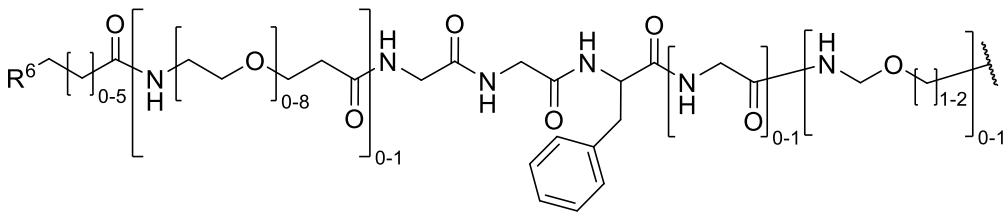
[0151] En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)$ -alquileo C_{0-39} . En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)$ -alquileo C_{1-15} . En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)$ -alquileo C_{1-10} . En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)$ -alquileo C_{5-10} .

[0152] En algunas realizaciones, L^2 es heteroalquileo C_{2-40} sustituido opcionalmente por uno o más oxo. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)$ - heteroalquileo C_{1-39} .

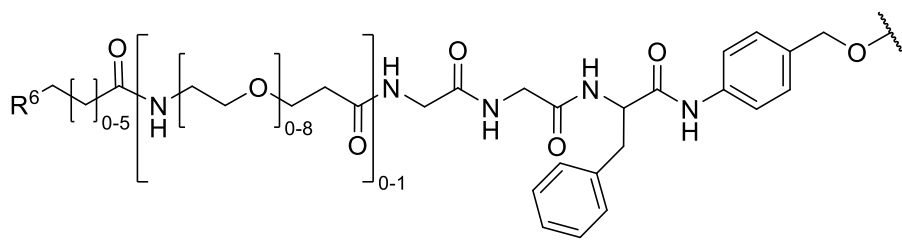
[0153] En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_{1-10}-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_{1-8}-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_{1-5}-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_{2-10}-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_{2-8}-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_{2-5}-CH_2CH_2-$.

[0154] En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-CH_2CH_2O-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_2-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_3-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_4-CH_2CH_2-$. En algunas realizaciones, L^2 es $-C(O)-(CH_2CH_2O)_5-$.

[0155] En algunas realizaciones, L² es  o , en

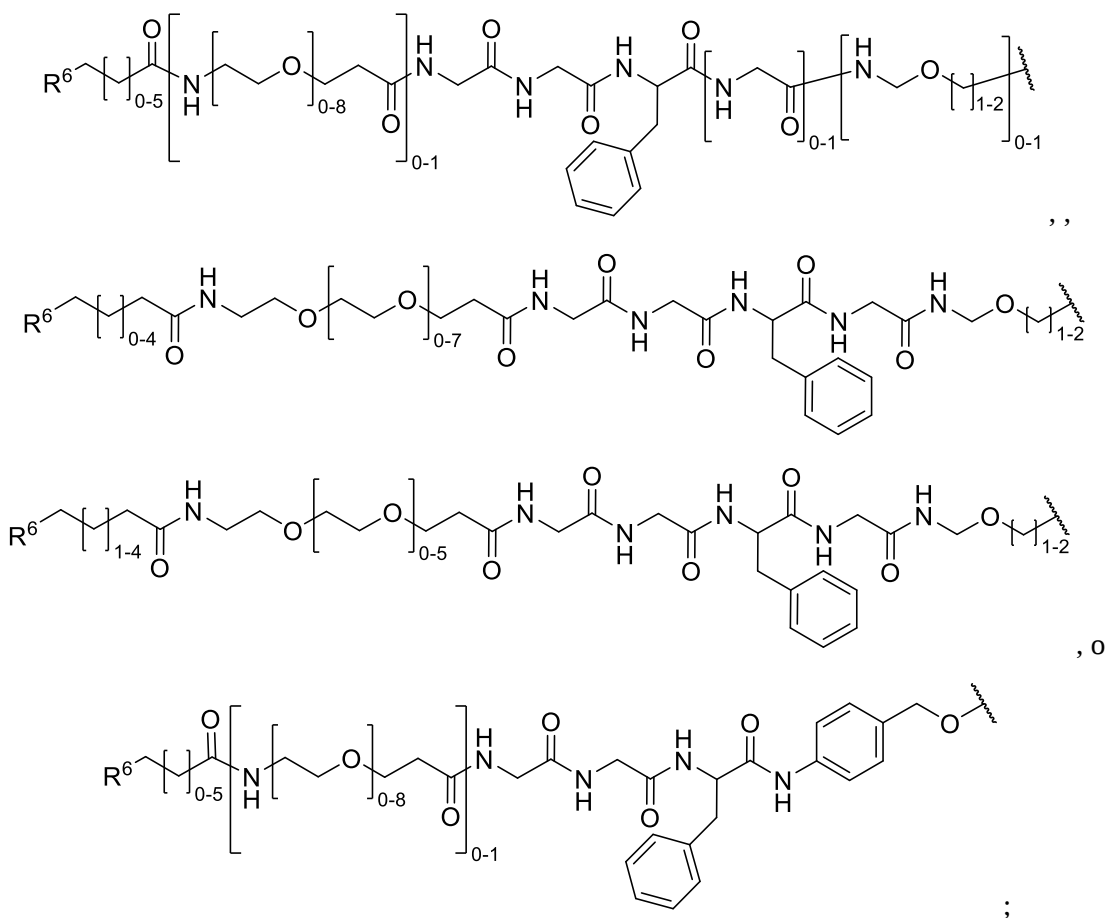


[0162] En algunas realizaciones, R⁵ es:



donde R⁶ es heterocíclico, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

[0163] En algunas realizaciones, R⁵ es:



donde R⁶ es heterocíclico, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

[0164] En algunas realizaciones, p es 1. En algunas realizaciones, p es 2. En algunas realizaciones, p es 3. En algunas realizaciones, p es 4.

[0165] En algunas realizaciones, q es 1. En algunas realizaciones, q es 2. En algunas realizaciones, q es 3. En algunas realizaciones, q es 4.

[0166] En algunas realizaciones, p es 1 y q es 1. En algunas realizaciones, p es 2 y q es 1. En algunas realizaciones, p es 3 y q es 1. En algunas realizaciones, p es 4 y q es 1. En algunas realizaciones, p es 1 y q es 2. En algunas realizaciones, p es 2 y q es 2. En algunas realizaciones, p es 3 y q es 2. En algunas realizaciones, p es 4 y q es 2. En algunas realizaciones, p es 1 y q es 3. En algunas realizaciones, p es 2 y q es 3. En algunas realizaciones, p es 3 y q es 3. En algunas realizaciones, p es 4 y q es 3. En algunas realizaciones, p es 1 y q es 4. En algunas realizaciones, p es 2 y q es 4. En algunas realizaciones, p es 3 y q es 4. En algunas realizaciones, p es 4 y q es 4.

[0167] En algunas realizaciones, R⁶ es hidrógeno. En algunas realizaciones, R⁶ es heterocíclico, en el que dicho heterociclilo se une opcionalmente covalentemente a un anticuerpo o a un fragmento de unión al antígeno. En algunas realizaciones, R⁶ es heterociclilo.

[0168] En algunas realizaciones, A³ es -NH-C(O)R⁵; y A¹ y A² son hidrógeno.

[0169] En algunas realizaciones, A³ es -NH-C(O)-L¹-(AA)_n-L²-R⁶; y A¹ y A² son ambas hidrógeno.

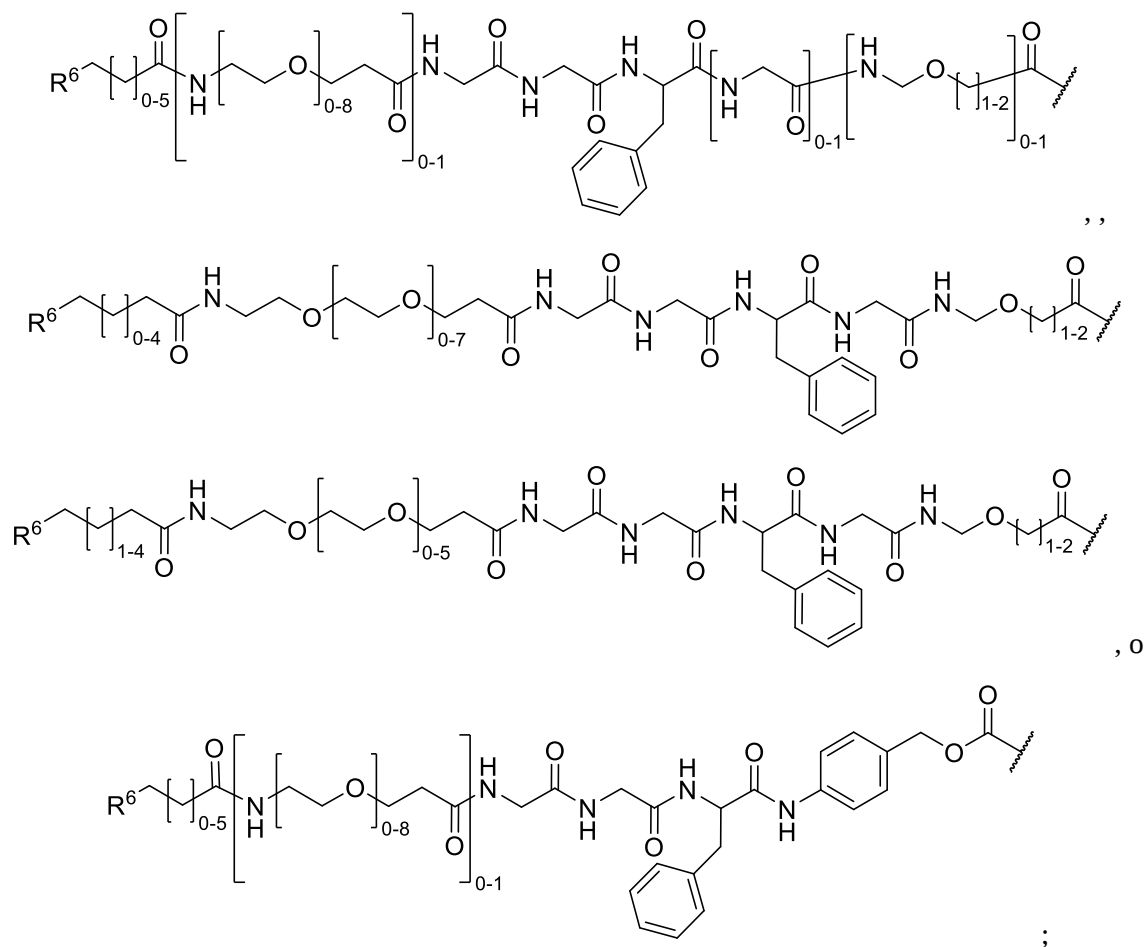
[0170] En algunas realizaciones, A³ es -NH-C(O)-L¹-(AA)_n-L²-R⁶; y A¹ y A² son ambas hidrógeno; L¹ es -(CH₂)_p-X¹-(CH₂)_q-X²-* o -X¹-(CH₂)_p-fenileno-(CH₂)_q-X²-*; en el que el enlace * se adjunta al -(AA)_n-L²-R⁶;

n es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

cada AA es independientemente un aminoácido; y

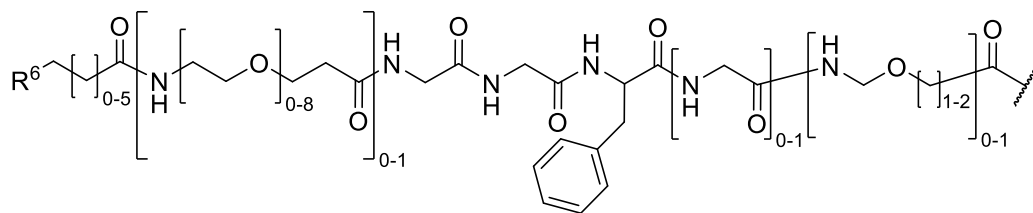
L² es alquileo C₁₋₄₀ o heteroalquileo C₂₋₄₀, donde el alquileo C₁₋₄₀ o el heteroalquileo C₂₋₄₀ comprenden opcionalmente un fenileno dentro de la cadena de alquileo C₁₋₄₀ o heteroalquileo C₂₋₄₀, y el alquileo C₁₋₄₀ o el heteroalquileo C₂₋₄₀ se sustituyen opcionalmente por uno o más (por ejemplo, uno o dos) oxo.

[0171] En algunas realizaciones, R¹, R² o R³ es:



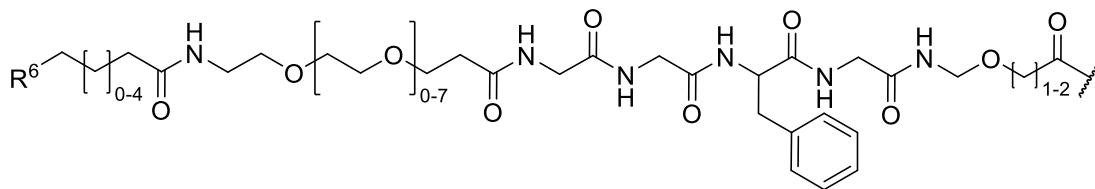
donde R^6 es heterociclilo, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

[0172] En algunas realizaciones, R^1 , R^2 o R^3 es:



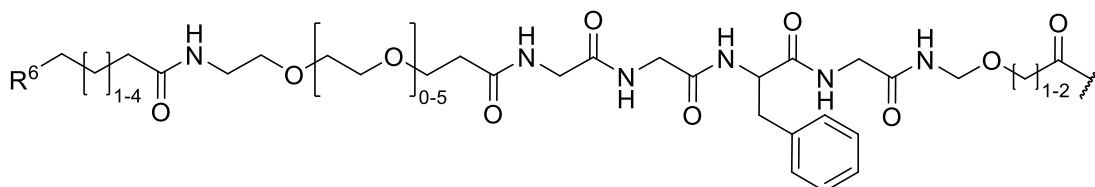
donde R^6 es heterociclilo, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

[0173] En algunas realizaciones, R^1 , R^2 o R^3 es:



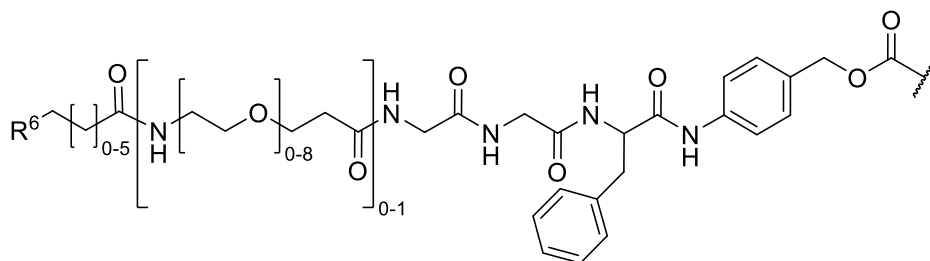
donde R^6 es heterociclilo, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

[0174] En algunas realizaciones, R^1 , R^2 o R^3 es:



donde R^6 es heterociclilo, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

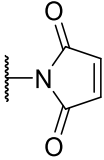
[0175] En algunas realizaciones, R^1 , R^2 o R^3 es:

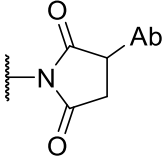


donde R^6 es heterociclilo, donde dicho heterociclilo está opcionalmente unido covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

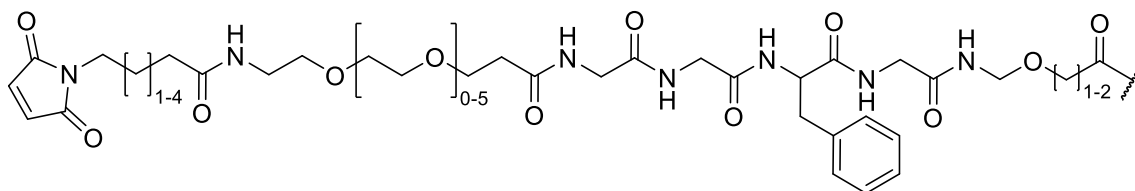
[0176] En algunas realizaciones, R^6 es heterociclilo, que heterociclilo está unido covalentemente a un anticuerpo o a un fragmento de unión al antígeno.

[0177] En algunas realizaciones, R^6 es heterociclilo, en el que dicho heterociclilo se une opcionalmente covalentemente a un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno a través de un residuo de cistina o lisina en el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

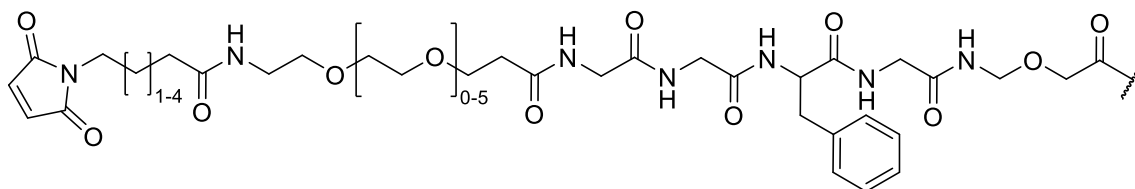
[0178] En algunas realizaciones, R⁶ es .

[0179] En algunas realizaciones, R⁶ es , donde Ab es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno.

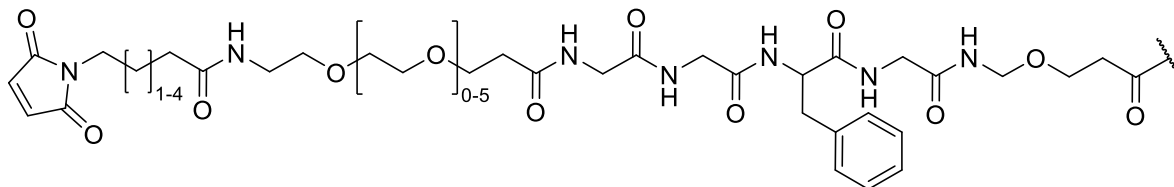
[0180] En algunas realizaciones, R¹, R² o R³ es:



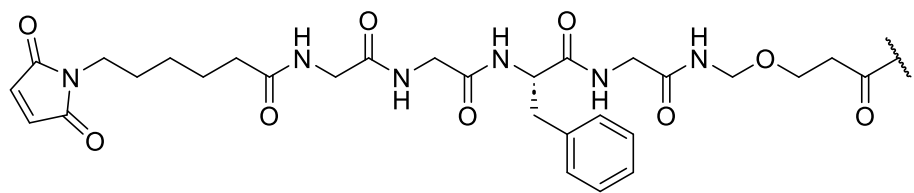
[0181] En algunas realizaciones, R¹, R² o R³ es:



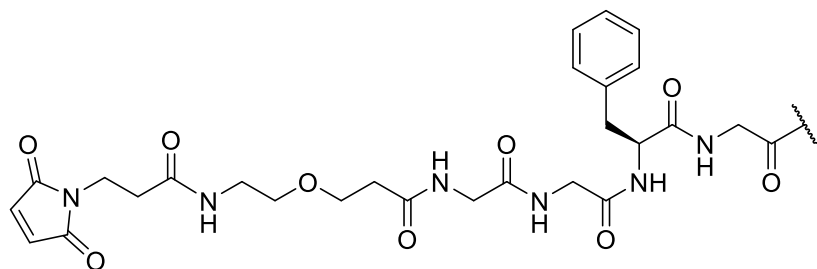
[0182] En algunas realizaciones, R¹, R² o R³ es:



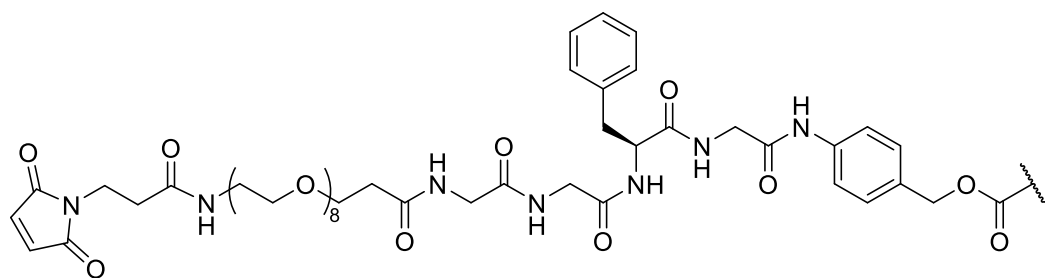
[0183] En algunas realizaciones, R¹, R² o R³ es:



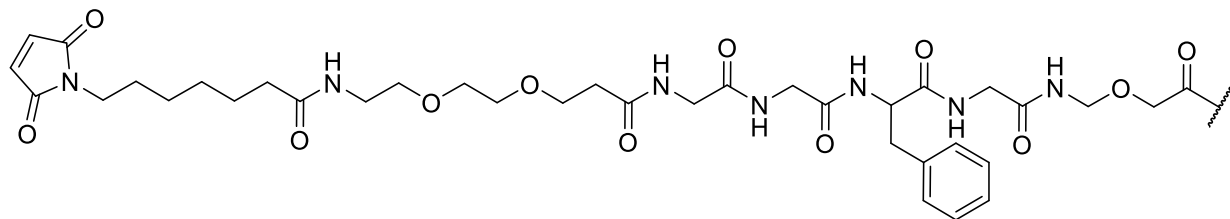
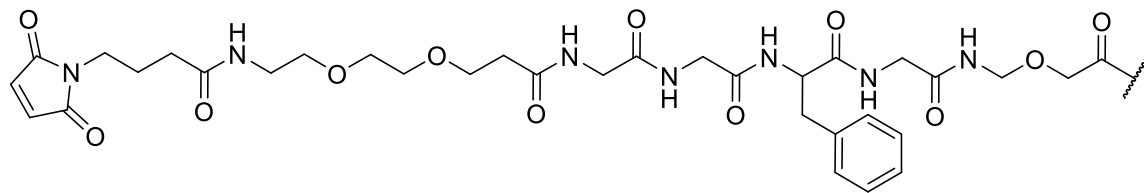
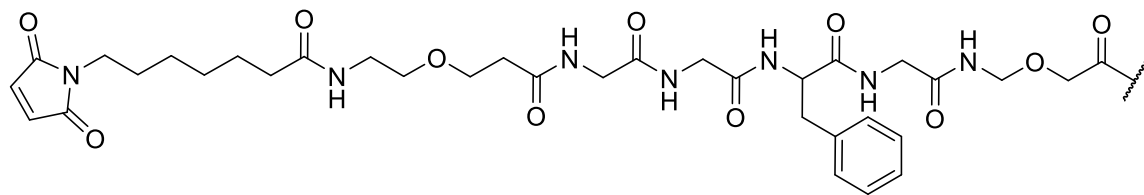
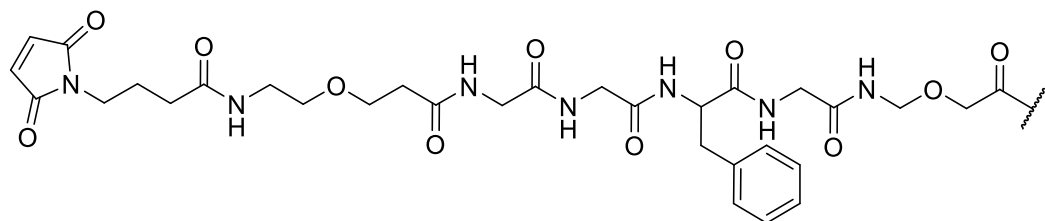
,

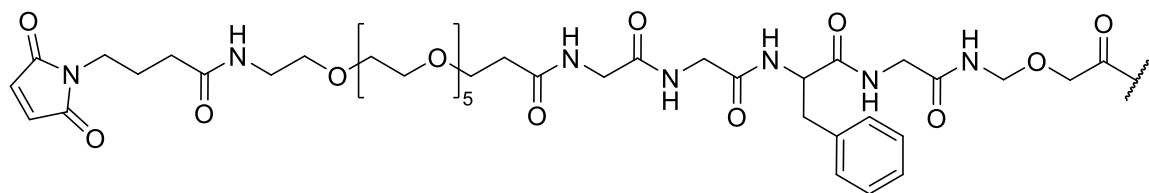
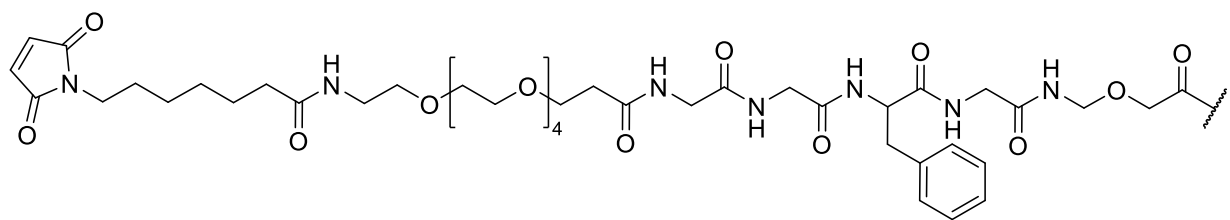
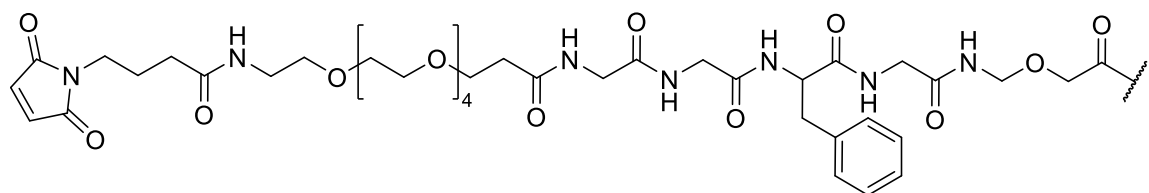
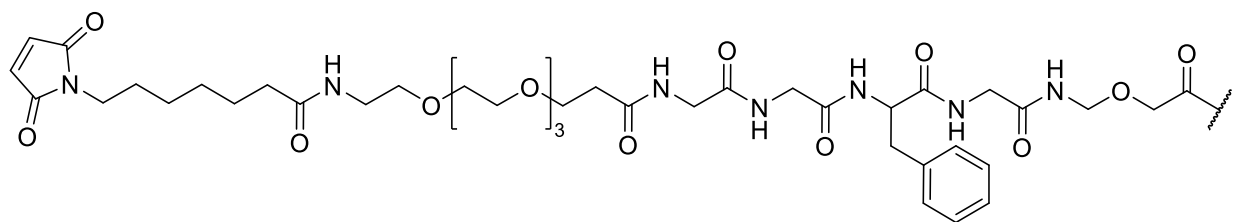
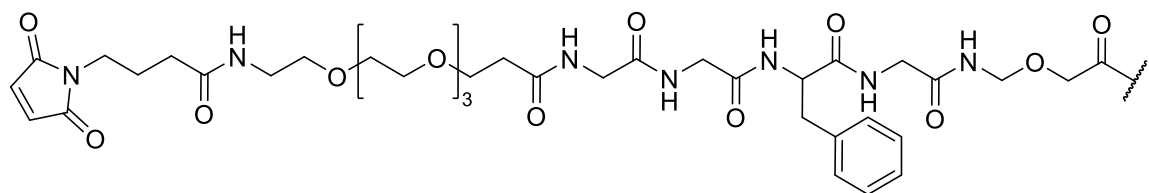
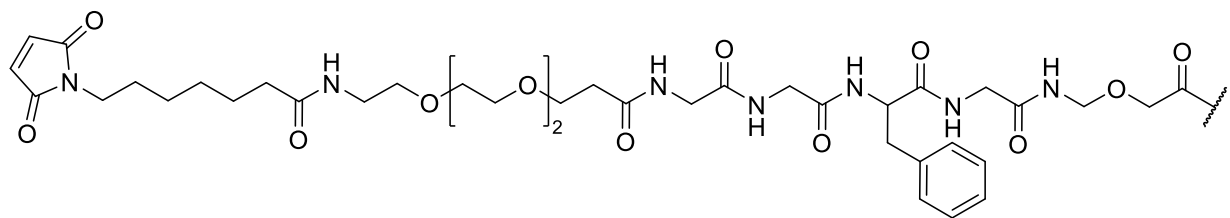
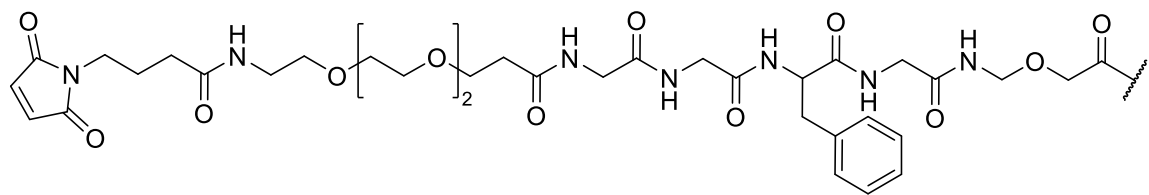


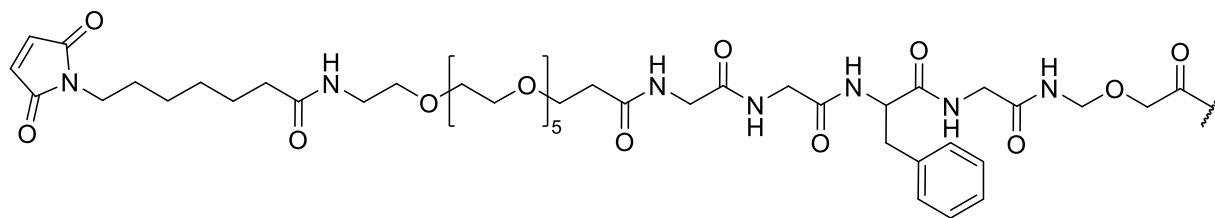
,



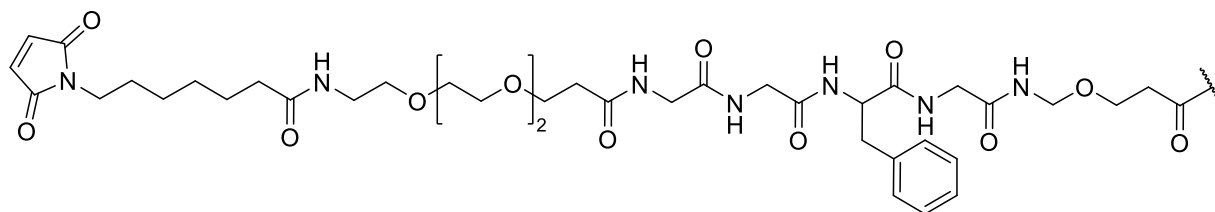
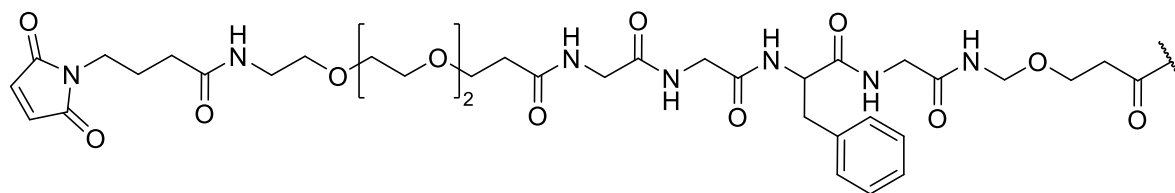
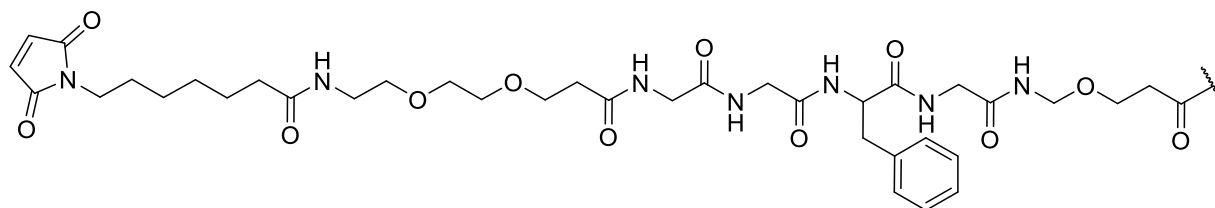
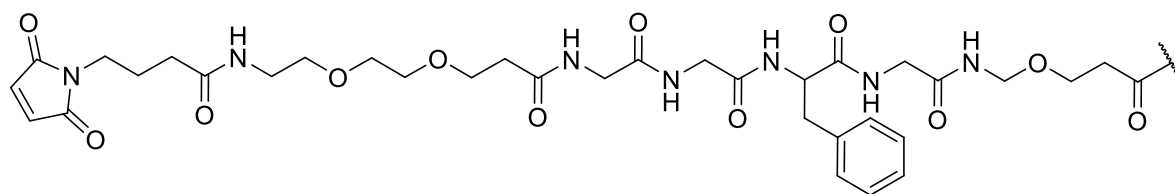
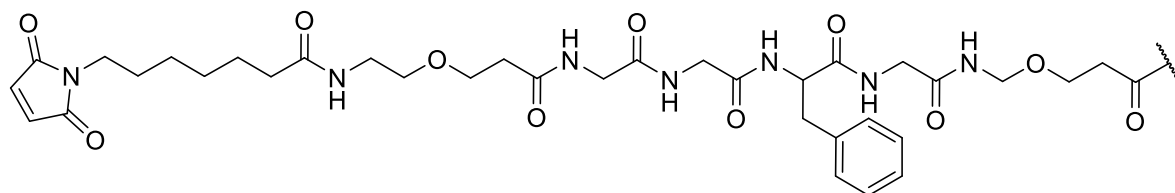
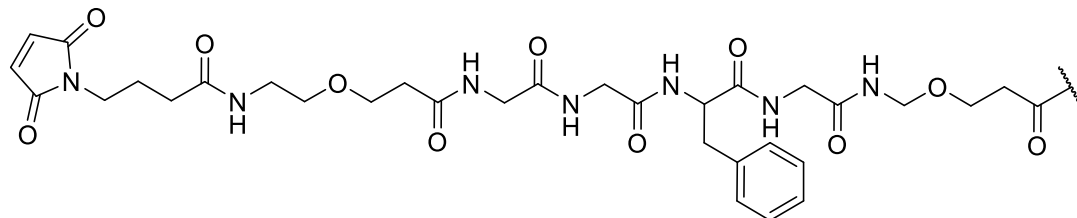
,

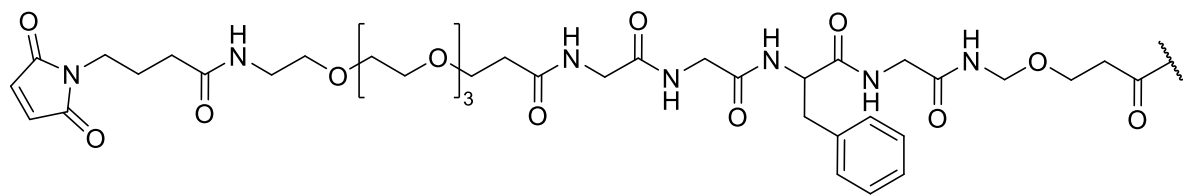




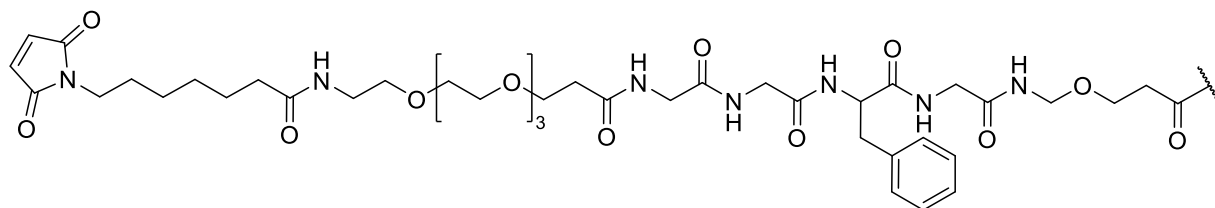


[0184] En algunas realizaciones, R¹, R² o R³ es:

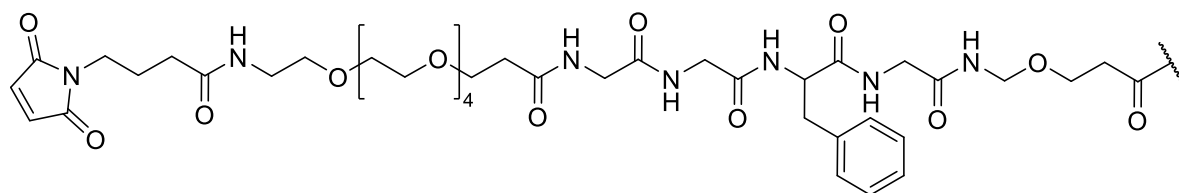




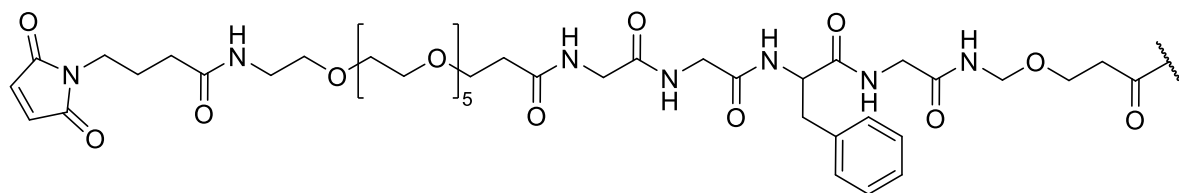
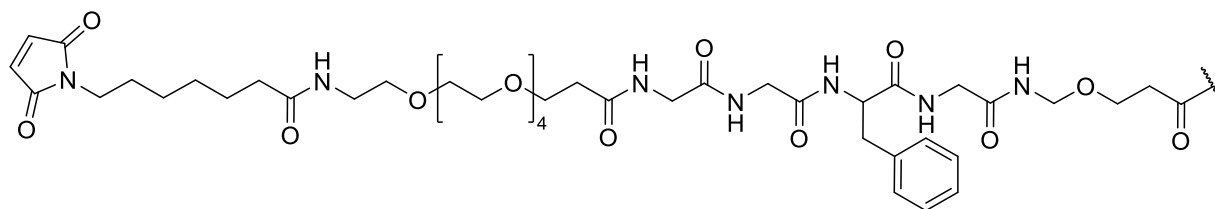
,



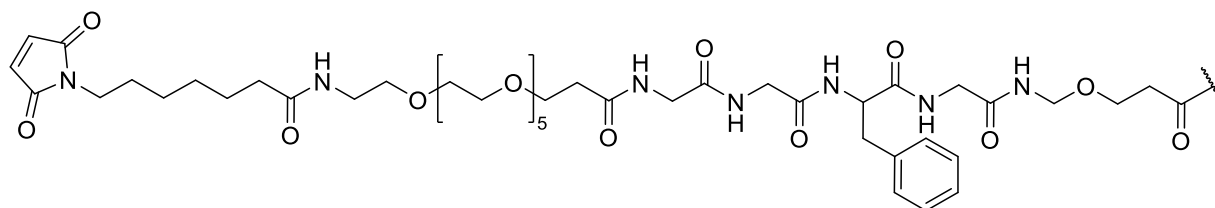
,,



,

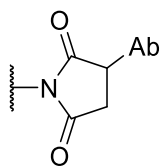
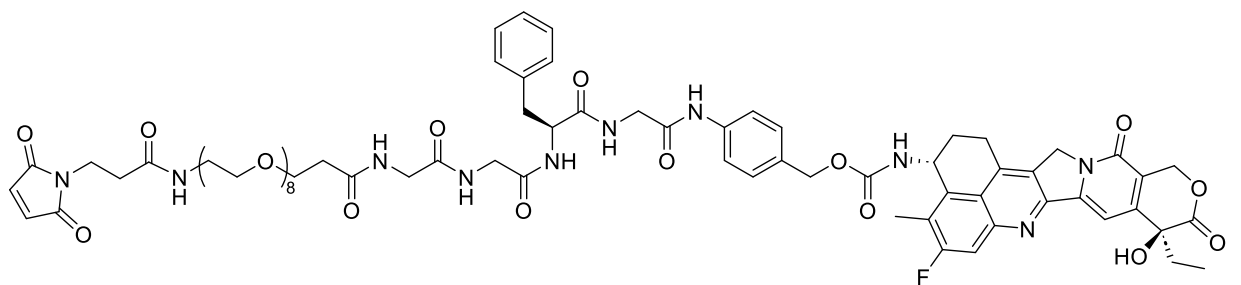
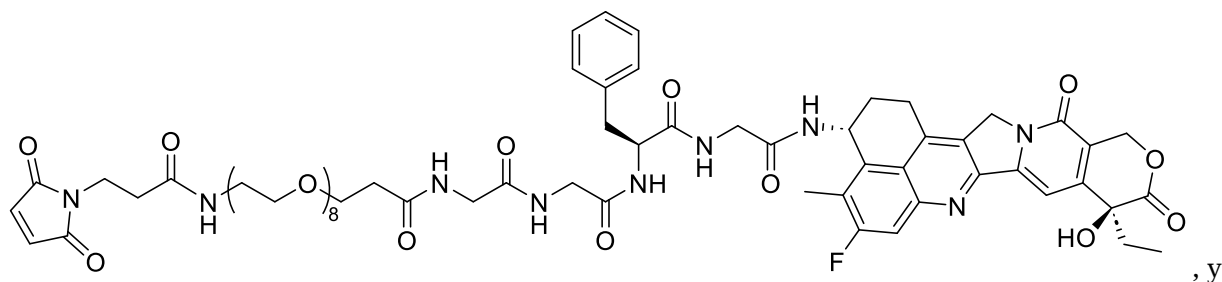
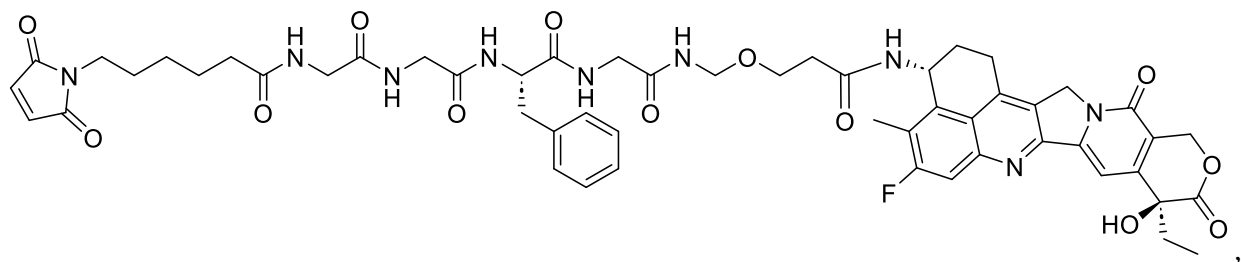


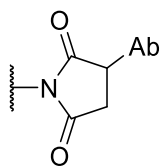
o



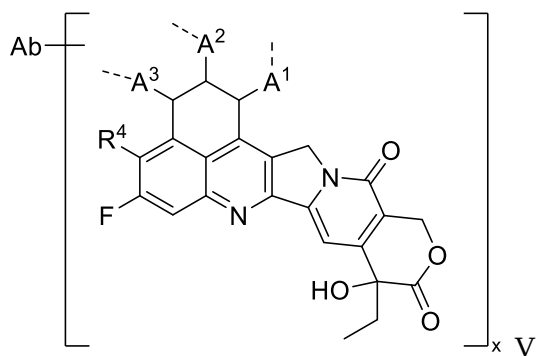
.

[0185] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto seleccionado de:



[0186] En algunas realizaciones, R^6 es , donde Ab es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno.

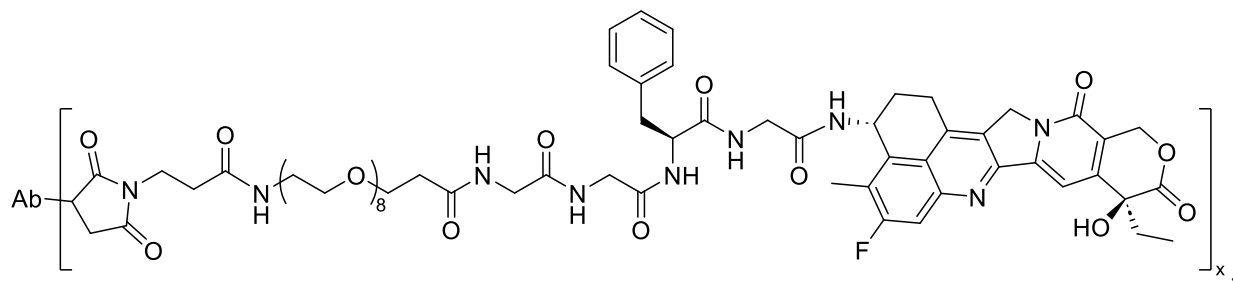
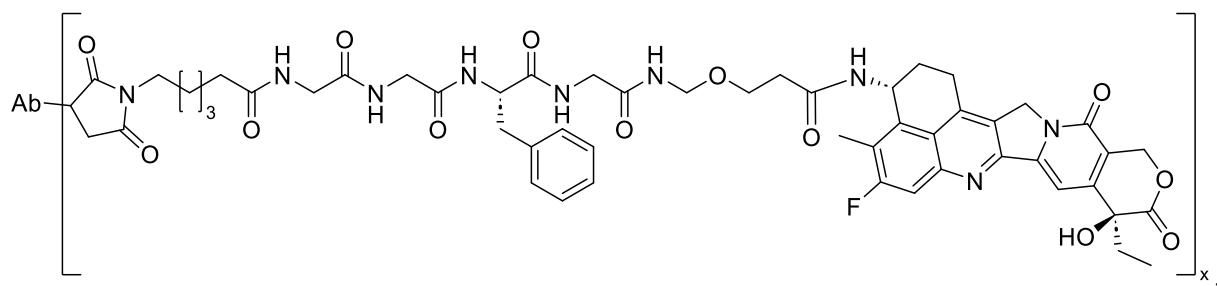
[0187] En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno puede comprender más de una porción de carga útil (por ejemplo, compuesto de Fórmula I). En consecuencia, también se proporciona un compuesto de la Fórmula V:



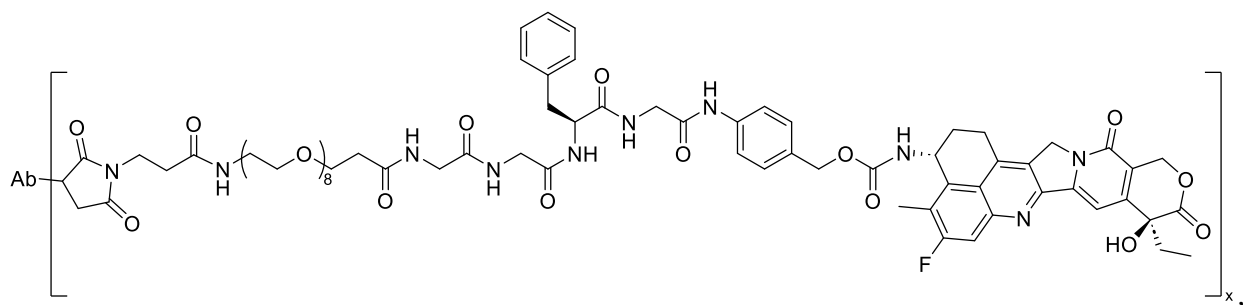
donde cada uno de los A^1 , A^2 , A^3 y R^4 son independientes como se definen en este documento; una línea discontinua representa un vínculo con Ab y las otras dos líneas discontinuas están ausentes, y x es de 1-20, o 1-15, o 1-10, o 1-5, o 2-8, o 3-8, o 4-8.

[0188] En algunas realizaciones, x es 4. En algunas realizaciones, x es 5. En algunas realizaciones, x es 6. En algunas realizaciones, x es 7. En algunas realizaciones, x es 8. En algunas realizaciones, x es 4, 6 u 8. En algunas realizaciones, x es 4-8.

[0189] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto seleccionado de:



y



en el que Ab es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno.

[0190] Algunos ejemplos de anticuerpos son, entre otros, 3F8 (anti-GD2), abagovomab (anti CA-125), Abciximab (anti CD41 (integrina alfa-IIb), adalimumab (anti-TNF- α), adecatumumab (anti-EpCAM, CD326), afelimomab (anti-TNF- α), afutuzumab (anti-CD20), alacizumab pegol (anti-VEGFR2), ALD518 (anti-IL-6), alemtuzumab (Campath, MabCampath, anti-CD52), altumomab (anti-CEA), anatumomab (anti-TAG-72), anrukinzumab (IMA-638, anti-IL-13), apolizumab (anti-HLA-DR), Arcitumomab (anti-CEA), Aselizumab (anti-L-selectina (CD62L), Atlizumab (tocilizumab, Actemra, RoActemra, anti-receptor IL-6), Atorolimumab (anti-factor Rhesus), Bapineuzumab (anti-beta amiloide), Basiliximab (Simulect, antiCD25 (cadena α del receptor de IL-2), Bavtuximab (anti-fosfatidilserina), Bectumomab (LymphoScan, anti-CD22), Belimumab (Benlysta, LymphoStat-B, anti-BAFF), Benralizumab (anti-CD125), Bertilimumab (anti-CCL11 (eotaxina-1)), Besilesomab (Scintimun, antígeno relacionado con anti-CEA), Bevacizumab (Avastin, anti-VEGF-A), Biciromab (FibriScint, cadena beta anti-fibrina II), Bivatuzumab (anti-CD44 v6), Blinatumomab (BiTE, anti-CD19), Brentuximab (cAC10, anti-CD30 TNFRSF8), Briakinumab (anti-IL-12, IL-23), Canakinumab (Ilaris, anti-IL-1), Cantuzumab (C242, anti-CanAg), Capromab, Catumaxomab (Removab, anti-EpCAM, anti-CD3), CC49 (anti-TAG-72), Cedelizumab (anti-CD4), Certolizumab pegol (Cimzia anti-TNF- α), Cetuximab (Erbix, IMC-C225, anti-EGFR), Citatuzumab bogatox (anti-EpCAM), Cixutumumab (anti-IGF-1), Clenoliximab (anti-CD4), Clivatuzumab (anti-MUC1), Conatumumab (anti-TRAIL-R2), CR6261 (hemaglutinina antigripal A), Dacetuzumab (anti-CD40), Daclizumab (Zenapax, anti-CD25 (cadena α del receptor de IL-2)), Daratumumab (anti-CD38 (ADP ribosa hidrolasa cíclica), Denosumab (Prolia, anti-RANKL), Detumomab (células anti-linfoma B), Dorlimab, Dorlixizumab, Ecomeximab (gangliósido anti-GD3), Eculizumab (Soliris, anti-C5), Edobacomab (anti-endotoxina), Edrecolomab (Panorex, MAb17-1A, anti-EpCAM), Efalizumab (Raptiva, anti-LFA-1 (CD11a), Efungumab (Mycograb, anti-Hsp90), Elotuzumab (anti-SLAMF7), Elsilimomab (anti-IL-6), Enlimomab pegol (anti-ICAM-1 (CD54)), Eptumomab (anti-episialina), Epratuzumab (anti-CD22), Erlizumab (anti-ITGB2 (CD18)), Ertumaxomab (Reximun, anti-HER2/neu, CD3), Etaracizumab (Abegrin, anti-integrina α v β 3), Exbivirumab (antígeno de superficie antihepatitis B), Fanolesomab (NeutroSpec, anti-CD15), Faralimomab (anti-receptor de interferón),

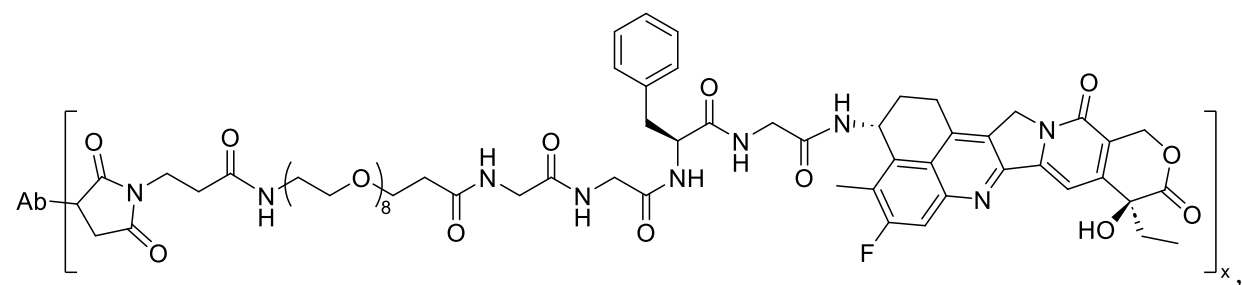
Farletuzumab (anti-folato receptor 1), Felvizumab (anti-virus respiratorio sincitial), Fezakinumab (anti-IL-22), Figitumumab (anti-receptor IGF-1), Fontolizumab (anti-IFN- γ), Foravirumab (glicoproteína contra el virus de la rabia), Fresolimumab (anti-TGF- β), Galiximab (anti-CD80), Gantenerumab (anti-beta amiloide), Gavilimomab (anti-CD147 (basigin)), Gemtuzumab (anti-CD33), Girentuximab (anti-anhidrasa carbónica 9), Glembatumumab (CR011, anti-GPNMB), Golimumab (Simponi, anti-TNF- α), Gomiliximab (anti-CD23 (receptor IgE)), anti- Anticuerpo HLA-DR, Ibalizumab (anti-CD4), Ibritumomab (anti-CD20), Igovomab (Indimacis-125, anti-CA-125), Imciromab (Mioscinte, antimiosina cardíaca), Infliximab (Remicade, anti-TNF- α), Intetumumab (anti-CD51), Inolimomab (anti-CD25 (cadena α de IL-receptor 2)), Inotuzumab (anti-CD22), Ipilimumab (anti-CD152), Iratumumab (anti-CD30 (TNFRSF8)), Keliximab (anti-CD4), Labetuzumab (CEA-Cide, anti-CEA), Lebrikizumab (anti-IL-13), Lemalesomab (anti-NCA-90 (antígeno de granulocitos)), Lerdelimumab (anti-TGF beta 2), Lexatumumab (anti-TRAIL-R2), Libivirumab (antígeno de superficie anti-hepatitis B), Lintuzumab (anti-CD33), Lucatumumab (anti-CD40), Lumiliximab (anti-CD23 (receptor de IgE), Mapatumumab (anti-TRAIL-R1), Maslimomab (anti-receptor de células T), Matuzumab (anti-EGFR), Mepolizumab (Bosatria, anti-IL-5), Metelimumab (anti-TGF beta 1), Milatuzumab (anti-CD74), Minretumomab (anti-TAG-72), Mitumomab (BEC-2, gangliósido anti-GD3), Morolimumab (anti-factor Rhesus), Motavizumab (Numax, virus sincitial antirrespiratorio), Muromonab-CD3 (Orthoclon OKT3, anti-CD3), Nacolomab (anti-C242), Naptumomab (anti-5T4), Natalizumab (Tysabri, antiintegrina α 4), Nebacumab (antiendotoxina), Necitumumab (anti-EGFR), Nerelimomab (anti-TNF- α), Nimotuzumab (Theracim, Theraloc, anti-EGFR), Nofetumomab, Ocrelizumab (anti-CD20), Odulimomab (Afolimomab, anti-LFA-1 (CD11a)), Ofatumumab (Arzerra, anti-CD20), Olaratumab (anti-PDGF-R α), Omalizumab (Xolair, región anti-IgE Fc), Oportuzumab (anti-EpCAM), Oregovomab (OvaRex, anti-CA-125), Otelixizumab (anti-CD3), Pagibaximab (ácido anti-lipoteicoico), Palivizumab (Synagis, Abbosynagis, anti-virus respiratorio sincitial), Panitumumab (Vectibix, ABX-EGF, anti-EGFR), Panobacumab (anti-Pseudomonas aeruginosa), Pascolizumab (anti-IL-4), Pemtumomab (Theragyn, anti-MUC1), Pertuzumab (Omnitarg, 2C4, anti-HER2/neu), Pexelizumab (anti-C5), Pintumomab (antígeno anti-adenocarcinoma), Priliximab (anti-CD4), Pritumumab (anti-vimentina), PRO 140 (anti-CCR5), Racotumomab (1E10, anti-(ácido N-glicolilneuramínico (NeuGc, NGNA)-gangliósidos GM3)), Rafivirumab (glicoproteína contra el virus de la rabia), Ramucirumab (anti-VEGFR2), Ranibizumab (Lucentis, anti-VEGF-A), Raxibacumab (toxina anti-ántrax, antígeno protector), Regavirumab (glicoproteína B anti-citomegalovirus), Reslizumab (anti-IL-5), Rilotumumab (anti-HGF), Rituximab (MabThera, Rituxanmab, anti-CD20), Robatumumab (receptor anti-IGF-1), Rontalizumab (anti-IFN- α), Rovelizumab (LeukArrest, anti-CD11, CD18), Ruplizumab (Antova, anti-CD154 (CD40L)), Satumomab (anti-TAG-72), Sevirumab (anti-citomegalovirus), Sibrotuzumab (anti-FAP), Sifalimumab (anti-IFN- α), Siltuximab (anti-IL-6),

Siplizumab (anti-CD2), (Smart) MI95 (anti-CD33), Solanezumab (anti-beta amiloide), Sonepcizumab (anti-esfingosina-1-fosfato), Sontuzumab (anti-episialina), Stamulumab (anti-miostatina), Sulesomab (LeukoScan, (anti-NCA-90 (antígeno granulocitario), Tacatuzumab (anti-alfa-fetoproteína), Tadocizumab (antiintegrina α IIb β 3), Talizumab (anti-IgE), Tanezumab (anti-NGF), Taplitumomab (anti-CD19), Tefibazumab (Aurexis, (factor aglutinante A), Telimomab, Tenatumomab (antitenascina C), Teneliximab (anti-CD40), Teplizumab (anti-CD3), TGN1412 (anti-CD28), Ticilimumab (Tremelimumab, (anti-CTLA-4), Tigatuzumab (anti-TRAIL-R2), TNX-650 (anti-IL-13), Tocilizumab (Atlizumab, Actemra, RoActemra, (receptor anti-IL-6), Toralizumab (anti-CD154 (CD40L)), Tositumomab (anti-CD20), Trastuzumab (Herceptin, (anti-HER2/neu), Tremelimumab (anti-CTLA-4), Tucotuzumab celmoleukin (anti-EpCAM), Tuvirumab (anti-virus de la hepatitis B), Urtoxazumab (anti-Escherichia coli), Ustekinumab (Stelara, anti-IL-12, IL-23), Vapaliximab (anti-AOC3 (VAP-1)), Vedolizumab, (anti-integrina α 4 β 7), Veltuzumab (anti-CD20), Vepalimomab (anti-AOC3 (VAP-1), Visilizumab (Nuvion, anti-CD3), Vitaxina (integrina antivascular avb3), Volociximab (anti-integrina α 5 β 1), Votumumab (HumaSPECT, antígeno antitumoral CTAA16.88), Zalutumumab (HuMax-EGFr, (anti-EGFR), Zanolimumab (HuMax-CD4, anti-CD4), Ziralimumab (anti-CD147 (basigin)), Zolimomab (anti-CD5), Etanercept, Alefacept, Abatacept, Rilonacept (Arcalyst), 14F7 (anti-IRP-2 (Proteína Reguladora del Hierro 2)), 14G2a (gangliósido anti-GD2, del Instituto Nacional de Cáncer para melanoma y tumores sólidos), J591 (anti-PSMA, Escuela de Medicina Weill Cornell para cánceres de próstata), 225.28S (anti-HMW-MAA (antígeno asociado al melanoma de alto peso molecular), Sorin Radiofarmaci S.R. L. (Milán, Italia) para melanoma), COL-1 (anti-CEACAM3, CGM1, de Nat. Cancer Inst. USA para cánceres colorrectales y gástricos), CYT-356 (para cánceres de próstata), HNK20 (OraVax Inc. para el virus respiratorio sincitial), ImmuRAIT (de Immunomedics para NHL), Lym-1 (anti-HLA-DR10, Peregrine Pharm. para cánceres), MAK-195F (anti-TNF (factor de necrosis tumoral; TNFA, TNF-alfa; TNFSF2), de Abbott /Knoll para el shock tóxico por sepsis), MEDI-500, T10B9, anti-CD3, TR $\alpha\beta$ (receptor de células T alfa/beta), complejo, de MedImmune Inc para la enfermedad de injerto contra huésped), RING SCAN (anti-TAG 72 (glicoproteína 72 asociada al tumor), de Neoprobe Corp. para los cánceres de mama, colon y recto), Avicidina (anti-EPCAM (molécula de adhesión de células epiteliales), anti-TACSTD1 (transductor de señal de calcio asociado a tumores 1), anti-GA733-2 (proteína 2 asociada a tumores gastrointestinales), anti-EGP-2 (glicoproteína epitelial 2), anti-KSA; antígeno KS1/4; M4S; antígeno tumoral 17-1A; CD326, de NeoRx Corp. para cánceres de colon, ovario, próstata y LNH), anticuerpo humanizado anti-Trop-2 hRS7, LymphoCide (Immunomedics, NJ), Smart ID10 (Protein Design Labs), Oncolym (Techniclone Inc, CA), Allomune (BioTransplant, CA), anti-VEGF (Genentech, CA), CEAcide (Immunomedics, NJ), IMC-1C11 (ImClone Systems) y Cetuximab (ImClone).

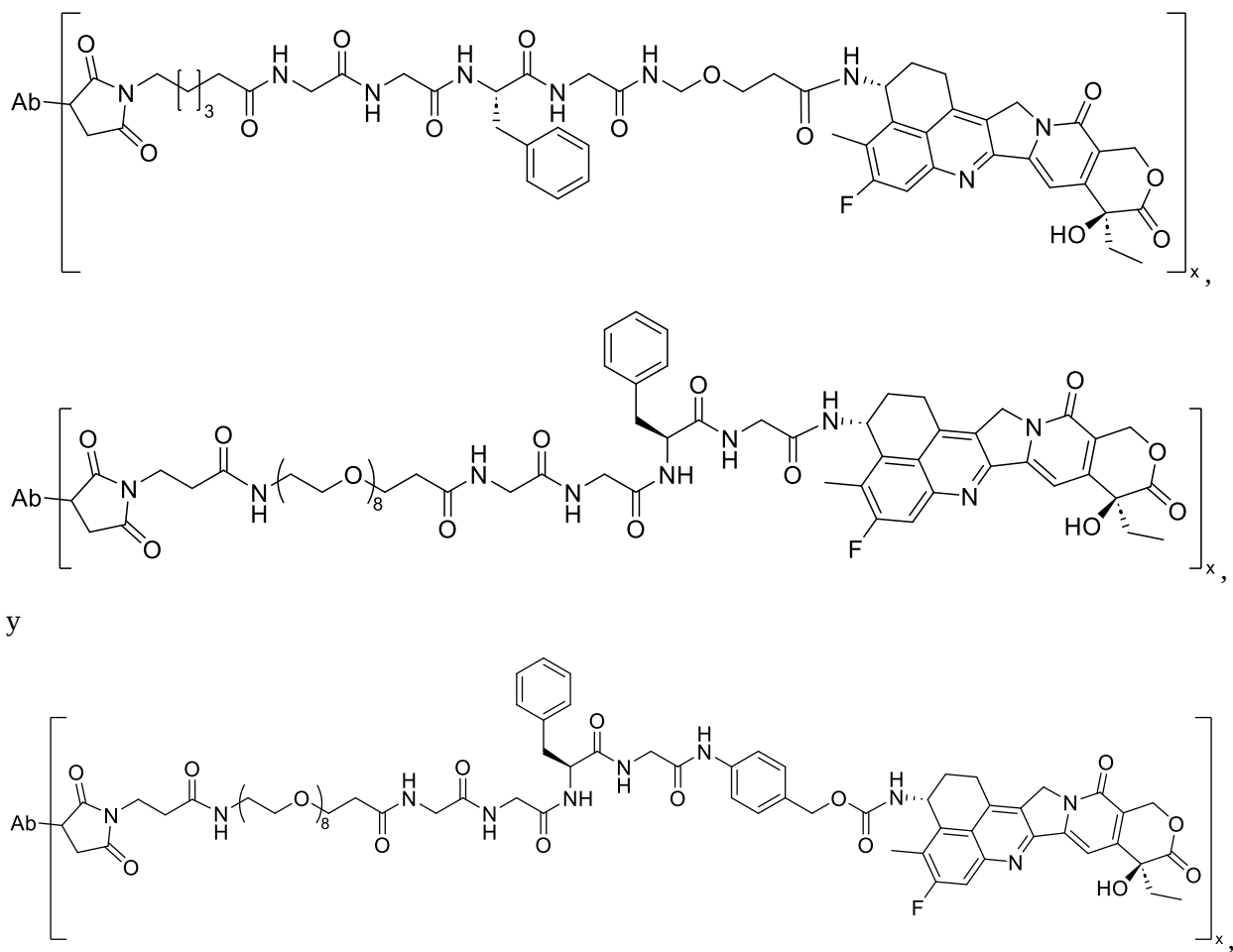
[0191] En algunas realizaciones, el fragmento de unión al anticuerpo o antígeno se dirige a uno o más de los siguientes antígenos: aminopeptidasa N (CD13), anexina A1, B7-H3 (CD276, varios cánceres), CA125 (ovario), CA15-3 (carcinomas), CA19-9 (carcinomas), L6 (carcinomas), Lewis Y (carcinomas), Lewis X (carcinomas), alfafetoproteína (carcinomas), CA242 (colorrectal), fosfatasa alcalina placentaria (carcinomas), antígeno prostático específico (próstata), fosfatasa ácida prostática (próstata), factor de crecimiento epidérmico (carcinomas), CD2 (enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple), CD3 épsilon (linfoma de células T, cáncer de pulmón, mama, gástrico, ovario, enfermedades autoinmunes, ascitis maligna), CD19 (neoplasias malignas de células B), CD20 (linfoma no Hodgkin), CD22 (leucemia, linfoma, mieloma múltiple, LES), CD30 (linfoma de Hodgkin), CD33 (leucemia, enfermedades autoinmunes), CD38 (mieloma múltiple), CD40 (linfoma, mieloma múltiple, leucemia (LLC)), CD51 (melanoma metastásico, sarcoma), CD52 (leucemia), CD56 (cánceres de pulmón de células pequeñas, cáncer de ovario, carcinoma de células de Merkel y el tumor líquido, mieloma múltiple), CD66e (cánceres), CD70 (carcinoma de células renales metastásico y linfoma no Hodgkin), CD74 (mieloma múltiple), CD80 (linfoma), CD98 (cánceres), mucina (carcinomas), CD221 (tumores sólidos), CD227 (cáncer de mama, ovario), CD262 (CPCNP y otros cánceres), CD309 (cánceres de ovario), CD326 (tumores sólidos), CEACAM3 (cáncer colorrectal, gástrico), CEACAM5 (antígeno carcinoembrionario; CEA, CD66e) (cáncer de mama, colorrectal y pulmón), DLL4 (Δ -like-4), EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico, varios cánceres), CTLA4 (melanoma), CXCR4 (CD184, hemo-oncología, tumores sólidos), Endoglin (CD105, tumores sólidos), EPCAM (molécula de adhesión de células epiteliales, cáncer de vejiga, cabeza, cuello, colon, próstata NHL y ovario), ERBB2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico; cánceres de pulmón, mama, próstata), FCGR1 (enfermedades autoinmunes), FOLR (receptor de folato, cánceres de ovario), gangliósido GD2 (cánceres), G-28 (glicolípido de antígeno de superficie celular a, melanoma), idiotipo GD3 (cánceres), proteínas de choque térmico (cánceres), HER1 (cáncer de pulmón, estómago), HER2 (cáncer de mama, pulmón y ovario), HLA-DR10 (NHL), HLA-DRB (NHL, leucemia de células B), gonadotropina coriónica humana (carcinoma), IGF1R (receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, tumores sólidos, cánceres de la sangre), receptor de IL-2 (receptor de interleucina 2, leucemia de células T y linfomas), IL-6R (receptor de interleucina 6, mieloma múltiple, AR, enfermedad de Castleman, tumores dependientes de IL6), integrinas ($\alpha\text{v}\beta 3$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 4$, $\alpha 11\beta 3$, $\alpha 5\beta 5$, $\alpha \text{v}\beta 5$, para varios cánceres), MAGE-1 (carcinomas), MAGE-2 (carcinomas), MAGE-3 (carcinomas), MAGE 4 (carcinomas), receptor antitransferrina (carcinomas), p97 (melanoma), MS4A1 (subfamilia A de 4 dominios que abarca membranas miembro 1, linfoma de células B no Hodgkin, leucemia), MUC1 o MUC1-KLH (cáncer de mama, ovario, cuello uterino, bronquios y gastrointestinal), MUC16 (CA125) (cánceres de ovario), CEA (colorrectal), gp100 (melanoma), MART1 (melanoma), MPG (melanoma), MS4A1 (subfamilia A de 4 dominios que abarca la

membrana, cánceres de pulmón de células pequeñas, LNH), nucleolina, producto Neouoncogene (carcinomas), P21 (carcinomas), paratopo de anti-(ácido N-glicolilneuramínico, mama, cánceres de melanoma), fosfatasa alcalina testicular similar a PLAP (cáncer de ovario, testículos), PSMA (tumores de próstata), PSA (próstata), ROBO4, TAG 72 (glicoproteína 72 asociada a tumores, LMA, cáncer gástrico, colorrectal, cáncer de ovario), proteína transmembrana de células T (cánceres), Tie (CD202b), TNFRSF10B (miembro de la superfamilia 10B del receptor del factor de necrosis tumoral, cánceres), TNFRSF13B (miembro de la superfamilia 13B del receptor del factor de necrosis tumoral, mieloma múltiple, LNH, otros cánceres, AR y LES), TPBG (glicoproteína del trofoblasto, carcinoma de células renales), TRAIL-R1 (receptor 1 del ligando inductor de la apoptosis de la necrosis tumoral, linfoma, LNH, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón), VCAM-1 (CD106, melanoma), VEGF, VEGF-A o VEGF-2 (CD309) (varios cánceres).

[0193] En algunas realizaciones, Ab se dirige a HER2, HER3, B7H3, TROP2, Claudin 18.2, CD30, CD33, CD70 o EGFR.

*C1CC(=O)N(CC1)CC(=O)NCCOCCOCCOCCOCC(=O)NCC(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc1ccccc1)C(=O)NCC(=O)Nc1ccc(cc1)COC(=O)Nc2ccc3c4c5c6c7c8c9c10c11c12c13c14c15c16c17c18c19c20c21c22c23c24c25c26c27c28c29c30c31c32c33c34c35c36c37c38c39c40c41c42c43c44c45c46c47c48c49c50c51c52c53c54c55c56c57c58c59c60c61c62c63c64c65c66c67c68c69c70c71c72c73c74c75c76c77c78c79c80c81c82c83c84c85c86c87c88c89c90c91c92c93c94c95c96c97c98c99c100c101c102c103c104c105c106c107c108c109c110c111c112c113c114c115c116c117c118c119c120c121c122c123c124c125c126c127c128c129c130c131c132c133c134c135c136c137c138c139c140c141c142c143c144c145c146c147c148c149c150c151c152c153c154c155c156c157c158c159c160c161c162c163c164c165c166c167c168c169c170c171c172c173c174c175c176c177c178c179c180c181c182c183c184c185c186c187c188c189c190c191c192c193c194c195c196c197c198c199c200c201c202c203c204c205c206c207c208c209c210c211c212c213c214c215c216c217c218c219c220c221c222c223c224c225c226c227c228c229c230c231c232c233c234c235c236c237c238c239c240c241c242c243c244c245c246c247c248c249c250c251c252c253c254c255c256c257c258c259c260c261c262c263c264c265c266c267c268c269c270c271c272c273c274c275c276c277c278c279c280c281c282c283c284c285c286c287c288c289c290c291c292c293c294c295c296c297c298c299c300c301c302c303c304c305c306c307c308c309c310c311c312c313c314c315c316c317c318c319c320c321c322c323c324c325c326c327c328c329c330c331c332c333c334c335c336c337c338c339c340c341c342c343c344c345c346c347c348c349c350c351c352c353c354c355c356c357c358c359c360c361c362c363c364c365c366c367c368c369c370c371c372c373c374c375c376c377c378c379c380c381c382c383c384c385c386c387c388c389c390c391c392c393c394c395c396c397c398c399c400c401c402c403c404c405c406c407c408c409c410c411c412c413c414c415c416c417c418c419c420c421c422c423c424c425c426c427c428c429c430c431c432c433c434c435c436c437c438c439c440c441c442c443c444c445c446c447c448c449c450c451c452c453c454c455c456c457c458c459c460c461c462c463c464c465c466c467c468c469c470c471c472c473c474c475c476c477c478c479c480c481c482c483c484c485c486c487c488c489c490c491c492c493c494c495c496c497c498c499c500c501c502c503c504c505c506c507c508c509c510c511c512c513c514c515c516c517c518c519c520c521c522c523c524c525c526c527c528c529c530c531c532c533c534c535c536c537c538c539c540c541c542c543c544c545c546c547c548c549c550c551c552c553c554c555c556c557c558c559c560c561c562c563c564c565c566c567c568c569c570c571c572c573c574c575c576c577c578c579c580c581c582c583c584c585c586c587c588c589c590c591c592c593c594c595c596c597c598c599c600c601c602c603c604c605c606c607c608c609c610c611c612c613c614c615c616c617c618c619c620c621c622c623c624c625c626c627c628c629c630c631c632c633c634c635c636c637c638c639c640c641c642c643c644c645c646c647c648c649c650c651c652c653c654c655c656c657c658c659c660c661c662c663c664c665c666c667c668c669c670c671c672c673c674c675c676c677c678c679c680c681c682c683c684c685c686c687c688c689c690c691c692c693c694c695c696c697c698c699c700c701c702c703c704c705c706c707c708c709c710c711c712c713c714c715c716c717c718c719c720c721c722c723c724c725c726c727c728c729c730c731c732c733c734c735c736c737c738c739c740c741c742c743c744c745c746c747c748c749c750c751c752c753c754c755c756c757c758c759c760c761c762c763c764c765c766c767c768c769c770c771c772c773c774c775c776c777c778c779c780c781c782c783c784c785c786c787c788c789c790c791c792c793c794c795c796c797c798c799c800c801c802c803c804c805c806c807c808c809c810c811c812c813c814c815c816c817c818c819c820c821c822c823c824c825c826c827c828c829c830c831c832c833c834c835c836c837c838c839c840c841c842c843c844c845c846c847c848c849c850c851c852c853c854c855c856c857c858c859c860c861c862c863c864c865c866c867c868c869c870c871c872c873c874c875c876c877c878c879c880c881c882c883c884c885c886c887c888c889c890c891c892c893c894c895c896c897c898c899c900c901c902c903c904c905c906c907c908c909c910c911c912c913c914c915c916c917c918c919c920c921c922c923c924c925c926c927c928c929c930c931c932c933c934c935c936c937c938c939c940c941c942c943c944c945c946c947c948c949c950c951c952c953c954c955c956c957c958c959c960c961c962c963c964c965c966c967c968c969c970c971c972c973c974c975c976c977c978c979c980c981c982c983c984c985c986c987c988c989c990c991c992c993c994c995c996c997c998c999

[0195] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto seleccionado de:

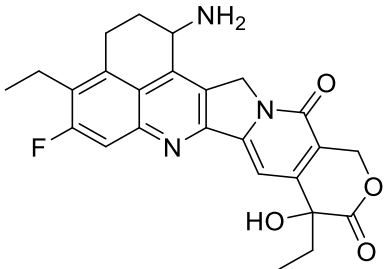
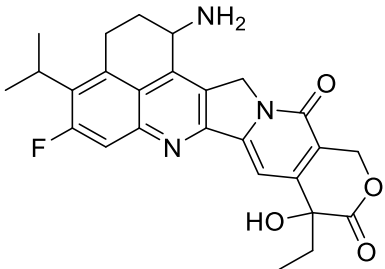
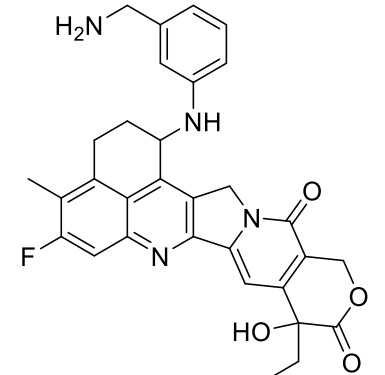
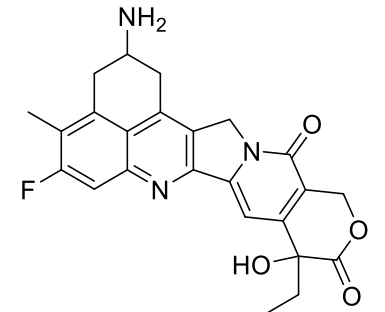


en donde Ab es Trastuzumab; y x es 4-8.

[0196] En algunas realizaciones, siempre que haya un compuesto seleccionado de la Tabla 1A, o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Tabla 1A

No.	Estructura
A-1	

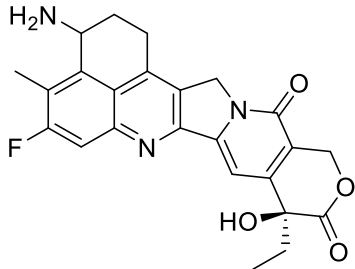
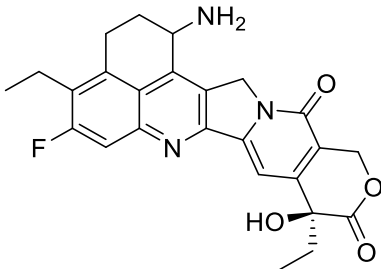
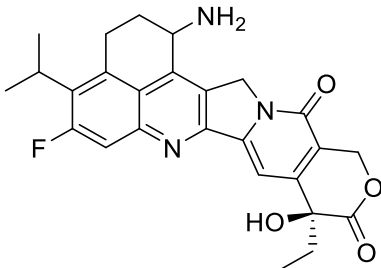
No.	Estructura
A-2	
A-3	
A-4	
A-5	

[0197] Los compuestos de la Fórmula I proporcionados en este documento abarcan formas estereoquímicas de los compuestos, por ejemplo, isómeros ópticos, como enantiómeros, diastereómeros, así como mezclas de los mismos, por ejemplo, mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros, incluidas las mezclas racémicas, así como mezclas iguales o no iguales de enantiómeros y/o diastereómeros individuales. Todas las formas estereoquímicas están contempladas en esta divulgación. A menos que se

indique lo contrario, cuando un compuesto divulgado es nombrado o representado por una estructura sin especificar la estereoquímica y tiene uno o más centros quirales, se entiende que representa todos los posibles estereoisómeros del compuesto. Se proporcionan formas estereoquímicas representativas a lo largo de la especificación, incluidas, entre otras, las delineadas en las Tablas 1B, 1C y 1D.

[0198] En algunas realizaciones, siempre que haya un compuesto seleccionado de la Tabla 1B, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo:

Tabla 1B

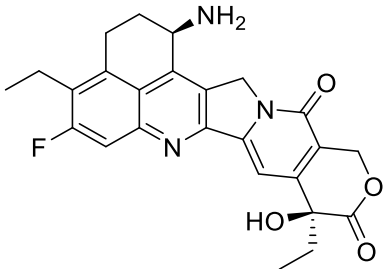
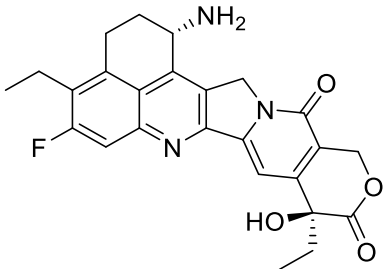
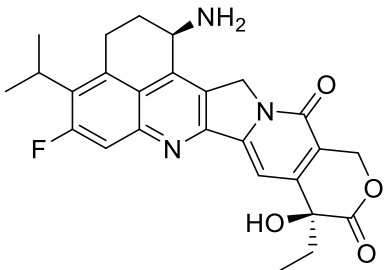
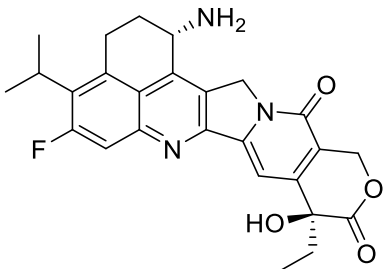
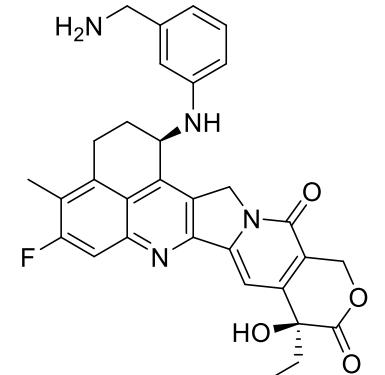
No.	Estructura
B-1	
B-2	
B-3	

No.	Estructura
B-4	
B-5	

[0199] En algunas realizaciones, siempre que se presente un compuesto seleccionado de la Tabla 1C, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo:

Tabla 1C

No.	Estructura
C-1a	
C-1b	

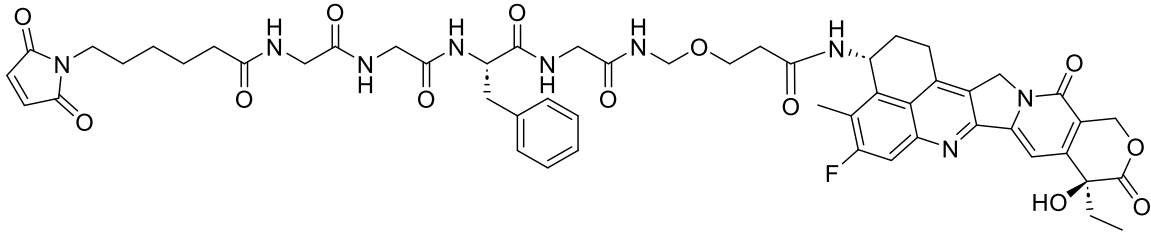
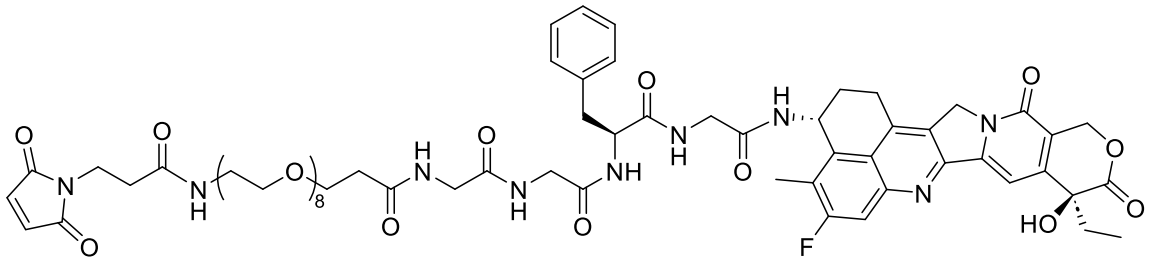
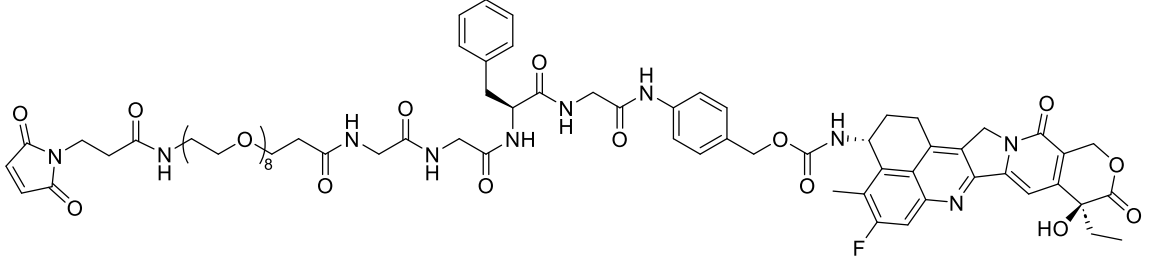
No.	Estructura
C-2a	
C-2b	
C-3a	
C-3b	
C-4A	

No.	Estructura
C-4b	
C-5a	
C-5b	

[0200] En algunas realizaciones, siempre que haya un compuesto seleccionado de la Tabla 1D, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo:

Tabla 1D

No.	Estructura
.	

D-1	
D-2	
D-3	

[0201] Los compuestos de la Fórmula I incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Además, los compuestos de la Fórmula I también incluyen otras sales de dichos compuestos que no son necesariamente sales farmacéuticamente aceptables, y que pueden ser útiles como intermedios para la preparación y/o purificación de compuestos de la Fórmula I y/o para la separación de enantiómeros de compuestos de la Fórmula I.

Composiciones farmacéuticas, modos de administración y método de uso

[0202] Los compuestos proporcionados en este documento generalmente se administran en forma de composiciones farmacéuticas. Además del compuesto activo, la composición farmacéutica descrita en esta solicitud puede contener uno o más excipientes, y los excipientes pueden seleccionarse del siguiente grupo de ingredientes: rellenos (diluyentes), aglutinantes, agentes humectantes, agentes desintegrantes, disolventes y excipientes, etc. Dependiendo del método de administración, la composición puede contener de 0,1 a 99% en peso de compuesto activo.

[0203] Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en forma de soluciones acuosas inyectables estériles. Entre los vehículos o disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el

agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. La preparación inyectable estéril puede ser una microemulsión inyectable estéril de aceite en agua en la que el ingrediente activo se disuelve en una fase aceitosa. Por ejemplo, el ingrediente activo se disuelve en una mezcla de aceite de soja y lecitina. Luego, la solución de aceite se puede tratar para formar una microemulsión agregándola a una mezcla de agua y glicerol. Las inyecciones o microemulsiones se pueden inyectar en el torrente sanguíneo de un paciente mediante inyección en bolo local. Alternativamente, las soluciones y microemulsiones se pueden administrar de manera que se mantenga una concentración circulante constante de los compuestos de la aplicación. Para mantener esta concentración constante, se puede utilizar un dispositivo de administración intravenosa continua de fármacos. Por ejemplo, el dispositivo puede ser un Deltec CADD-PLUS. Bomba intravenosa TM.5400.

[0204] Las composiciones farmacéuticas pueden ser en forma de suspensiones estériles, inyectables, acuosas o oleosas para administración intramuscular y subcutánea. Esta suspensión podrá formularse de acuerdo con la técnica conocida utilizando los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes suspendentes que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución inyectable estéril o una suspensión en un diluyente o solvente no tóxico aceptable por vía parenteral. Alternativamente, los aceites fijos estériles se emplean convenientemente como solvente o medio de suspensión.

[0205] Los compuestos descritos en este documento pueden tener efectos supresores tumorales in vivo. Las células tumorales con alta expresión de la diana específica pueden incluir, entre otras, células tumorales sólidas. Por ejemplo, las células tumorales con alta expresión de la diana específica incluyen, entre otras, las células de cáncer gástrico o las células de cáncer de mama, como las que tienen una alta expresión de la diana específica.

[0206] Los compuestos descritos en este documento pueden tener capacidades de dirigirse al tumor in vivo. La capacidad de focalización in vivo puede referirse a la administración del compuesto marcado con una sustancia señal a un animal, y la distribución del compuesto marcado en el tejido tumoral del animal puede aumentar en más del 1% en comparación con otros tejidos y órganos, o 2% o más, 4% o más, 5% o más, 8% o más, 10% o más, 15% o más, 18% o más, 20% o más, 25% o más, 40% o más, 50% o más, 60% o más, 70% o más, 80% o más, 90% o más, o 95% o más, o puede ser un aumento de distribución de más de 1,1 veces, más de 1,3 veces, más de 1,5 veces, más de dos veces, más de tres veces, más de cinco veces, más de diez veces, dos veces más, más de diez veces, más de veintidós veces, más de treinta veces, más de cincuenta veces, más de cien veces, más de quinientas veces, más de mil veces o más de mil quinientas veces. La sustancia señal puede ser una sustancia radiactiva, por ejemplo, la sustancia señal

incluye, entre otros, 125I . Los animales pueden incluir, entre otros, mamíferos, por ejemplo, los animales pueden incluir, entre otros, gatos, perros, caballos, cerdos, vacas, ovejas, conejos, ratones, ratas, monos o humanos. La administración puede incluir, entre otros, administración oral, intravenosa, por goteo intravenoso, intraperitoneal o tópica. El tejido u órgano puede incluir, entre otros, corazón, hígado, bazo, pulmón, riñón, cerebro o médula ósea.

[0207] Los compuestos divulgados en este documento, incluidos los conjugados anticuerpo-fármaco, están diseñados para exhibir actividad citotóxica contra las células cancerosas y, por lo tanto, pueden usarse para tratar el cáncer. En consecuencia, en este documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer en un paciente que lo necesita, que comprenden la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprenda el mismo.

[0208] Los términos "tratar", "tratar" y "tratamiento", en el contexto del tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección, incluyen el alivio o la derogación de un trastorno, enfermedad o afección, o uno o más de los síntomas asociados con el trastorno, enfermedad o afección; o para retrasar la progresión, la propagación o el empeoramiento de una enfermedad, trastorno o afección o de uno o más síntomas de los mismos. El término "prevenir", tal como se utiliza en el presente documento, es la prevención de la aparición, recurrencia o propagación, total o parcial, de la enfermedad o afección tal como se describe en este documento, o de un síntoma de la misma.

[0209] Los términos "sujeto", "paciente" o "individuo", tal como se utilizan en este documento, se utilizan indistintamente y se refieren a cualquier animal, incluidos mamíferos como ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, caballos, primates y humanos. En algunas realizaciones, el término se refiere a un sujeto, particularmente un sujeto mamífero, para quien se desea o necesita diagnóstico, pronóstico o terapia. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto ha experimentado y/o exhibido al menos un síntoma de la enfermedad, trastorno o condición que se va a tratar y/o prevenir.

[0210] Los cánceres ejemplares incluyen, entre otros, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de mama, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de estómago y cáncer de esófago.

[0211] También se proporcionan en este documento métodos para tratar, prevenir o inhibir el crecimiento tumoral en un paciente que lo necesita, que incluyen la administración a dicho paciente de

una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprenda el mismo.

[0212] Los compuestos descritos en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden administrarse como una composición farmacéutica que contenga al menos un ingrediente farmacéuticamente adecuado.

[0213] Por ejemplo, la composición farmacéutica anterior puede contener al menos un portador farmacéutico (por ejemplo, líquido esterilizado), por ejemplo, agua y aceite (aceite de petróleo y aceite de origen animal, de origen vegetal o de origen sintético (el aceite puede ser, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo o similar)). El agua es un portador más típico cuando la composición farmacéutica anterior se administra por vía intravenosa. La solución salina, una solución acuosa de dextrosa y una solución acuosa de glicerol también se pueden utilizar como portador líquido, por ejemplo, para una solución inyectable. Un vehículo farmacéutico adecuado se conoce en la técnica. Si lo desea, la composición también puede contener una pequeña cantidad de un agente humectante, un agente emulsionante o un agente amortiguador de pH. Ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados se dan a conocer en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin. Las formulaciones corresponden a un modo de administración.

[0214] Se conocen varios sistemas de administración que pueden utilizarse para administrar los compuestos descritos en este documento, o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Ejemplos de la vía de administración incluyen vías intradérmicas, intramusculares, intraperitoneales, intravenosas y subcutáneas, pero no limitadas a ellas. La administración se puede realizar por inyección o inyección en bolo, por ejemplo. En ciertas realizaciones, la administración se realiza por inyección, por ejemplo, la administración parenteral.

[0215] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se prescribe, como una composición farmacéutica adecuada para la administración intravenosa al ser humano, de acuerdo con los procedimientos convencionales. La composición para la administración intravenosa suele ser una solución en una solución tampón acuosa estéril e isotónica. Si es necesario, la composición farmacéutica puede contener un agente solubilizante y anestésicos locales para aliviar el dolor en el lugar de la inyección (por ejemplo, lignocaína). Generalmente, el ingrediente anterior se proporciona individualmente como cualquiera de polvo liofilizado o un concentrado anhidro contenido en un recipiente que se obtiene sellando en una ampolla o una bolsita que tiene una cantidad del agente activo o como una mezcla en una

forma de dosis unitaria. Cuando la composición farmacéutica deba administrarse por inyección, podrá administrarse desde un frasco de inyección que contenga agua o solución salina de grado farmacéutico estéril. Cuando la composición farmacéutica se administre por inyección, se podrá proporcionar una ampolla de agua estéril o solución salina inyectable, de modo que los ingredientes antes mencionados se mezclen entre sí antes de la administración.

[0216] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede ser una composición farmacéutica que contiene solo un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que contiene una combinación de un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un agente tratante del cáncer distinto del conjugado.

[0217] En consecuencia, en algunas realizaciones, los compuestos descritos en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, pueden administrarse con otro agente tratante del cáncer. El efecto anticancerígeno puede potenciarse en consecuencia. Otro agente anticancerígeno utilizado para tal fin puede administrarse a un individuo simultáneamente, separadamente o posteriormente al compuesto, y puede administrarse variando el intervalo de administración para cada uno. Algunos ejemplos de este fármaco para el tratamiento del cáncer son el abraxano, el carboplatino, el cisplatino, la gemcitabina, el irinotecán (CPT-11), el paclitaxel, el pemetrexed, el sorafenib, la vinorelbina, los análogos de la LH-RH (leuprorelina, goserelina o similares), el fosfato de estramustina, el antagonista del estrógeno (tamoxifeno, raloxifeno o similares) y un inhibidor de la aromatasas (anastrozol, letrozol, exemestano o similares), pero no se limita siempre que sea un fármaco con actividad antitumoral.

[0218] La composición farmacéutica se puede formular en una formulación de liofilización o una formulación líquida como una formulación que tenga la composición deseada y la pureza requerida. Cuando se formula como una formulación de liofilización, puede ser una formulación que contenga aditivos de formulación adecuados que se utilizan en la técnica. También para una formulación líquida, se puede formular como una formulación líquida que contiene varios aditivos de formulación que se utilizan en la técnica.

[0219] La composición y concentración de la composición farmacéutica puede variar según el método de administración. Sin embargo, el compuesto contenido en la composición farmacéutica puede exhibir el efecto farmacéutico incluso a una dosis pequeña cuando el compuesto tiene una mayor afinidad por un antígeno, es decir, una mayor afinidad (= menor valor de K_d) en términos de la constante de disociación (es decir, el valor de K_d) por el antígeno. Por lo tanto, para determinar la dosis del compuesto, la dosis

puede determinarse en vista de una situación relacionada con la afinidad entre el compuesto y el antígeno. Cuando el compuesto se administra a un ser humano, por ejemplo, se pueden administrar alrededor de 0,001 a 100 mg/kg una vez o varias veces con un intervalo de una vez durante 1 a 180 días. En otro aspecto, la aplicación proporciona un compuesto descrito en este documento o un tautómero, meso, racemato, enantiómero, diastereómero, o una mezcla de los mismos, o una mezcla de los mismos, Uso de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica del mismo en la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de tumores. El tumor se puede seleccionar de tumores asociados con la expresión de HER2, HER3, B7H3, TROP2, Claudin 18.2, CD30, CD33, CD70 o EGFR. El tumor puede seleccionarse del grupo formado por cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de mama, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer gástrico y de esófago.

[0220] El tumor se puede seleccionar de tumores asociados con la expresión de HER2, HER3, B7H3, TROP2, Claudin 18.2, CD30, CD33, CD70 o EGFR. El tumor puede seleccionarse del grupo formado por cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de mama, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer gástrico y de esófago.

[0221] En ciertas realizaciones, se proporciona un compuesto como se describe en este documento, o un estereoisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento y/o prevención de tumores. En algunas realizaciones, el tumor puede seleccionarse a partir de un tumor asociado con la expresión de HER2, HER3, B7H3, TROP2, Claudin 18.2, CD30, CD33, CD70 o EGFR. El tumor puede seleccionarse del grupo formado por cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de mama, melanoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer gástrico y de esófago.

[0222] En algunas realizaciones, el compuesto comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno que se dirige a una célula tumoral.

[0223] En algunas realizaciones, el compuesto comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que es un anticuerpo anti-A33 o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-B7-H3 o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-CanAg o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-CD20 o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-CD22 o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-CD30 o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-CD33

o un fragmento de unión a antígeno, un anticuerpo anti-CD56 o un fragmento de unión a antígeno un fragmento de anti-CD70 o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-CEA o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-Cripto o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-EphA2 o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-G250 o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-MUC1 o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-GPNMB o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-integrina o un fragmento de unión a antígenos, un anticuerpo anti-PSMA o un fragmento de unión a antígenos, un anti-tenascina-C un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno, un anticuerpo anti-SLC44A4 o un fragmento de unión al antígeno, o un anticuerpo anti-mesotelina o un fragmento de unión al antígeno.

[0224] En algunas realizaciones, el compuesto comprende un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que es un anticuerpo anti-B7-H3 o un fragmento de unión al antígeno, un anticuerpo anti-CD30 o un fragmento de unión al antígeno, un anticuerpo anti-CD33 o un fragmento de unión al antígeno, o un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión al antígeno.

[0225] En algunas realizaciones, el compuesto comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno que es un anticuerpo anti-B7-H3 o un fragmento de unión al antígeno.

[0226] Los términos "anticuerpo" o "fragmento de unión al antígeno", tal como se utilizan en este documento, se refieren a una inmunoglobulina y es una molécula que contiene un sitio de unión al antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno. La clase del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede ser cualquiera de IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY y es preferiblemente IgG. La subclase del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede ser cualquiera de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2 y es preferiblemente IgG1 o IgG2. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede derivarse de cualquier especie, incluidos humanos, ratas, ratones o conejos. En los casos en que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se deriva de una especie distinta del ser humano, puede ser quimerizado o humanizado utilizando técnicas bien conocidas. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede ser un anticuerpo policlonal o un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno es un anticuerpo monoclonal.

[0227] El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno pueden ser capaces de dirigirse a las células tumorales. Dado que el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno se conjuga con un fármaco o carga útil que tiene actividad antitumoral a través de un enlazador, el anticuerpo puede poseer una o más propiedades de reconocimiento de una célula tumoral, una propiedad de unión a una célula tumoral, una propiedad de internalizarse en una célula tumoral o una propiedad de dañar una célula tumoral.

[0228] La actividad de unión del anticuerpo o del fragmento de unión al antígeno contra las células tumorales puede confirmarse mediante citometría de flujo. La internalización del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno en las células tumorales se puede confirmar mediante (1) un ensayo de visualización de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno incorporado en las células bajo un microscopio de fluorescencia utilizando un anticuerpo secundario (marcado con fluorescencia) que se une al anticuerpo terapéutico (Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761), (2) un ensayo de medición de la cantidad de fluorescencia incorporada en las células utilizando una unión de anticuerpo secundario (marcado con fluorescencia) al anticuerpo o al fragmento de unión al antígeno (Molecular Biology of the Cell, Vol. 15, 5268-5282, diciembre de 2004), o (3) un ensayo Mab-ZAP que utiliza una inmunotoxina que se une al anticuerpo o al fragmento de unión al antígeno en el que la toxina se libera al incorporarse a las células para inhibir el crecimiento celular (Bio Techniques 28: 162-165, enero de 2000).

[0229] Por ejemplo, el tumor se puede seleccionar de tumores asociados con la expresión del siguiente grupo: 5T4, AGS-16, ANGPTL4, ApoE, CD19, CTGF, CXCR5, FGF2, MCPT8, MFI2, MS4A7, NCA, Sema5b, SLITRK6, STC2, TGF , 0772P, 5T4, ACTA2, ADGRE1, AG-7, AIF1, AKR1C1, AKR1C2, ASLG659, Axl, B7H3, BAFF-R, BCMA, BMPR1B, BNIP3, C1QA, C1QB, CA6, CADM1, CCD79b, CCL5, CCR5, CCR7 , CD1lc, CD123, CD138, CD142, CD147, CD166, CD19, CD19, CD22, CD21, CD20, CD205, CD22, CD223, CD228, CD25, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD45, CD45 (PTPRC), CD46, CD47, CD49D (ITGA4), CD49D (ITGA4), CD44 56, CD66e, CD70, CD71, CD72, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CDCP1, CDH11, CD11b, CEA, CEACAM5, c-Met, COL6A3, COL7A1, CRIPTO, CSF1R, CTSD , CTSS, CXCL11, CXCL10, DDIT4, DLL3, DLL4, DR5, E16, EFNA4, EGFR, EGFRvIII, EGLN, EGLN3, EMR2, ENPP3, EpCAM, EphA2, EphB2R, ETBR, FcRH2, FcRH1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FOLR - α , GD2, GEDA, GPC-1, GPNMB, GPR20, GZMB, HER2, HER3, HLA-DOB, HMOX1, IFI6 , IFNG, IGF-1R, IGFBP3, IL10RA1, IL-13R, IL-2, IL20Ra, IL -3, IL-4, IL-6, IRTA2, KISS1R, KRT33A, LIV-1, LOX, LRP-1, LRRC15, LUM, LY64, LY6E, Ly86, LYPD3, MDP, MMP10, MMP14, MMP16, MPF, MSG783 , MSLN, MUC-1, NaPi2b, Napi3b, Nectina-4, Nectina-4, NOG, P2X5, pCAD, P-Cadherina, PDGFRA, PDK1, PD-L1, PFKFB3, PGF, PGK1, PIK3AP1, PIK3CD , PLOD2, PSCA, PSCAhlg, PSMA, PSMA, PTK7, P-Cadherin, RNF43, NaPi22 b, ROR1, ROR2, SERPINE1, SLC39A6, SLTRK6, STAT1, STEAP1, STEAP2, TCF4, TENB2, TGFB1, TGFB2, TGFB1, TNFRSF21, TNFSF9, Trop-2, TrpM4, Tyro7, UPK1B, VEGFA, WNT5A, factor de crecimiento epidérmico, glicano, mesotelina, cotransportador de fosfato de sodio 2B, ocludina 18.2, receptor de endotelina, mucina (p. ej. mucina 1 y mucina 16), guanilato ciclasa C, integrina α 4 β 7, integrina α 5 β 6, glicoproteína del trofoblasto y factor tisular.

Dosificación

[0230] El nivel de dosis específico de un compuesto de la presente aplicación para cualquier sujeto en particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción, la combinación de medicamentos y la gravedad de la enfermedad particular en el sujeto sometido a la terapia. Por ejemplo, una dosis puede expresarse como un número de miligramos de un compuesto descrito en este documento por kilogramo del peso corporal del sujeto (mg/kg). Pueden ser apropiadas dosis de entre 0,1 y 150 mg/kg. En algunas realizaciones, alrededor de 0,1 y 100 mg/kg pueden ser apropiados. En otras realizaciones, puede ser apropiada una dosis de entre 0,5 y 60 mg/kg. En algunas realizaciones, puede ser apropiada una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por día, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 50 mg de compuesto por kg de peso corporal, o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg de compuesto por kg de peso corporal. La normalización de acuerdo con el peso corporal del sujeto es particularmente útil cuando se ajustan las dosis entre sujetos de tamaño muy dispar, como ocurre cuando se usa el medicamento tanto en niños como en humanos adultos o cuando se convierte una dosis efectiva en un sujeto no humano, como un perro, a una dosis adecuada para un sujeto humano.

Síntesis de los compuestos

[0231] Los compuestos pueden prepararse utilizando los métodos descritos en este documento y las modificaciones rutinarias de los mismos, que serán evidentes dada la divulgación en este documento y los métodos bien conocidos en la técnica. Además de las enseñanzas aquí expuestas, se pueden utilizar métodos sintéticos convencionales y bien conocidos. La síntesis de los compuestos típicos descritos en este documento se puede lograr como se describe en los siguientes ejemplos. Si están disponibles, los reactivos se pueden comprar comercialmente, *por ejemplo*, a Sigma Aldrich u otros proveedores de productos químicos.

Síntesis general

[0232] Los compuestos pueden prepararse utilizando los métodos descritos en este documento y las modificaciones rutinarias de los mismos, que serán evidentes dada la divulgación en este documento y los métodos bien conocidos en la técnica. Además de las enseñanzas aquí expuestas, se pueden utilizar métodos sintéticos convencionales y bien conocidos. La síntesis de los compuestos típicos descritos en este documento se puede lograr como se describe en los siguientes ejemplos. Si están disponibles, los

reactivos y los materiales de partida se pueden comprar comercialmente, por ejemplo, de Sigma Aldrich u otros proveedores de productos químicos.

[0233] Se apreciará que cuando se dan condiciones de proceso típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, proporciones molares de reactivos, solventes, presiones, etc.), también se pueden usar otras condiciones de proceso a menos que se indique lo contrario. Las condiciones óptimas de reacción pueden variar según los reactivos o solventes particulares utilizados, pero tales condiciones pueden ser determinadas por un experto en la materia mediante procedimientos de optimización de rutina.

[0234] Además, pueden ser necesarios grupos protectores convencionales para evitar que ciertos grupos funcionales sufran reacciones no deseadas. Los grupos de protección adecuados para varios grupos funcionales, así como las condiciones adecuadas para proteger y desproteger grupos funcionales particulares, son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, en Wuts, P. G. M., Greene, T. W. y Greene, T. W. (2006) se describen numerosos grupos protectores. Grupos protectores de Greene en la síntesis orgánica. Hoboken, N.J., Wiley-Interscience, y referencias citadas en el mismo.

[0235] Además, los compuestos de esta divulgación pueden contener uno o más centros quirales. En consecuencia, si se desea, estos compuestos pueden prepararse o aislarse como estereoisómeros puros, es decir, como enantiómeros o diastereómeros individuales o como mezclas enriquecidas con estereoisómeros. Todos estos estereoisómeros (y mezclas enriquecidas) están incluidos en el alcance de esta divulgación, a menos que se indique lo contrario. Los estereoisómeros puros (o mezclas enriquecidas) pueden prepararse utilizando, por ejemplo, materiales de partida ópticamente activos o reactivos estereoselectivos bien conocidos en la técnica. Alternativamente, las mezclas racémicas de dichos compuestos se pueden separar utilizando, por ejemplo, cromatografía en columna quiral, agentes de resolución quiral y similares.

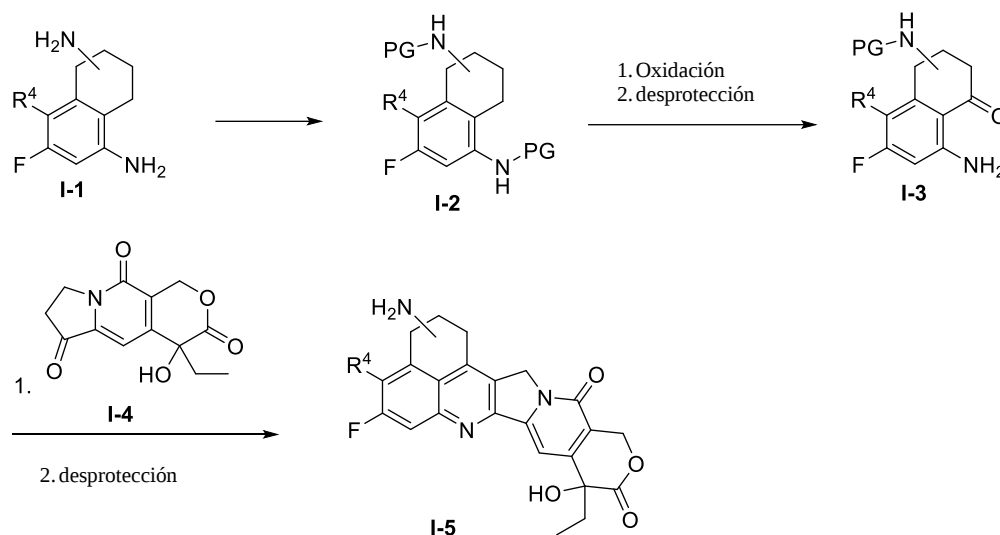
[0236] Los materiales de partida para las siguientes reacciones son compuestos generalmente conocidos o pueden prepararse mediante procedimientos conocidos o modificaciones obvias de los mismos. Por ejemplo, muchos de los materiales de partida están disponibles a través de proveedores comerciales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EE. UU.), Bachem (Torrance, California, EE. UU.), Emka-Chemce o Sigma (St. Louis, Missouri, EE. UU.). Otros pueden ser preparados por procedimientos o modificaciones obvias de los mismos, descritos en textos de referencia estándar como Fieser y Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-15 (John Wiley, and Sons, 1991), Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5, and Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989) organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley, and Sons, 1991), March's Advanced

Organic Chemistry, (John Wiley, and Sons, 5ª edición, 2001), y Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989).

[0237] Los compuestos descritos en este documento se pueden preparar de acuerdo con los esquemas que siguen.

[0238] El Esquema I muestra la preparación de compuestos de la Fórmula I donde R^1 , R^2 o R^3 es hidrógeno. En el Esquema I, R^4 es como se define en este documento, y PG es un grupo protector (por ejemplo, Ac).

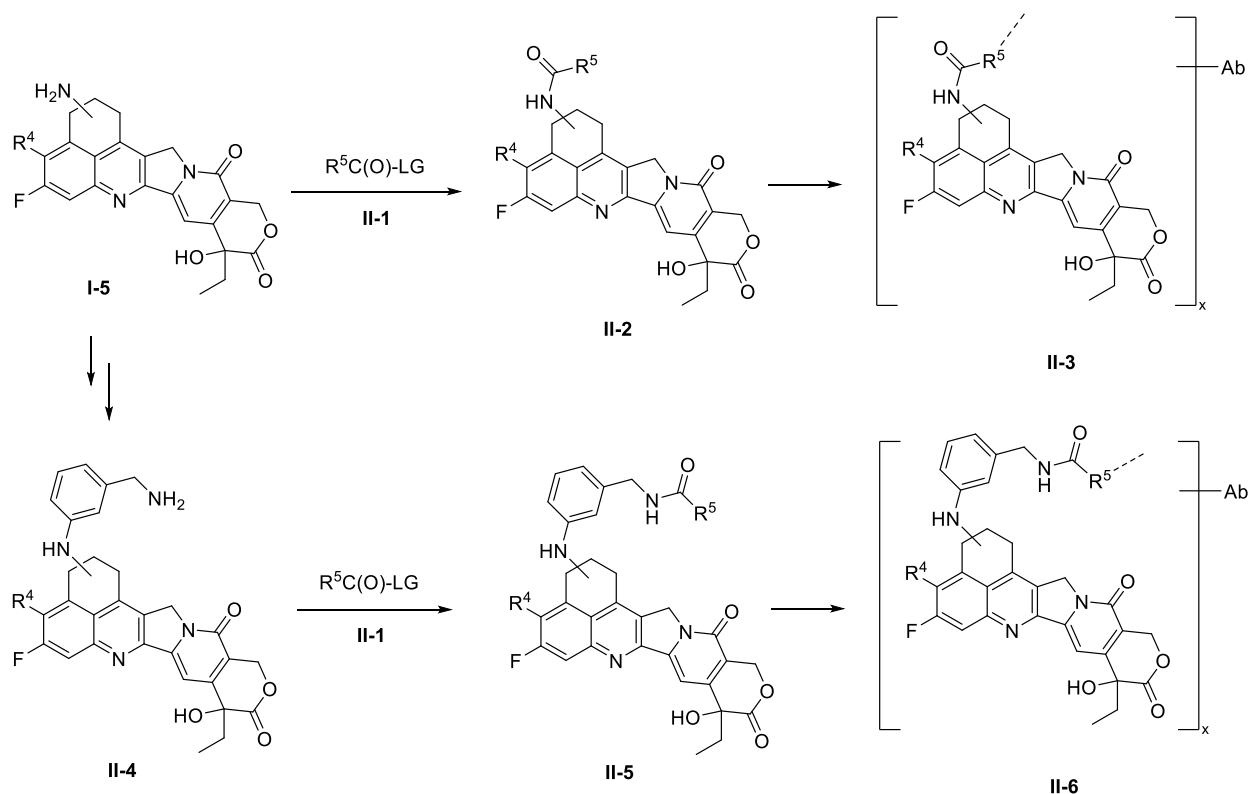
Esquema I



[0239] En el Esquema I, los compuestos de la Fórmula II-2 se proporcionan mediante el compuesto protector I-1 utilizando un grupo protector de amina adecuado (por ejemplo, un haluro de acetilo). La oxidación del compuesto I-2, seguida de una desprotección selectiva, da lugar al compuesto I-3. El contacto del compuesto I-3 con el compuesto I-4, seguido de la desprotección, proporciona compuestos de la Fórmula I-5 (es decir, compuestos de la Fórmula I en los que R^1 , R^2 o R^3 es hidrógeno)

[0240] El Esquema II muestra la preparación de compuestos adicionales de la Fórmula I. En el Esquema II, x, R^4 y R^5 son como se definen en este documento, Ab es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, y LG es un grupo saliente (por ejemplo, -OH, -alcoxi, halo, etc.).

Esquema II



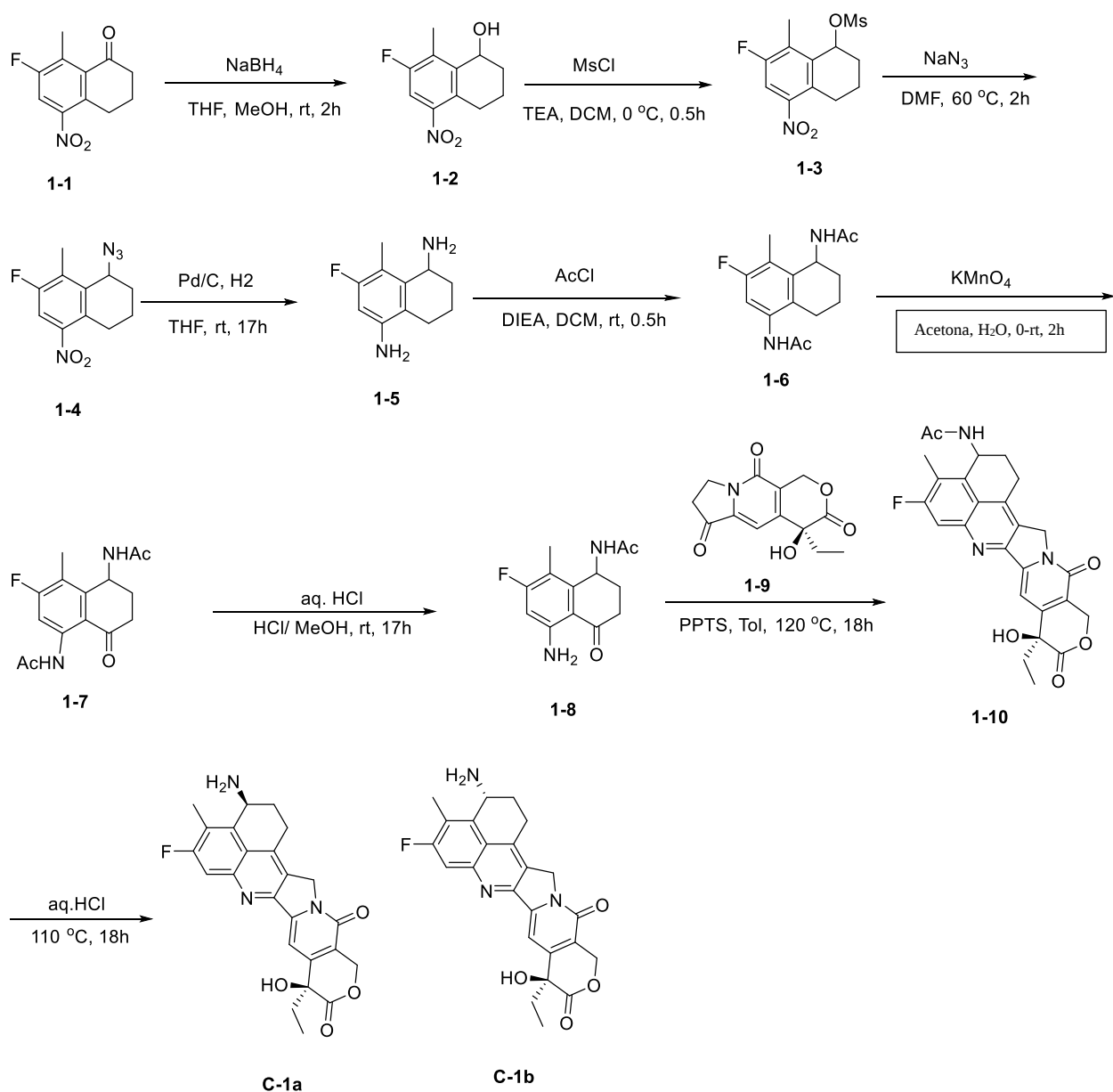
[0241] En el Esquema II, los compuestos de la Fórmula II-2 se proporcionan al entrar en contacto el compuesto I-5 con el compuesto II-1 en condiciones estándar de reacción de formación de enlaces amida. Los conjugados anticuerpo-fármaco de la Fórmula II-3 pueden proporcionarse a partir de compuestos de la Fórmula II-2 en los que R^5 comprende un grupo funcional adecuado para unirse a una cadena lateral de aminoácidos de un anticuerpo o a un fragmento de unión a antígenos (por ejemplo, compuestos en los que R^6 es un pirrol-2,5-dion-1-il) en condiciones conocidas en la técnica. Los compuestos de la Fórmula II-4 (por ejemplo, la Fórmula I donde R^1 es $-ariloC_6-alquiloC_{1-6}-NH_2$) se proporcionan a partir del compuesto I-5 al contacto del compuesto I-5 con un reactivo de arilatación adecuado (por ejemplo, tris(3-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)fenil)bismuthane, seguido de desprotección y aminación. La acilación del compuesto II-4 utilizando el compuesto II-1 en condiciones estándar de reacción de formación de enlaces amida proporciona el compuesto II-5. Los conjugados anticuerpo-fármaco de la Fórmula II-6 pueden proporcionarse a partir de compuestos de la Fórmula II-5 en los que R^5 comprende un grupo funcional adecuado para unirse a una cadena lateral de aminoácidos de un anticuerpo o a un fragmento de unión a antígenos (por ejemplo, compuestos en los que R^6 es un pirrol-2,5-dion-1-il) en condiciones conocidas en la técnica.

[0242] Los materiales de partida y los reactivos apropiados pueden comprarse o prepararse por métodos conocidos por alguien experto en la materia. Una vez finalizada cada reacción, cada uno de los compuestos intermedios o finales puede recuperarse, y opcionalmente purificarse, mediante técnicas convencionales como neutralización, extracción, precipitación, cromatografía, filtración y similares.

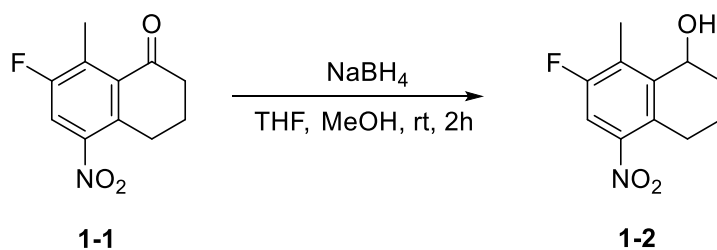
EJEMPLOS

[0243] Se incluyen los siguientes ejemplos para demostrar realizaciones específicas de la divulgación. Debe ser apreciado por los expertos en el arte que las técnicas descritas en los ejemplos que siguen representan técnicas que funcionan bien en la práctica de la divulgación, y por lo tanto pueden ser consideradas como modos específicos para su práctica. Sin embargo, aquellos con habilidad en la técnica deberían, a la luz de la presente divulgación, apreciar que se pueden realizar muchos cambios en las realizaciones específicas que se divulgan y aún así obtener un resultado similar o similar sin apartarse del espíritu y alcance de la divulgación.

Ejemplo 1: Síntesis de los compuestos C-1a y C-1b

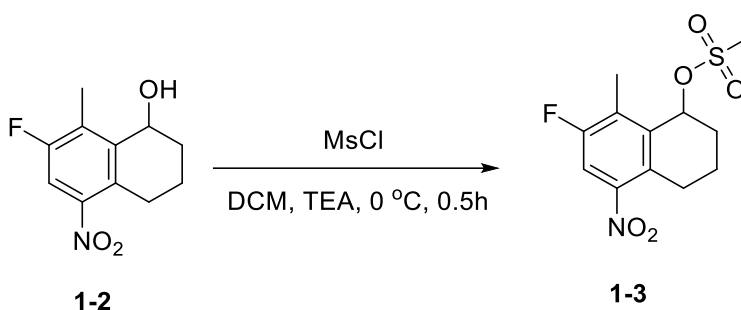


[0244] La preparación del Compuesto 1-2



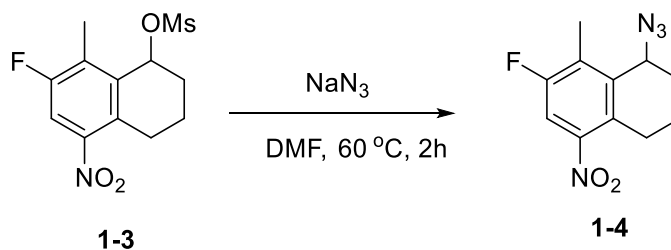
[0245] A una solución de compuesto **1-1** (3 g, 13,5 mmol) en THF (15 mL) y MeOH (15 mL), se añadieron NH_4HCO_2 (5,09 g, 80,7 mmol) y NaBH_4 (2,55 g, 67,4 mmol), y la solución de reacción reaccionó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción fue monitoreada por LCMS. Cuando las materias primas desaparecieron, la reacción fue completa. Al final de la reacción, los sólidos blancos se precipitaron y se filtraron de la solución de reacción para obtener 2,9 g de compuesto **1-2**. LCMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 208,0$.

[0246] La preparación del Compuesto 1-3



[0247] El compuesto **1-2** (3,0 g, 13,3 mmol) se colocó en un matraz de reacción y se disolvió en DCM (30 mL), se enfrió con etanol de hielo, se añadió con TEA (6,75 g, 66,7 mmol) y se agitó durante 10 min, seguido de la adición lenta gota a gota de MsCl (4,12 g, 36,0 mmol) y se agitó durante media hora. La finalización de la reacción fue monitoreada por LCMS. La solución de reacción se extrajo con agua (50 mL) y DCM (3×50 mL). La fase orgánica se colectó, se lavó con agua salada saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a baja temperatura para obtener 2,91 g de Compuesto **1-3**. LCMS (m/z) $[\text{M}-95]^+ = 208,0$.

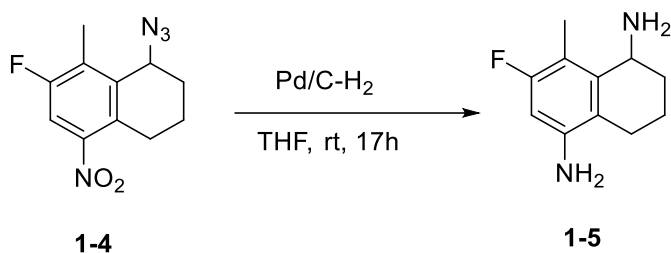
[0248] La preparación del Compuesto **1-4**



[0249] El compuesto **1-3** (2,91 g, 9,6 mmol) y NaN_3 (1,24 g, 19,2 mmol) se colocaron en un matraz de reacción y se añadieron con DMF (30 mL). La solución de reacción se calentó a 60 °C y reaccionó durante 2 h. La finalización de la reacción fue monitoreada por LCMS. La solución de reacción se

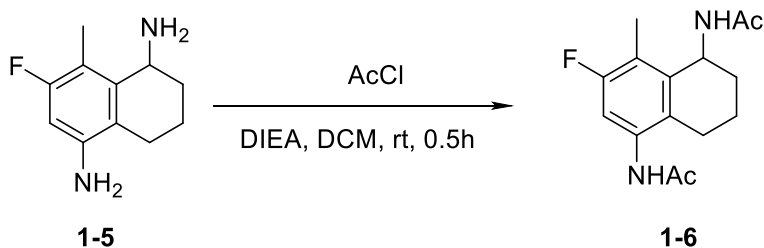
adicionó con agua (100 mL) y se extrajo con EA (3×60 mL). La fase orgánica se recolectó, se lavó con agua salada saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró para obtener el compuesto **1-4**. No se calculó el rendimiento. LCMS (m/z) [M-42]⁺ =208.0, RT:1.33 min.

[0250] La preparación del Compuesto **1-5**



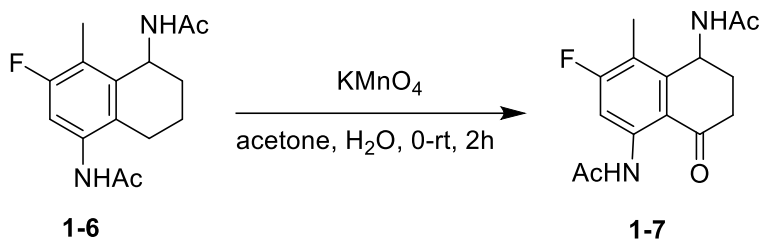
[0251] El compuesto **1-4** (crudo) y THF (40 mL) se colocaron en un matraz de reacción, se añadieron con Pd/C (200 mg) y se agitaron durante la noche bajo H₂. La finalización de la reacción fue monitoreada por LCMS. La solución de reacción se filtró y concentró para obtener 1,4 g de compuesto **1-5**. El rendimiento no se cuenta. LCMS (m/z) [M-16]⁺ =178.2, RT:0.513 min.

[0252] La preparación del compuesto **1-6**



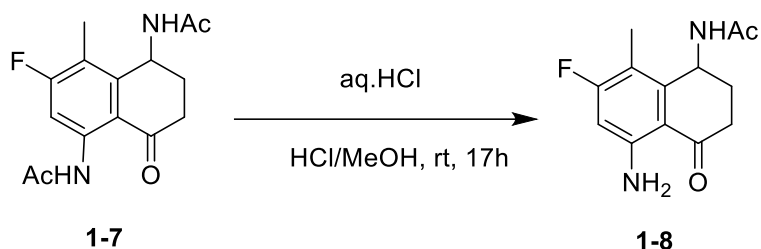
[0253] El compuesto **1-5** (1,4 g, 7,21 mmol) se colocó en un matraz de reacción, se añadió con DCM (14 ml) para disolverse bajo protección de nitrógeno, se añadió con DIPEA (2,8 g, 21,6 mmol) y se siguió con la adición lenta de CH₃COCl (1,41 g 18,0 mmol) en un baño de agua helada. La solución de reacción se reaccionó con calentamiento natural durante 0,5 h. La finalización de la reacción fue monitoreada por LCMS. La solución de reacción se añadió con agua (50 ml) y se extrajo con DCM (3×50 ml). La fase orgánica se recolectó, se lavó con agua salada saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró para obtener 1,6 g del compuesto **1-6**. El rendimiento de cuatro pasos es del 43%.

[0254] La preparación del Compuesto **1-7**



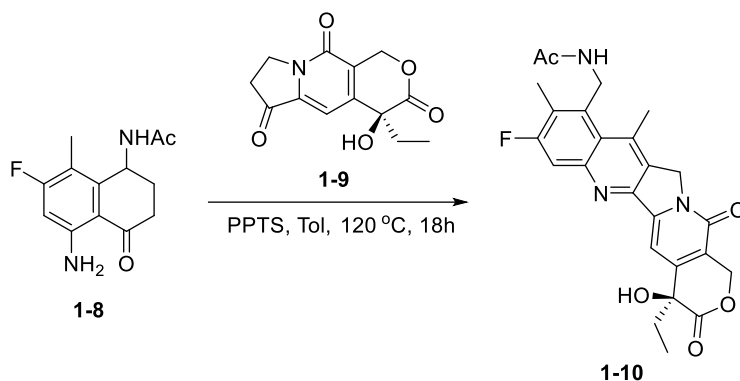
[0255] El compuesto **1-6** (1,46 g, 5,76 mmol) se colocó en un matraz de reacción, se añadió con acetona (16 ml) y una solución acuosa de MgSO_4 al 15% (16 ml) para disolverse, seguido de la adición de KMnO_4 (1,86 g, 11,8 mmol) en lotes bajo protección de nitrógeno en un baño de agua helada a 0 °C. La solución de reacción se agitó durante 1 hora en condiciones de baño de agua helada y se agitó durante otra 1 hora con calentamiento natural. La finalización de la reacción fue monitoreada por LCMS. La solución de reacción se filtró y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se extrajo con agua, y la fase orgánica se recolectó, se lavó con agua salada saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se concentró, se purificó por columna de fase reversa (acetonitrilo: el agua fue 30%), se colectó y liofilizó para obtener 800 mg de Compuesto **1-7**. El rendimiento fue del 48%.

[0256] La preparación del Compuesto **1-8**



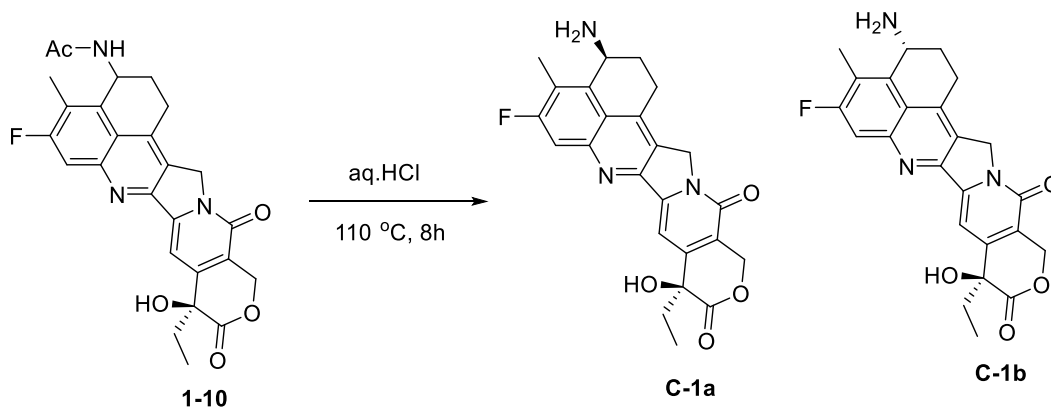
[0257] El compuesto **1-7** (800 mg, 2,74 mmol) se disolvió en una mezcla de DCM/MeOH (16 ml/8 ml, 20 V/10 V), se añadió gota a gota con ácido clorhídrico concentrado (4,8 ml, 6 V) y se reaccionó a 25 °C-30 °C durante 17 h C. La reacción fue monitoreada por TLC. Una vez finalizada la reacción, la solución de reacción se diluyó añadiendo DCM, y el pH se ajustó a 6-7 añadiendo lentamente hidróxido de sodio acuoso (0,5 M) gota a gota. Después de separar la solución de reacción, la fase acuosa se extrajo con DCM, y las fases orgánicas se combinaron y lavaron con agua salada saturada, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se concentraron y se despulparon con metil terc-butyl éter para obtener 553 mg del compuesto **1-8**. El rendimiento fue del 80%.

[0258] La preparación del Compuesto **1-10**



[0259] El compuesto **1-8** (230 mg, 0,92 mmol) y el compuesto **1-9** (220 mg, 0,836 mmol) se colocaron en un matraz de reacción, se añadieron con tolueno (5 ml) para que se disolvieran, seguido de la adición de PPTS (150 mg, 0,6 mmol) bajo protección de nitrógeno, se calentaron a 120 °C y se reaccionaron con reflujo durante 18 h. Los sólidos negros se precipitaron a partir de la solución de reacción. La finalización de la reacción fue monitoreada por LCMS. La solución de reacción se concentró y se secó, y los sólidos resultantes se disolvieron mediante la adición de DMF, se purificaron mediante columna de fase reversa (acetonitrilo: el agua fue 20%), se recolectaron y liofilizaron para obtener 245 mg del compuesto **1-10**. El rendimiento fue del 56%.

[0260] La preparación del compuesto **C-1a** y **C-1b**

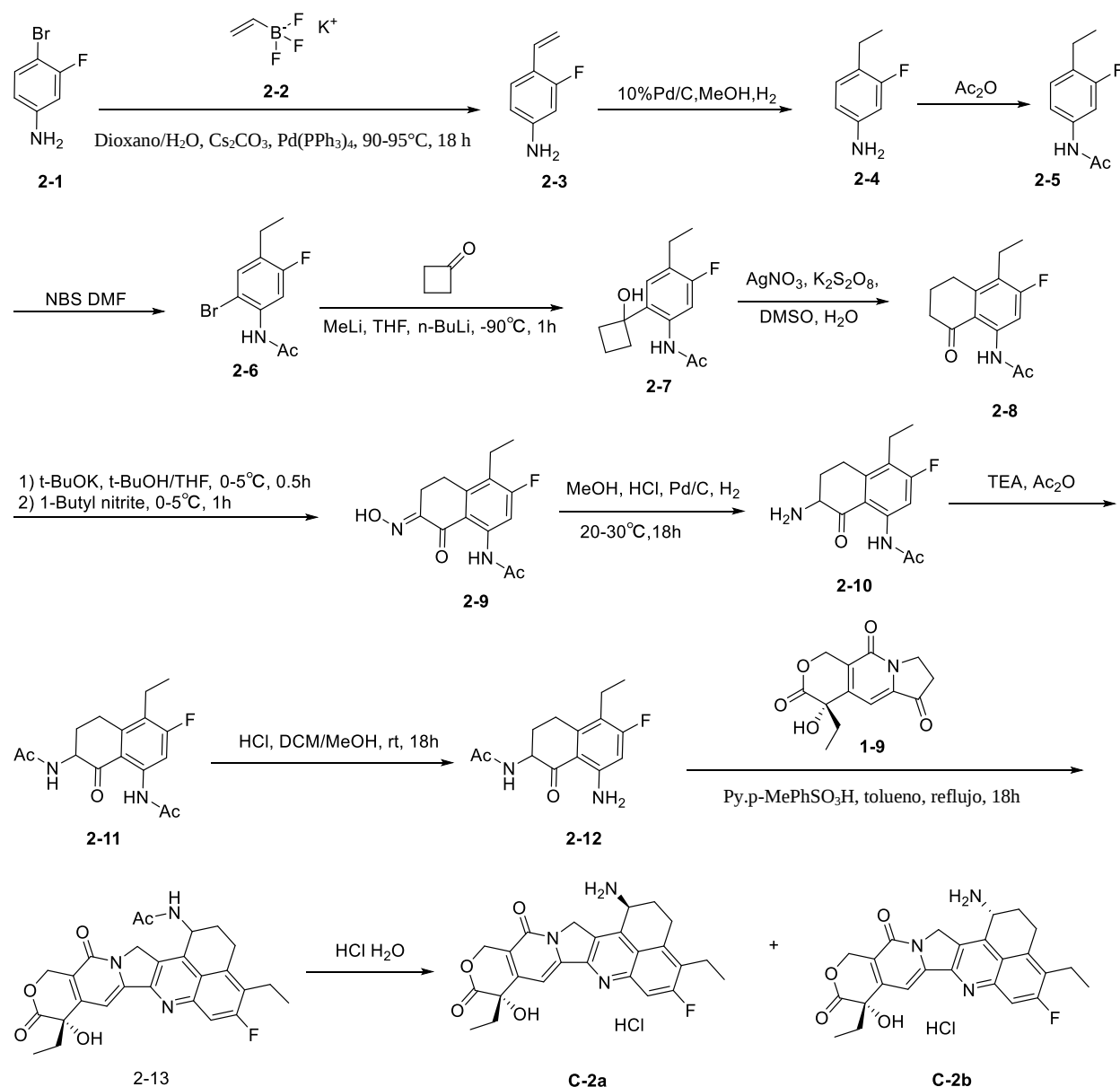


[0261] El compuesto **1-10** (245 mg, 0,51 mmol) se disolvió con ácido clorhídrico acuoso (6 mol, 5 ml), se calentó a 110 °C y reaccionó con reflujo durante 8 h. La solución de reacción se liofilizó después de mezclarla con agua y acetonitrilo y eliminar el ácido clorhídrico. Se obtuvieron el compuesto **C-1a** (30 mg) y el compuesto **C-1b** (58 mg).

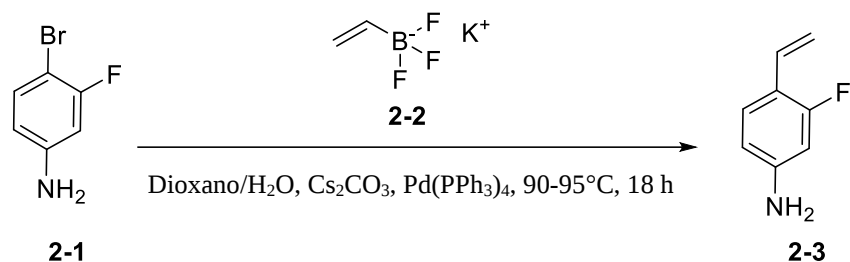
[0262] Compuesto **C-1a**: LCMS (m/z) $[M+H]^+ = 436.2$. RMN ^1H (400 MHz, DMSO): δ 8.32 (brs, 3H), 8.00 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.49 – 5.33 (m, 3H), 5.30 – 5.13 (m, 2H), 3.31 – 3.27 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.20 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 1.90-1.80 (m, 2H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).

[0263] Compuesto **C-1b**: LCMS (m/z) $[M+H]^+ = 436.2$. RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ 8.34 (brs, 3H), 8.00 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.53 (s, 1H), 5.51 – 5.31 (m, 3H), 5.30 – 5.13 (m, 2H), 3.33-3.25 (m, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.25 – 2.14 (m, 1H), 1.98 – 1.77 (m, 2H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).

Ejemplo 2: Síntesis de los compuestos C-2a y C-2b

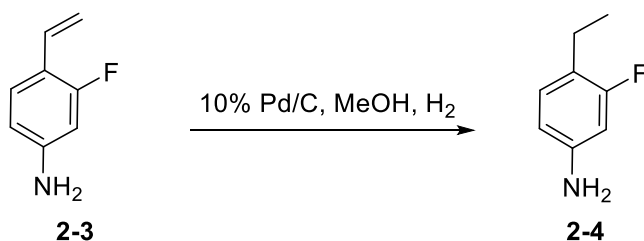


[0264] La preparación del Compuesto 2-3



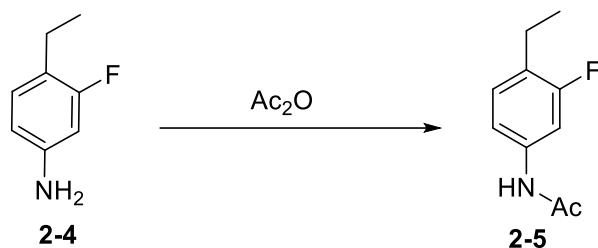
[0265] El compuesto **2-1** (50,0 g, 263 mmol) se disolvió en dioxano (1,2 L) y H₂O (300 mL), se añadió con el compuesto **2-2** (38,8 g, 290 mmol), Cs₂CO₃ (257 g, 789 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (3,04 g, 2,63 mmol), y reaccionó a 95 °C durante 18 h. La reacción fue monitoreada por LCMS y las materias primas desaparecieron. Una vez completada la reacción, se añadió agua (500 mL) a la solución de reacción, seguida de una extracción con EA (3×200 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (3×300 mL) y cloruro de sodio saturado (1 L), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna (PE/EA) para obtener 32 g de Compuesto **2-3**. El rendimiento fue del 88%.

[0266] La preparación del Compuesto 2-4



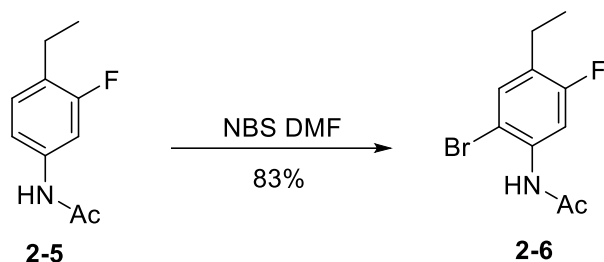
[0267] El compuesto **2-3** (32 g, 233 mmol) se disolvió mediante la adición de MeOH (300 mL), seguido de la adición de 10% de Pd/C (3,2 g), y se reaccionó a temperatura ambiente (25 °C) durante 18 h. La reacción fue monitoreada por LCMS y la materia prima desapareció. La solución de reacción se filtró con tierra de diatomeas y se lavó con metanol (1 L). El filtrado se secó para obtener 27 g de Compuesto **2-4**. El rendimiento fue del 84%.

[0268] La preparación del Compuesto 2-5



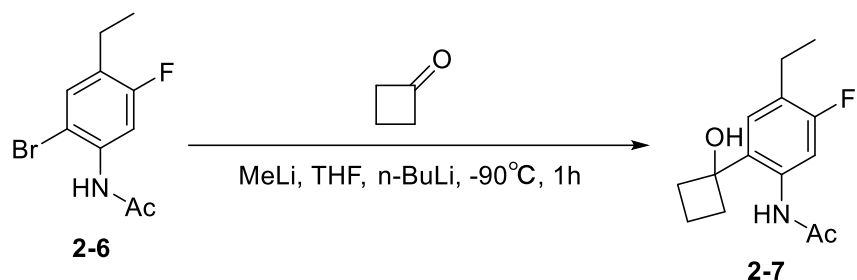
[0269] El compuesto **2-4** (27 g, 194 mmol) se disolvió en DCM (300 mL), se añadió con Ac_2O (23,8 g, 232,8 mmol) y se agitó a 25 °C durante 3 h. TLC (PE/EA = 1/1) detectó la finalización de la reacción. Después de eso, se agregó agua (500 mL) a la solución de reacción, seguida de extracción con DCM (3×200 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado (1 L), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener 32 g del compuesto **2-5**. El producto crudo se utilizó directamente en el siguiente paso de la reacción. El rendimiento fue del 91%.

[0270] La preparación del Compuesto **2-6**



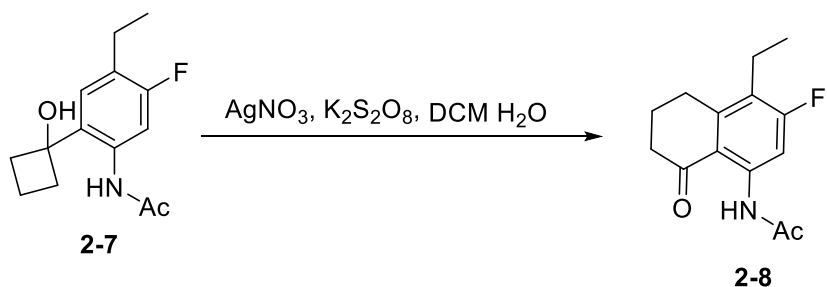
[0271] El compuesto **2,5** (32 g, 182 mmol) se disolvió en DMF (320 mL), seguido de la adición de NBS (65 g, 363 mmol) y se agitó a 25 °C durante 18 h. El TLC (PE/EA = 1/1) detectó la finalización de la reacción. Se añadieron 500 mL de agua a la solución de reacción, seguida de una extracción con EA (3×200 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (3×300 mL), se lavaron con cloruro de sodio saturado (500 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna para obtener 38 g del compuesto **2-6**. El rendimiento fue del 83%.

[0272] La preparación del Compuesto **2-7**



[0273] El compuesto **2-6** (30 g, 119 mmol) se colocó en un matraz seco de tres cuellos bajo protección de N₂, se disolvió añadiendo 250 mL de THF, se enfrió a unos -90 °C, se añadieron lentamente gotas a gotas 3 M de solución de MeLi (60 mL, 179 mmol) manteniendo la temperatura por debajo de -80 °C, y se agitó a la misma temperatura durante 30 min. seguido de la adición lenta gota a gota de 2,5 M de solución de n-BuLi/THF (72 mL, 178,8 mmol) y agitado a -90 °C durante 30 min. Después de eso, se agregó lentamente una solución de ciclobutanona (10,1 g, 143 mmol) en THF (50 mL) y se agitó a esa temperatura durante 1 h. La reacción fue detectada por LCMS y el 15% de las materias primas se quedaron, siendo el pico principal el producto. La reacción se apagó añadiendo 200 mL de cloruro de amonio acuoso saturado a la solución de reacción, seguido de una extracción con EA (3×50 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado (100 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna para obtener 27 g del compuesto **2-7**. El rendimiento no se contabilizó.

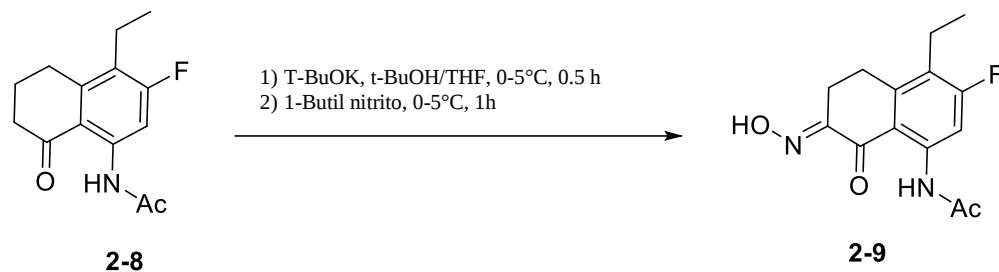
[0274] La preparación del Compuesto **2-8**



[0275] El compuesto **2-7** (27 g, 107 mmol) se añadió a DCM (540 mL) y H₂O (540 mL), seguido de la adición de AgNO₃ (3,65 g, 21,5 mmol) y K₂S₂O₈ (87,1 g, 322,3 mmol), y se agitó a 25 °C durante 18 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron, siendo el pico principal el producto. La reacción fue apagada. Se añadió 1 L de agua a la solución de reacción, seguido de una extracción con DCM (3×300 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio

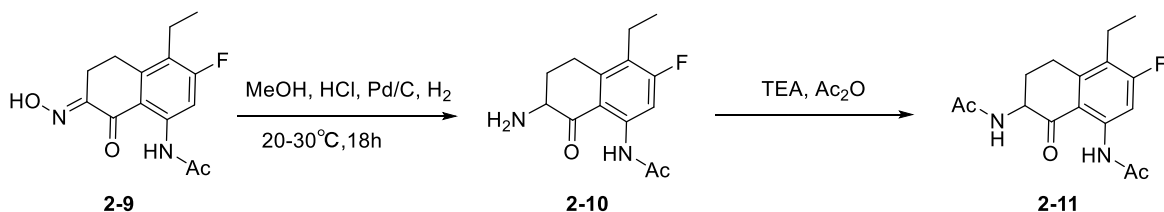
saturado (1 L), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna para obtener 11 g de compuesto **2-8**. El rendimiento en dos pasos fue del 38%.

[0276] La preparación del Compuesto **2-9**



[0277] Se añadió terc-butoxido de potasio (9,45 g, 84,3 mmol) a terc-butanol (30 mL) y THF (60 mL) bajo protección N₂, seguido de la adición lenta gota a gota de una solución de Compuesto **2-8** (6 g, 24,1 mmol) en THF (60 mL) a aproximadamente 0 °C, y se agitó a 0 °C durante 30 min, seguido de la adición lenta de nitrito de n-butilo (9,45 g, 84,3 mmol) y agitado a 0 °C durante 1 h. El TLC (PE/EA = 1/1) mostró que la reacción se había completado. Se añadieron 300 mL de agua a la solución de reacción, seguido de la adición de 1 M de HCl para ajustar el pH a 2-3. Se precipitó una gran cantidad de sólidos, se filtraron y se lavaron con agua (500 mL). Se recolectó la torta de filtración, se le adicionaron 50 mL de PE:MTBE=10:1, se agitó a 25°C durante 1h y se filtró, y se recolectó la torta de filtración y se secó con bomba de aceite para obtener 6,3 g de Compuesto **2-9**. El rendimiento fue del 94%.

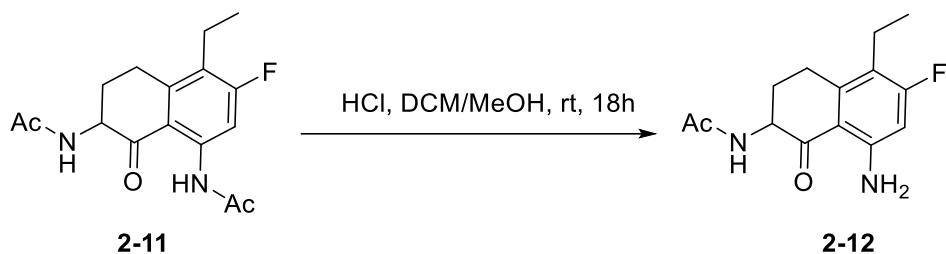
[0278] La preparación del Compuesto **2-11**



[0279] El compuesto **2-9** (7,3 g, 26,2 mmol) se disolvió en MeOH (220 mL), se añadió con 4 M de HCl/MeOH (13,2 mL, 52,4 mmol), seguido de la adición de 10% de Pd/C (730 mg) y se agitó a 28 °C durante 18 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron. Se añadieron TEA (9,37 g, 91,8 mmol) y Ac₂O (6,16 g, 60,3 mmol) a la solución de reacción y se agitaron a 28 °C durante 1 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron. La solución de reacción se filtró con tierra de diatomeas y se lavó con metanol (1 L). El filtrado se centrifugaba en seco

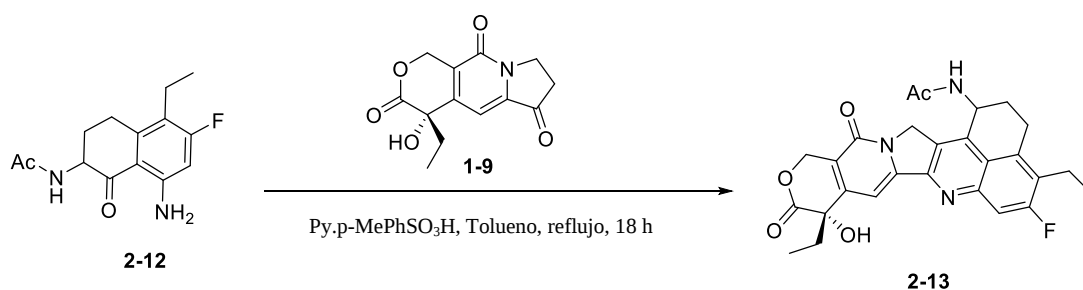
para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna para obtener 2 g de Compuesto **2-11**. El rendimiento en dos pasos fue del 25%.

[0280] La preparación del Compuesto **2-12**



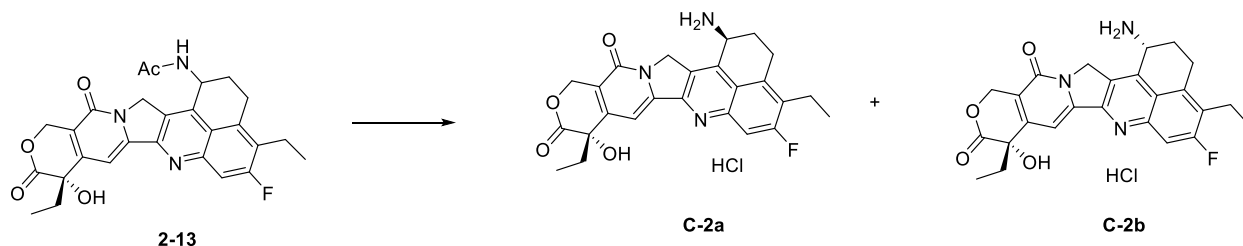
[0281] El compuesto **2-11** (2 g, 6,53 mmol) se añadió a DCM (40 mL) y MeOH (20 mL), seguido de la adición de ácido clorhídrico concentrado (12 mL) y se agitó a 28 °C durante 18 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron, siendo el pico principal el producto. La reacción fue apagada. Se añadieron 30 mL de agua a la solución de reacción, seguido de la adición de bicarbonato de sodio acuoso saturado para ajustar el pH a 9-10, seguido de la extracción con DCM (3×20 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado (50 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. La torta de filtración se adicionó con 20 mL de PE:MTBE=10:1, se agitó a 25°C durante 1 h y se filtró, y se recolectó la torta de filtración para obtener 1,7 g de Compuesto **2-12**. El rendimiento no se contabilizó.

[0282] La preparación del Compuesto **2-13**



[0283] El compuesto **2-12** (330 mg, 1,25 mmol) se disolvió en tolueno (10 mL), se añadió con HM-582_8 (299 mg, 1,14 mmol) y PPTS (143 mg, 0,57 mmol) y se agitó a 125 °C durante 24 h. La reacción fue detectada por LCMS y el 15% de las materias primas se quedaron, siendo el pico principal el producto. La reacción fue apagada. La solución de reacción se secó para obtener directamente el producto crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna para obtener 350 mg del compuesto **2-13**. El rendimiento en dos pasos fue del 57%.

[0284] La preparación de los compuestos **C-2a** y **C-2b**

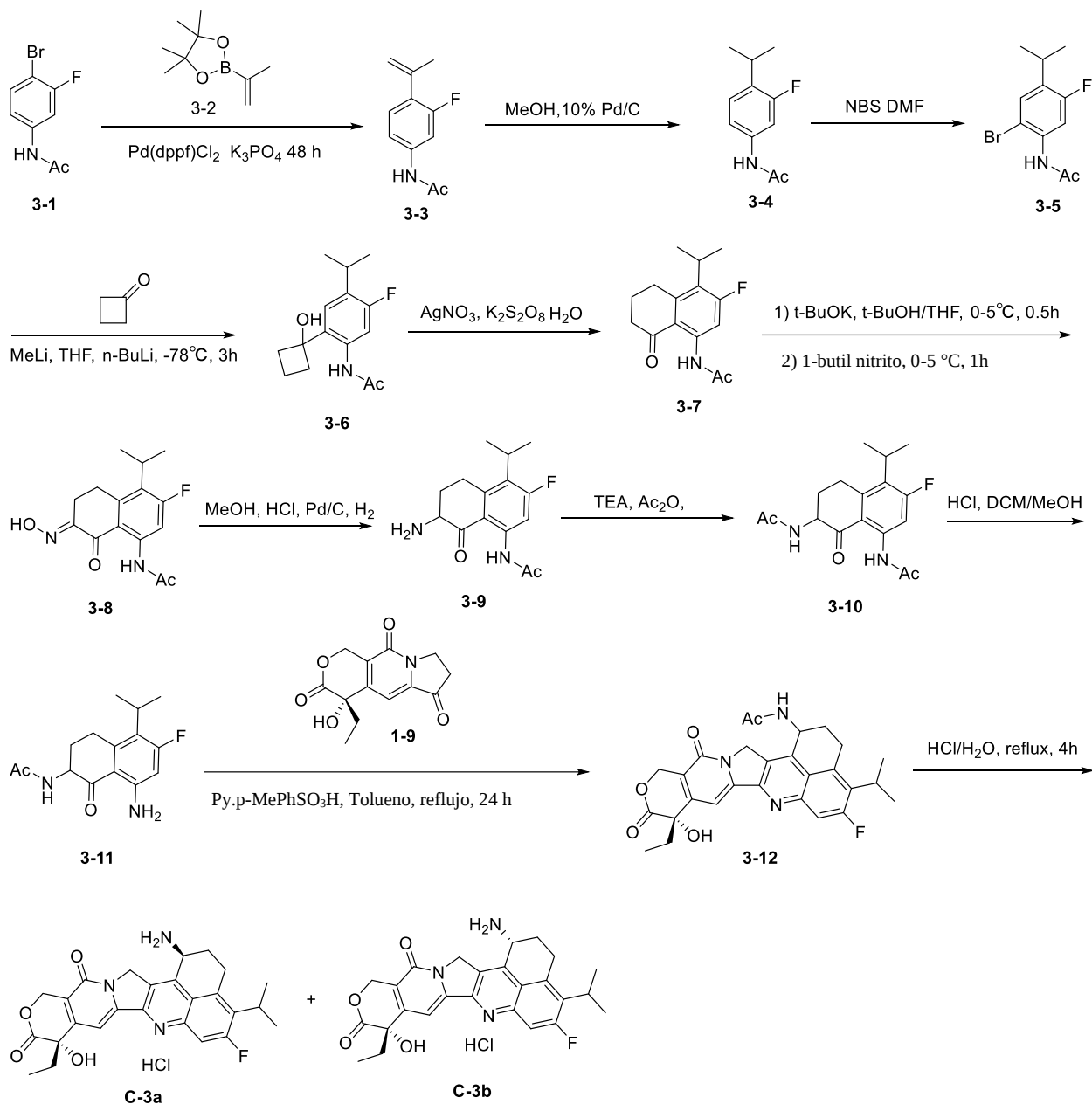


[0285] El compuesto **2-13** (350 mg, 0,712 mmol) se añadió a 6M de solución acuosa de HCl (7 mL) y se agitó bajo reflujo a 110 °C durante 4 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron. La reacción fue apagada. La solución de reacción se liofilizó directamente para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó directamente por NP-HPLC para obtener 80 mg de compuesto **C-2a** y 75 mg de compuesto **C-2b**, ambos sólidos de color amarillo claro. El rendimiento en dos pasos fue del 49%.

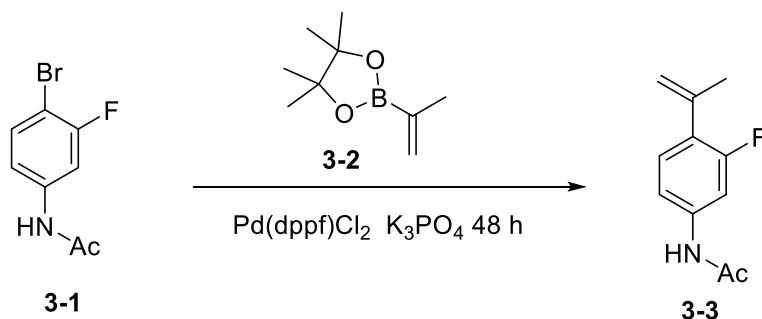
[0286] Compuesto **C-2a**: LCMS (m/z) $[M+H]^+ = 450.2$. RMN 1H (400 MHz, DMSO): δ 8,52 – 8,38 (m, 3H), 7,89 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 7,36 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,74 – 5,69 (m, 2H), 5,55 – 5,30 (m, 3H), 5,10 (s, 1H), 3,48 – 3,43 (m, 1H), 3,24 – 3,10 (m, 1H), 2,94 – 2,88 (m, 2H), 2,56 – 2,53 (m, 1H), 2,28 – 2,13 (m, 1H), 1,99 – 1,81 (m, 2H), 1,22 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H), 0,89 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

[0287] Compuesto **C-2b**: LCMS (m/z) $[M+H]^+ = 450.2$. RMN 1H (400 MHz, DMSO): δ 8,57 – 8,35 (m, 3H), 7,90 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 7,36 (s, 1H), 6,55 (s, 1H), 5,78 – 5,64 (m, 1H), 5,53 – 5,36 (m, 3H), 5,11 (s, 1H), 3,44 – 3,37 (m, 1H), 3,24 – 3,12 (m, 1H), 2,97 – 2,85 (m, 2H), 2,56 – 2,52 (m, 1H), 2,26 – 2,14 (m, 1H), 1,96 – 1,81 (m, 2H), 1,22 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H), 0,88 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

Ejemplo 3: Síntesis de los compuestos C-3a y C-3b

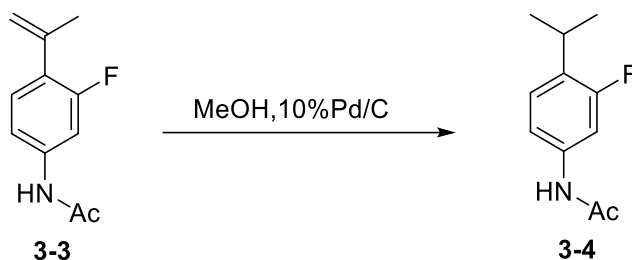


[0288] La preparación del Compuesto 3-3



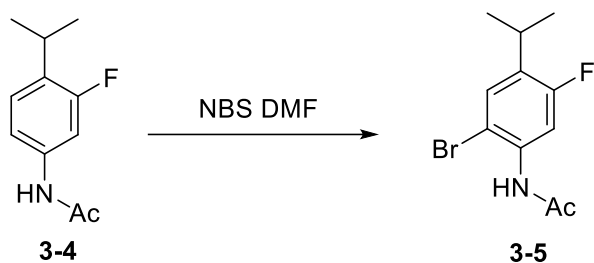
[0289] El compuesto **3-1** (33 g, 142 mmol) se disolvió en dioxano (300 mL) y H₂O (150 mL), y se añadió con éster de ácido borónico **3-2** (28,7 g, 171 mmol), K₃PO₄ (90,6 g, 427 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (10,4 g, 14,2 mmol). La solución de reacción se reaccionó a 115 °C durante 48 h. La reacción fue monitoreada por LCMS y las materias primas desaparecieron. Una vez finalizada la reacción, se añadió agua (1 L) a la solución de reacción, seguida de una extracción con EA (3×300 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (3×500 mL) y cloruro de sodio saturado (1 L), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna para obtener 24 g del compuesto **3-3**. El rendimiento fue del 87%.

[0290] La preparación del Compuesto **3-4**



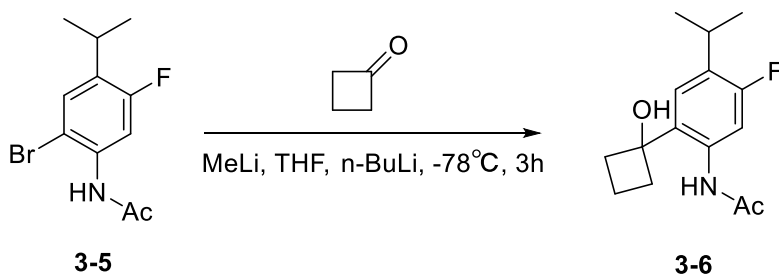
[0291] El compuesto **3-3** (24 g, 124 mmol) se disolvió mediante la adición de MeOH (300 mL), seguido de la adición de 10% de Pd/C (3,0 g) y se reaccionó a temperatura ambiente (28 °C) durante 18 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron. La solución de reacción se filtró con tierra de diatomeas y se lavó con metanol (1 L). El filtrado se secó para obtener 25 g de Compound **3-4**. El rendimiento no se contabilizó.

[0292] La preparación del Compuesto **3-5**



[0293] El compuesto **3-4** (25 g, 128 mmol) se disolvió en DMF (300 mL), seguido de la adición de NBS (46 g, 256 mmol) y se agitó a 25 °C durante 18 h. TLC (PE/EA = 1/1) mostró la finalización de la reacción. La solución de reacción se adicionó con 500 mL de agua, seguida de extracción con EA (3×200 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (3×300 mL), se lavaron con cloruro de sodio saturado (500 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna para obtener 28 g de compuesto **3-5**. El rendimiento en dos pasos fue del 80%.

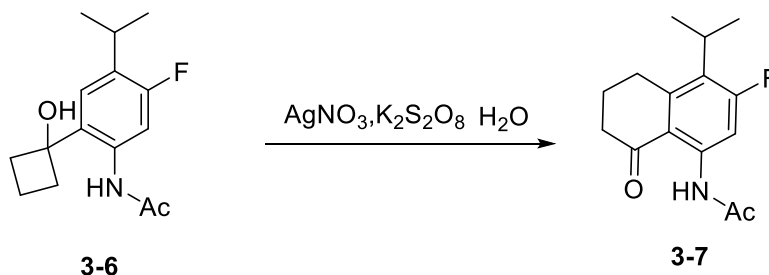
[0294] La preparación del Compuesto **3-6**



[0295] El compuesto **3-5** (10 g, 36,5 mmol) se colocó en un matraz seco de tres cuellos bajo protección de N₂, se disolvió añadiendo 100 mL de THF, se enfrió a unos -90 °C, se añadió lentamente gota a gota 1,6 M de solución de MeLi (46 mmol, 73,0 mmol) manteniendo la temperatura por debajo de -80 °C, y se agitó a la misma temperatura durante 30 min. seguido de la adición lenta gota a gota de 2,5 M de solución de n-BuLi/THF (29,1 mmol, 73,0 mmol) y agitado a -90 °C durante 30 min. Después de eso, se agregó lentamente una solución de ciclobutanona (3,07 g, 143 mmol) en THF (50 mL) gota a gota y se agitó a esa temperatura durante 1 h. La reacción fue detectada por LCMS y el 15% de las materias primas se quedaron, siendo el pico principal el producto. La reacción se extinguió añadiendo 200 mL de cloruro de amonio acuoso saturado a la solución de reacción, seguido de la adición de 200 mL de agua, y se extrajo con EA (3×100 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado (100 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto

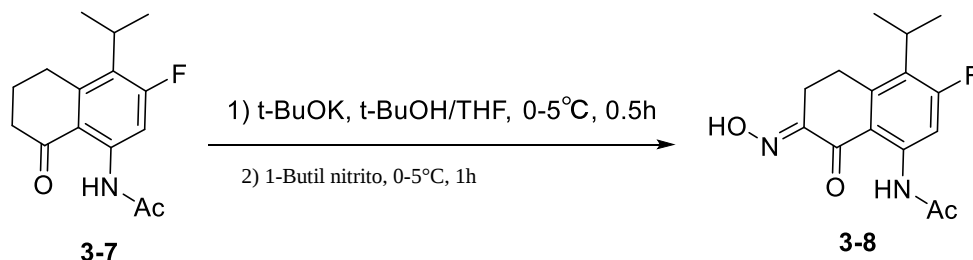
crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna para obtener 7,9 g de compuesto **3-6**. El rendimiento no se contabilizó.

[0296] La preparación del Compuesto **3-7**



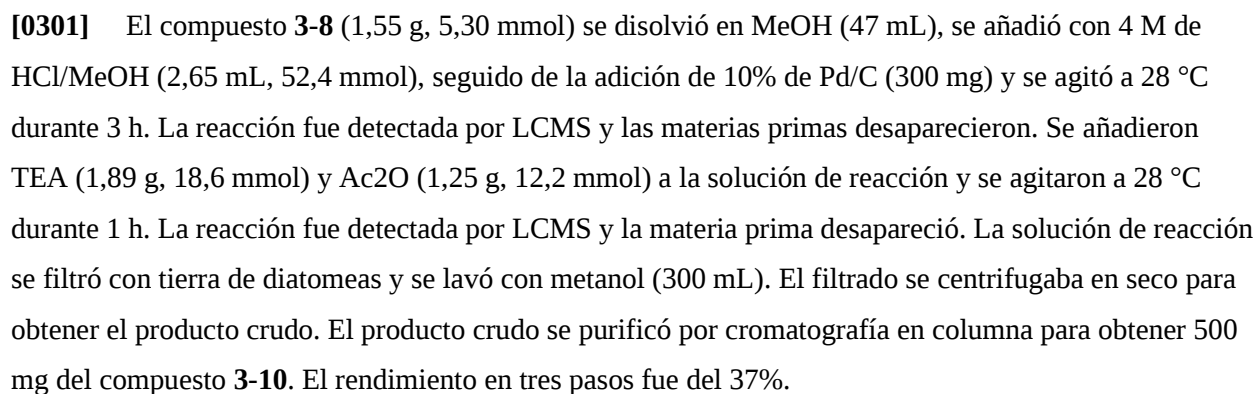
[0297] El compuesto **3-6** (7,9 g, 29,8 mmol) se añadió a DCM (160 mL) y H₂O (160 mL), seguido de la adición de AgNO₃ (1,01 g, 5,96 mmol) y K₂S₂O₈ (24,2 g, 89,3 mmol), y se agitó a 28 °C durante 18 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron, siendo el pico principal el producto. La reacción fue apagada. Se añadió 1 L de agua a la solución de reacción, seguido de la extracción con DCM (3×100 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado (500 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna para obtener 1,45 g de compuesto **3-7**. El rendimiento en dos pasos fue del 16%.

[0298] La preparación del Compuesto **3-8**



[0299] Se añadió terc-butoxido de potasio (2,16 g, 19,3 mmol) a terc-butanol (8 mL) y THF (8 mL) bajo protección N₂, seguido de la adición lenta gota a gota de una solución de Compuesto **3-7** (1,45 g, 5,51 mmol) en THF (13 mL) a aproximadamente 0 °C, y se agitó a 0 °C durante 30 min, seguido de la adición lenta de nitrito de n-butilo (1,14 g, 11,1 mmol) y se agitó a 0 °C durante 1 h. TLC (PE/EA = 1/1) mostró que la reacción se había completado. Se añadieron 50 mL de agua a la solución de reacción, seguido de la adición de 1 M de HCl para ajustar el pH a 2-3, y se extrajo con EA (3×20 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con cloruro de sodio saturado (500 mL), se secaron sobre sulfato de

[0300] La preparación del Compuesto 3-10



Chemical reaction scheme showing the conversion of compound **3-10** to compound **3-11**. The reaction conditions are HCl, DCM/MeOH.

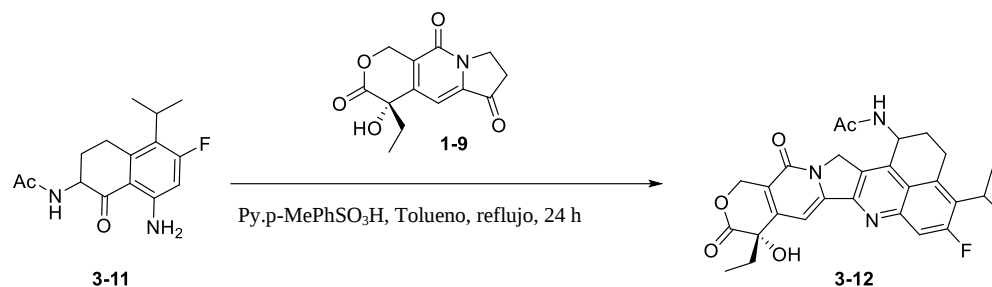
Compound **3-10** (left) is a naphthalene derivative with an isopropyl group at position 1, an acetamido group at position 2, a fluorine atom at position 3, and an acetamido group at position 4.

Compound **3-11** (right) is the product, where the acetamido group at position 4 has been converted to an amino group.

81

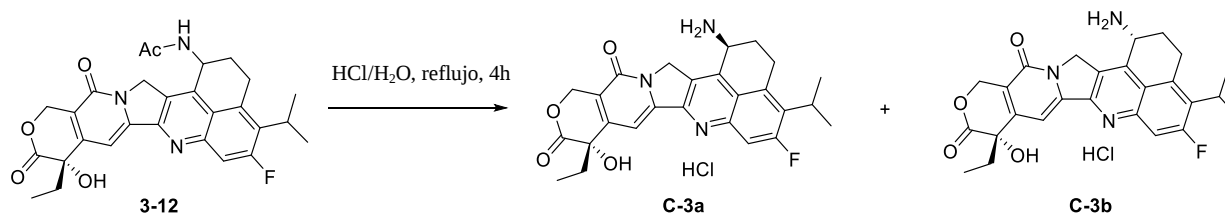
de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron para obtener el producto crudo. La torta de filtración se añadió con 15 mL de PE:MTBE=10:1, se agitó a 25°C durante 1h y se filtró. La torta de filtración se colectó para obtener 320 mg del compuesto **3-11**. El rendimiento no se contabilizó.

[0304] La preparación del Compuesto **3-12**



[0305] El compuesto **3-11** (320 mg, 1,15 mmol) se disolvió en tolueno (8 mL), se añadió con HM-582_8 (275 mg, 1,05 mmol) y PPTS (132 mg, 0,52 mmol), y se agitó a 125 °C durante 24 h. La reacción fue detectada por LCMS y el 15% de las materias primas se quedaron, siendo el pico principal el producto. La reacción fue apagada. La solución de reacción se secó directamente para obtener el producto crudo. El producto crudo se mezcló con gel de sílice y se purificó por cromatografía en columna para obtener 400 mg del compuesto **3-12**. El rendimiento en dos pasos fue del 69%.

[0306] 1.2.10 La preparación de los compuestos **C-3a** y **C-3b**



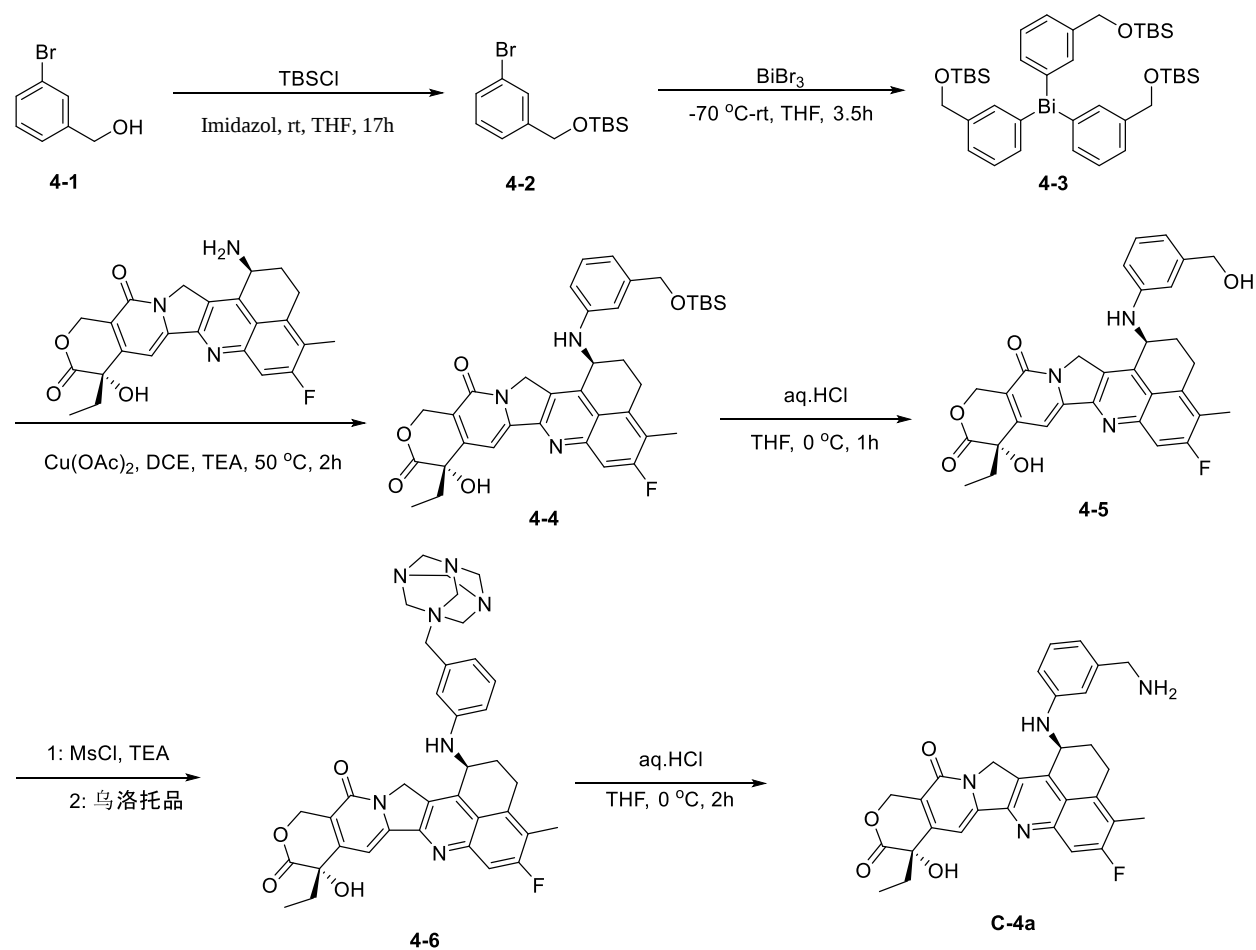
[0307] Se añadió el compuesto **3-12** (400 mg) a 6 M de solución acuosa de HCl (5 mL) y se agitó bajo reflujo a 110 °C durante 4 h. La reacción fue detectada por LCMS y las materias primas desaparecieron. La reacción fue apagada. La solución de reacción se liofilizó directamente para obtener el producto crudo. El producto crudo fue purificado directamente por NP-HPLC para obtener 55 mg de Compuesto **C-3a** y 90 mg de Compuesto **C-3b**. El rendimiento fue del 40%

[0308] Compuesto **C-3a**: LCMS (m/z) [M+H]⁺= 464.2. RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,51 (brs, 3H), 7,89 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 7,37 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,74 – 5,69 (m, 1H), 5,56 – 5,36 (m, 3H), 5,11 (s,

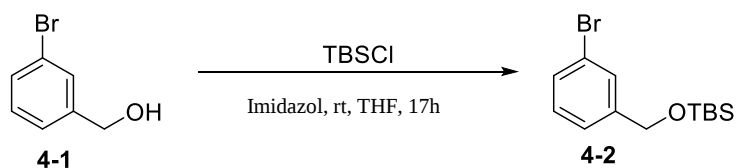
1H), 3,66 – 3,54 (m, 1H), 3,49 – 3,40 (m, 1H), 3,26 – 3,13 (m, 1H), 2,59 – 2,54 (m, 1H), 2,26 – 2,15 (m, 1H), 1,97 – 1,82 (m, 2H), 1,45-1,35 (m, 6H), 0,91 (t, J = 7.6 Hz, 3H).

[0309] Compuesto **C-3b**: LCMS (m/z) [M+H]⁺ = 464.2. RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,50 (brs, 3H), 7,89 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 7,37 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,79 – 5,64 (m, 1H), 5,55 – 5,38 (m, 3H), 5,12 (s, 1H), 3,63-3,57 (m, 1H), 3,48 – 3,41 (m, 1H), 3,26 – 3,13 (m, 1H), 2,58 – 2,54 (m, 1H), 2,27 – 2,13 (m, 1H), 1,97 – 1,83 (m, 2H), 1,46 – 1,34 (m, 6H), 0,90 (t, J = 7.6 Hz, 2H).

Ejemplo 4: Síntesis del compuesto C-4a

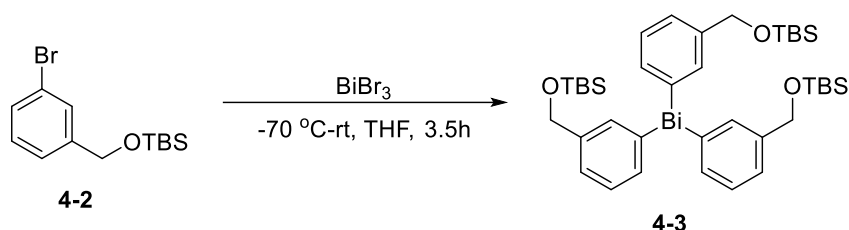


[0310] La preparación del Compuesto 4-2



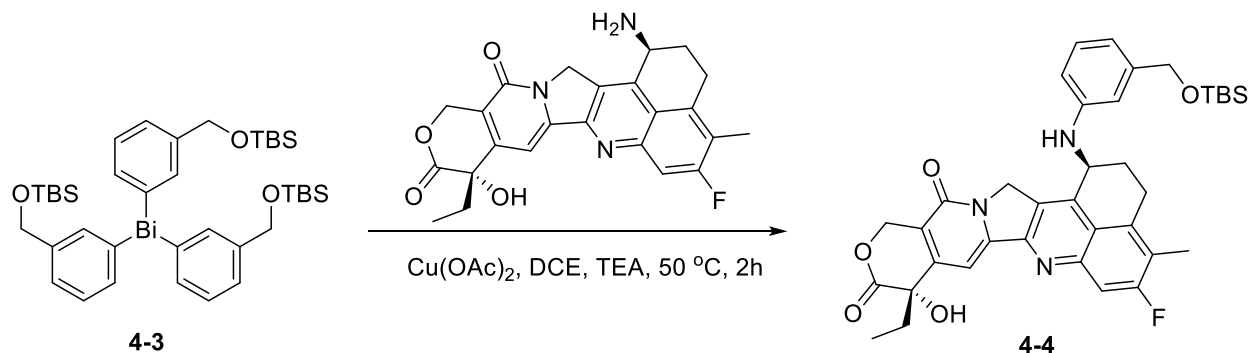
[0311] El compuesto **4-1** (10 g, 53,5 mmol) y el imidazol (10,9 g, 160 mmol) se disolvieron en THF (100 ml), se añadieron con TBSCl (12,1 g, 80,1 mmol) se disolvieron en 30 mL de THF súper seco utilizando un embudo de caída equilibrado a presión. El sistema se sustituyó por N₂ y la solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. TLC (PE:EA=10) mostró que la reacción se había completado. La solución de reacción se añadió a agua (100 mL), se extrajo con acetato de etilo (150 mL), se lavó con agua (50 mL) durante 3 veces. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se concentró y se purificó aún más por cromatografía en columna para obtener 15 g de compuesto **4-2**. El rendimiento fue del 94%.

[0312] La preparación del Compuesto **4-3**



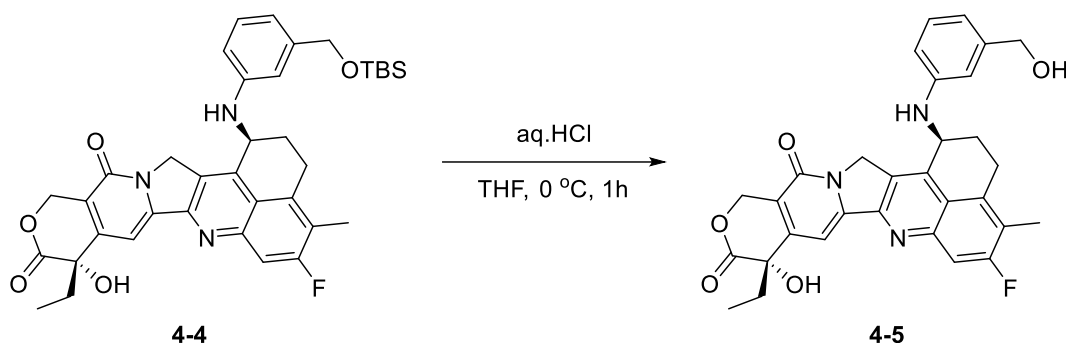
[0313] A una solución de compuesto **4-2** (15,0 g, 49,7 mmol) en THF (150 ml), se añadió n-butilitio (24,45 ml, 61 mmol, 2,5 M) a -70 °C y se agitó a -70 °C durante 1 h, seguido de la adición de bromuro de bismuto (8,19 g, 19,9 mmol) disuelto en THF superseco (20 ml) y se agitó a -70 °C durante 0,5 h, se calienta gradualmente a temperatura ambiente y se agita durante 2 h. TLC (PE:EA=10:1) mostró que la reacción se había completado. La solución de reacción se vertió en agua (100 mL), se extrajo con DCM (100 mL), se lavó con agua (50 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se secó y se purificó aún más por cromatografía en columna para obtener 5 g de compuesto **4-3**. El rendimiento fue del 12%.

[0314] La preparación del Compuesto **4-4**



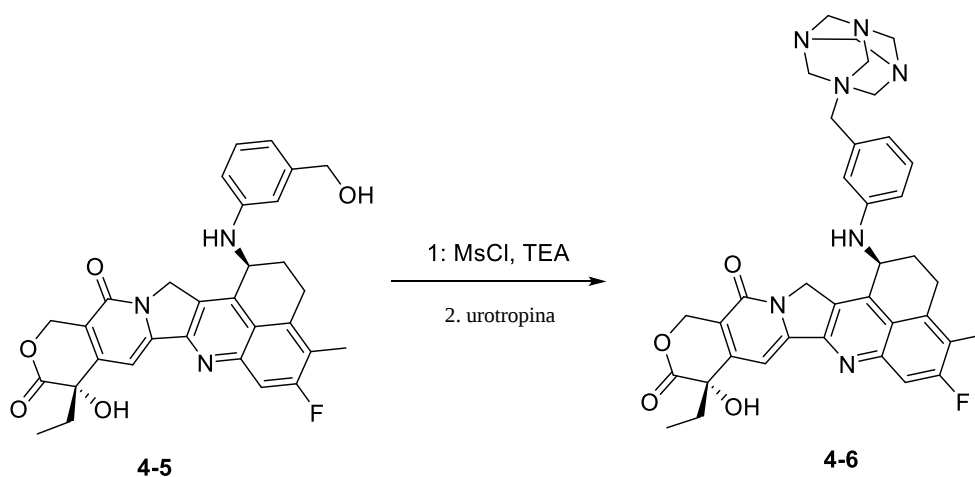
[0315] El compuesto **4-3** (4,0 g, 4,5 mmol), exatecan (400 mg, 0,919 mmol, preparado según el Ejemplo 5) y acetato de cobre anhidro (33,8 mg, 1,83 mmol) en 1,2-dicloroetano (40 mL) se añadieron con TEA (279 mg, 2,7 mmol), y reaccionaron a 50 °C durante 2 h. LCMS mostró que la reacción se había completado. La solución de reacción se adicionó con agua (50 mL), se extrajo con DCM (100 mL), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se secó y se purificó en una columna para obtener 110 mg del compuesto **4-4**. El rendimiento fue del 17%.

[0316] La preparación del Compuesto **4-5**

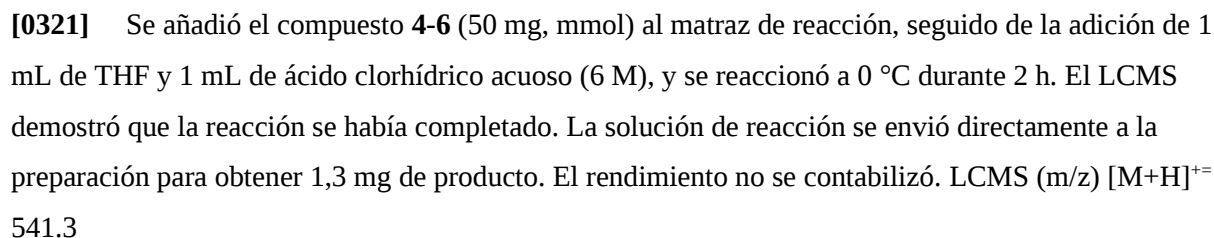


[0317] El compuesto **4-4** (100 mg, 0,153 mmol) se añadió a un matraz de reacción de 50 mL, seguido de la adición de THF (1 mL) y solución acuosa de HCl (2 M, 1 mL), y se reaccionó a 0 °C durante 1 h. El LCMS mostró la reacción completa de las materias primas. La solución de reacción se adicionó con 1 mL de acetonitrilo y se liofilizó directamente para obtener 90 mg del compuesto **4-5**. El rendimiento no se contabilizó.

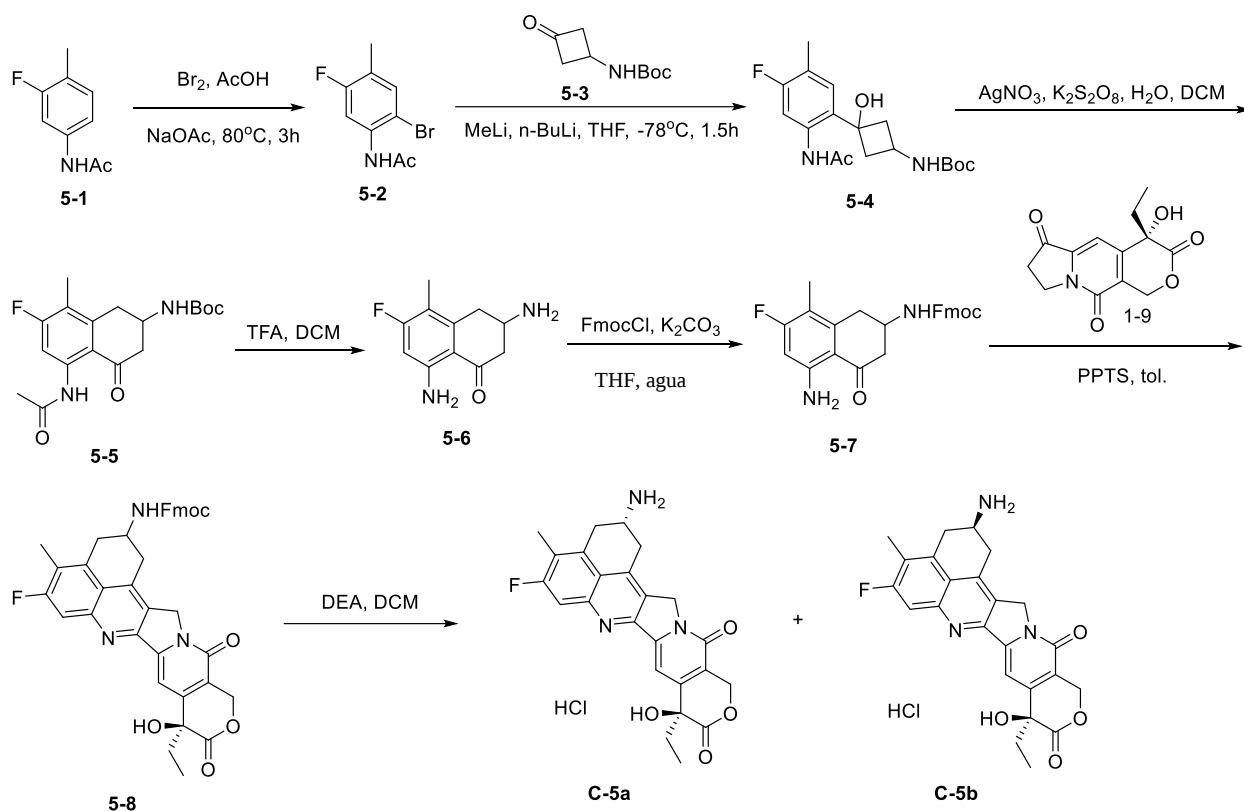
[0318] La preparación del Compuesto **4-6**



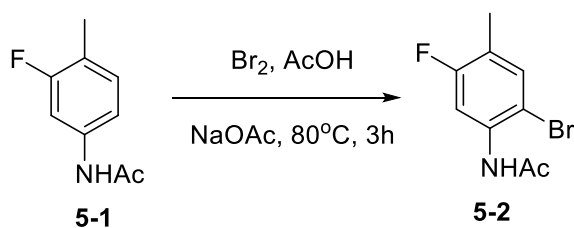
[0320] La preparación del compuesto **C-4a**



Ejemplo 5: Síntesis de los compuestos C-5a y C-5b

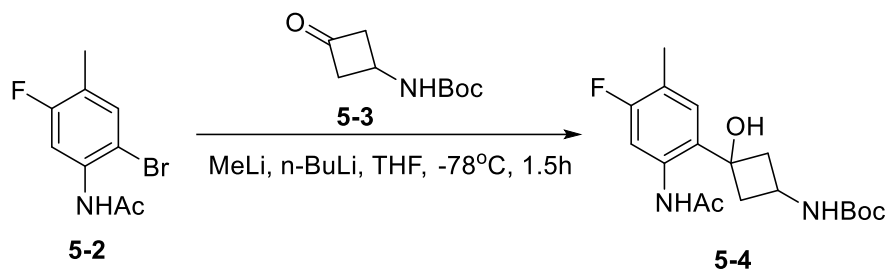


[0322] La preparación del Compuesto 5-2



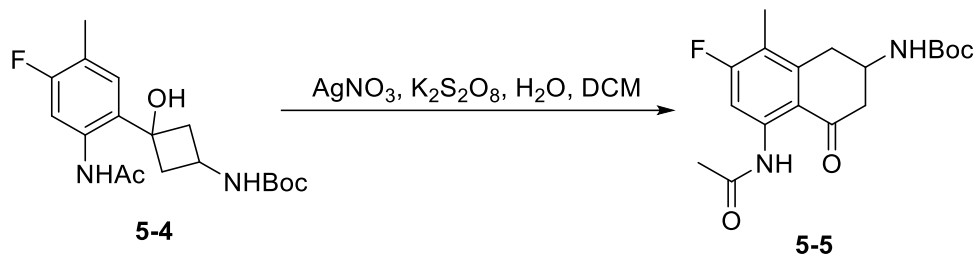
[0323] En un entorno de N_2 , se calentó a 60°C una solución de compuesto **5-1** (48,0 g, 287 mmol) y NaOAc (28,3 g, 345 mmol) en AcOH (165 mL) y se añadió gota a gota con Br_2 (en AcOH , 55,0 g, 345 mmol). A continuación, la solución de reacción se calentó a 80°C y se agitó durante 3 horas. Después de que LCMS monitoreó la finalización de la reacción, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se vertió en agua helada (2,5 L) y se agitó durante 30 minutos. Los sólidos amarillos se filtraron, se secaron a 50°C y se purificaron aún más mediante cromatografía en columna de gel de sílice para obtener 62 g de compuesto **5-2**. El rendimiento fue del 90%. LCMS (m/z) = 246,0.

[0324] La preparación del Compuesto 5-4



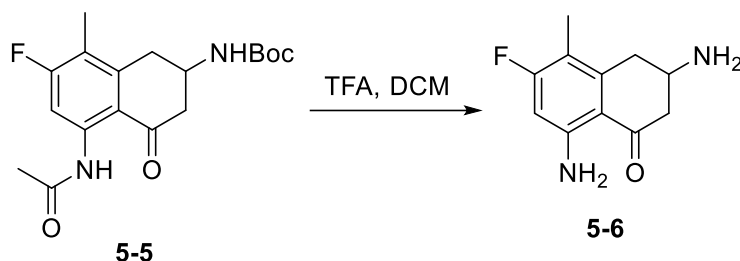
[0325] En un ambiente de N₂, se enfrió una solución de compuesto 5-2 (5,0 g, 20,3 mmol) en THF (50 mL) a -78 °C, se añadió gota a gota con MeLi (8,13 mL, 24,4 mmol) y se agitó durante 1 h, seguida de la adición de n-BuLi (9,76 mL, 24,4 mmol) y se agitó durante 1,5 h. A continuación, se añadió una solución de compuesto 5-3 (4,52 g, 24,4 mmol) en THF (10 mL) gota a gota en la solución de reacción y se agitó a -78 °C durante 1,5 h. Después de que LCMS monitoreó la finalización de la reacción, la solución de reacción se agregó con NH₄Cl acuoso saturado (200 mL) y se extrajo con EA (150 mL*3). La capa orgánica se lavó con NaCl saturado (200 mL*3), se secó y se concentró para obtener un producto crudo amarillo, que se purificó aún más por cromatografía en columna para obtener 2,0 g de compuesto 5-4. El rendimiento fue del 28%.

[0326] La preparación del Compuesto 5-5



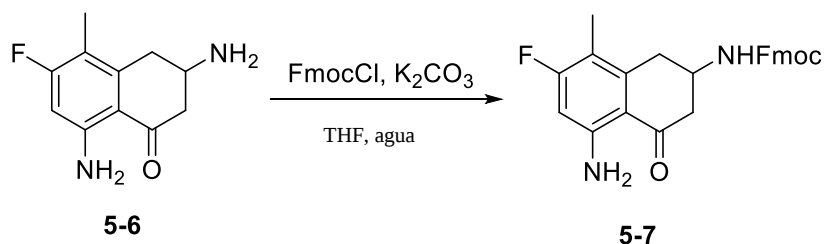
[0327] En un entorno de N₂, a una solución de compuesto 5-4 (3,67 g, 10,4 mmol) en DCM (70 mL)/agua (70 mL), se añadieron AgNO₃ (169 mg, 1,0 mmol) y K₂S₂O₈ (8,42 g, 31,2 mmol) a 0 °C. La solución de reacción se agitó durante la noche, desde 0 °C hasta temperatura ambiente. Después de que la finalización de la reacción fue monitoreada por TLC, la solución de reacción se separó y se extrajo con DCM (50 mL*3). La capa orgánica se lavó con Na₂SO₃ saturado (100 mL*3), se secó y se concentró para obtener un producto crudo, que se purificó aún más mediante cromatografía en columna para obtener 1,77 g de compuesto 5-5. El rendimiento fue del 47%.

[0328] La preparación del Compuesto 5-6



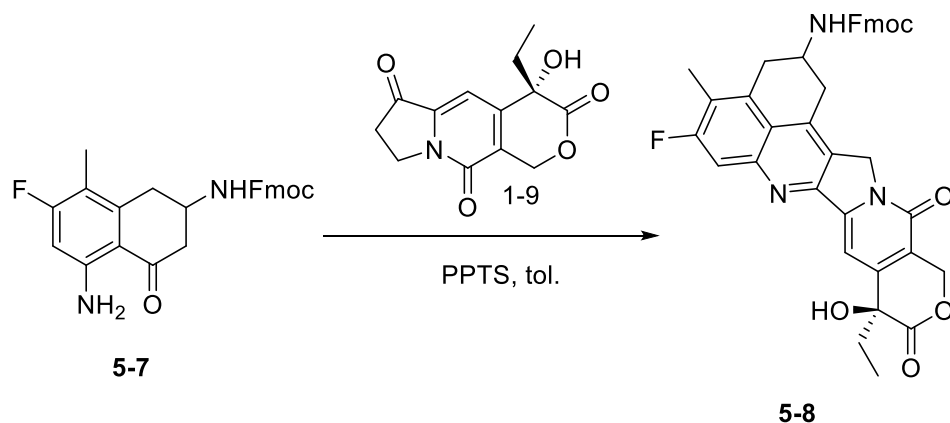
[0329] En un ambiente de N₂, a una solución de compuesto **5-5** (1,77 g, 5,1 mmol) en una mezcla de DCM (40 mL) y MeOH (20 mL), se añadió HCl concentrado (5,0 mL) gota a gota a 0. La solución de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Una vez finalizada la reacción, la solución de reacción se concentró para obtener 1,05 g de compuesto **5-6**, que se utilizó directamente en el siguiente paso de la reacción.

[0330] La preparación del Compuesto **5-7**



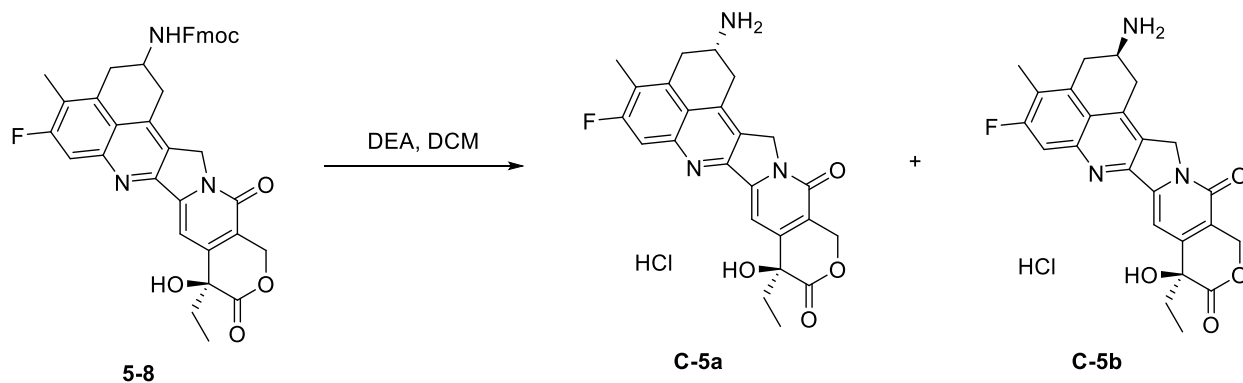
[0331] En un entorno de N₂, a una solución de FmocCl (1,16 g, 4,5 mmol) en THF (2 mL), se añadió gota a gota a 0 °C una solución de compuesto **5-6** (1,05 g, 4,3 mmol) y K₂CO₃ (1,3 g, 9,4 mmol) en THF (18 mL)/agua (27 mL). La solución de reacción se agitó a la misma temperatura durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, la solución de reacción se separó añadiéndola con 2-Me-THF (100 mL). La capa orgánica se lavó con agua (70 mL*3), se secó y se concentró, y se purificó posteriormente por cromatografía en columna para obtener 927 mg del compuesto **5-7**. El rendimiento fue del 48%.

[0332] La preparación del compuesto **5-8**



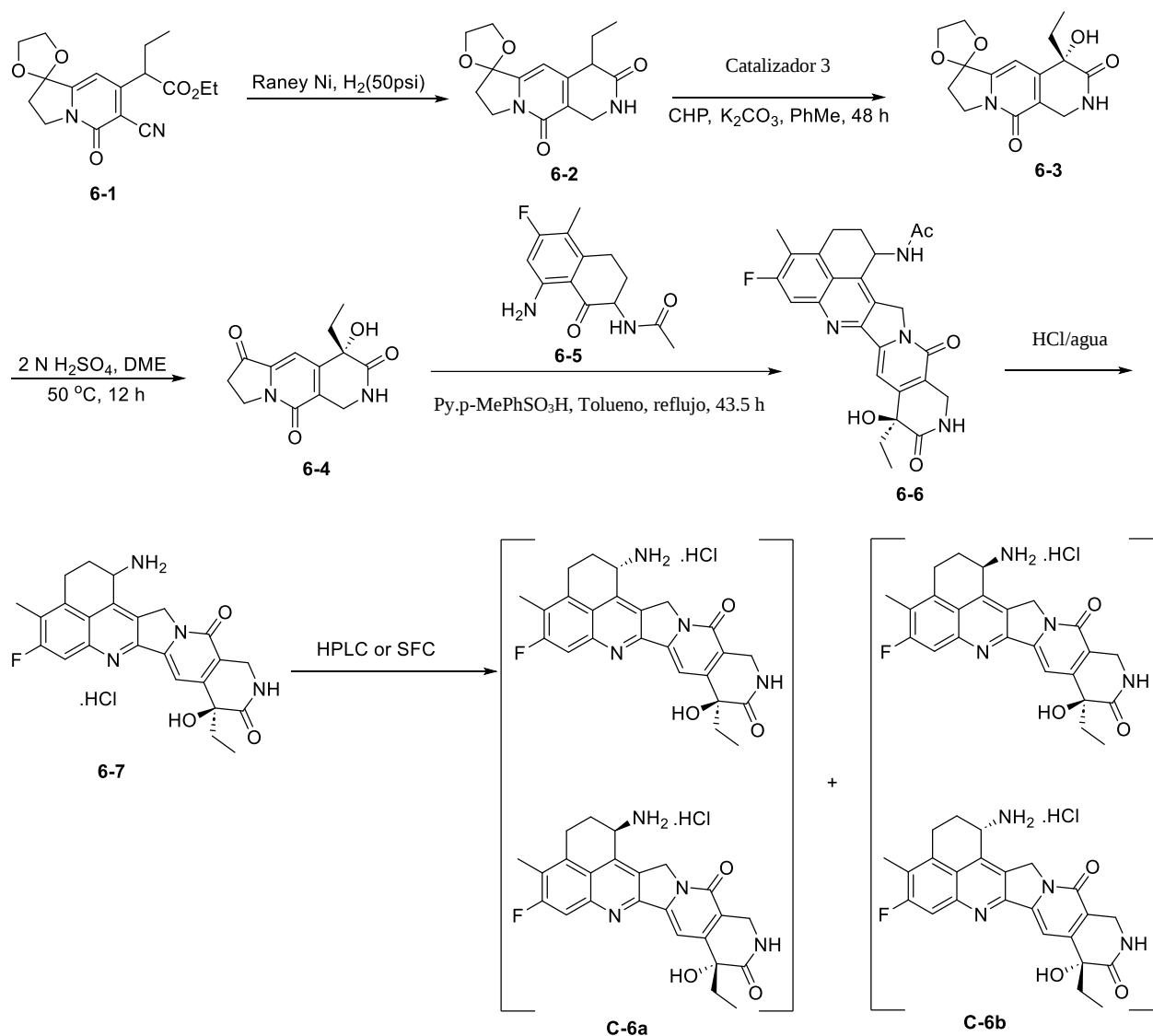
[0333] En un ambiente de N₂, una solución de Compuesto **5-7** (368 mg, 0,86 mmol), Compuesto **1-9** (202 mg, 0,86 mmol) y PPTS (43 mg, 0,17 mmol) en tolueno (9,0 mL) se calentó a 125 °C (temperatura externa) y se agitó bajo reflujo durante la noche. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró hasta la sequedad para obtener sólidos de color marrón rojizo, que se separaron aún más mediante cromatografía líquida preparatoria de alta resolución y se liofilizaron para obtener 52 mg de compuesto **5-8**. El rendimiento fue del 14%.

[0334] La preparación del Compuesto **C-5** (Compuestos **C-5a** y **C-5b**)

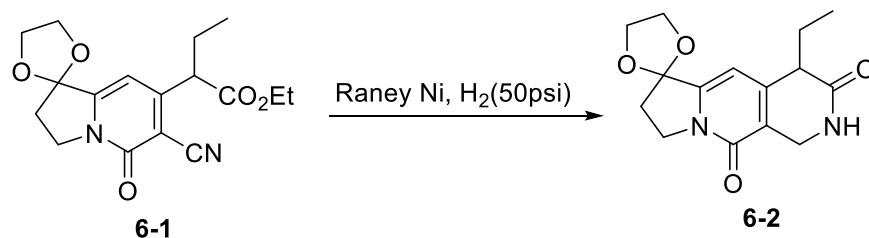


[0335] Se añadió dietilamina (1,0 mL) a una solución de compuesto **5-8** (52 mg, 0,08 mmol) en DCM (2,0 mL) a 0 °C. Una vez finalizada la reacción, la solución de reacción se concentró directamente hasta la sequedad y se separó aún más mediante cromatografía líquida preparatoria para obtener 4 mg de compuesto **C-5** como una mezcla de compuesto **C-5a** y compuesto **C-5b**. El rendimiento no se contabilizó. LCMS (m/z) = 436,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO): δ 7,86 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,46 (s, 2H), 5,30 (s, 2H), 3,89-3,85 (m, 1H), 3,52-3,50 (m, 2H), 3,27 – 3,20 (m, 1H), 3,12-3,09 (m, 1H), 2,46 (s, 1H), 2,41 (s, 2H), 1,96 – 1,81 (m, 2H), 0,90 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

Ejemplo 6: Síntesis de los compuestos C-6a y C-6b



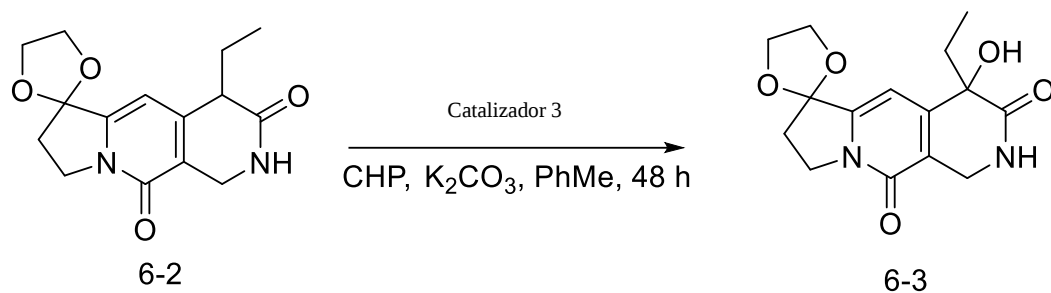
[0336] La preparación del Compuesto 6-2



[0337] En ambiente de N₂, a una solución de compuesto **6-1** (9,0 g, 27,1 mmol) en MeOH (450 mL), se añadió Ra-Ni (4,0 g). El sistema se reemplazó con H₂ tres veces, se calentó a 50 °C y se agitó durante 16

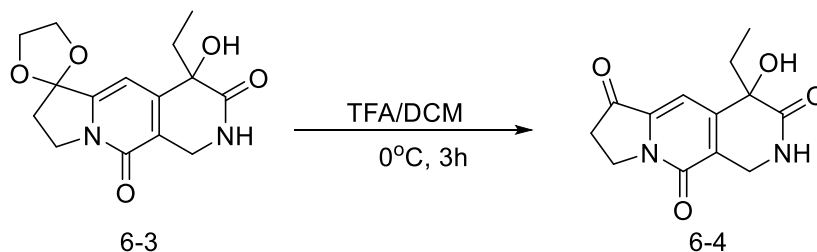
h. Después de que LCMS monitoreó la finalización de la reacción, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, se concentró y se purificó aún más mediante cromatografía en columna para obtener 6,7 g de compuesto **6-2**. El rendimiento fue del 85%.

[0338] La preparación del Compuesto **6-3**



[0339] En un entorno de N₂, a una solución de compuesto **6-2** (2,0 g, 6,9 mmol), HM-582B_24 (93 mg, 1,3 mmol) y K₂CO₃ (2,39 g, 17,3 mmol) en tolueno (120 mL), se añadió gota a gota CHP (hidroperóxido de cumeno, 2,1 g, 13,8 mmol, 2,0 eq), y la solución de reacción se agitó a 50 °C durante 24 h. CHP (hidroperóxido de cumeno, Se añadieron 2,1 g, 13,8 mmol, 2,0 eq) y se continuó agitando la solución de reacción a 50 °C durante 24 h. Se añadió CHP (hidroperóxido de cumeno, 2,1 g, 13,8 mmol, 2,0 eq) y se continuó agitando la solución de reacción a 50 °C durante 24 h. Después de que LCMS monitoreó la finalización de la reacción, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (200 mL) y se extrajo con EA (150 mL*3). La capa orgánica se lavó con Na₂SO₃ saturado (200 mL*3), se secó y concentró para obtener una mezcla de color marrón rojizo, y se separó aún más mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH= elución 50/1-10/1) para obtener un producto crudo del compuesto **6-3** (354 mg, Y 17%).

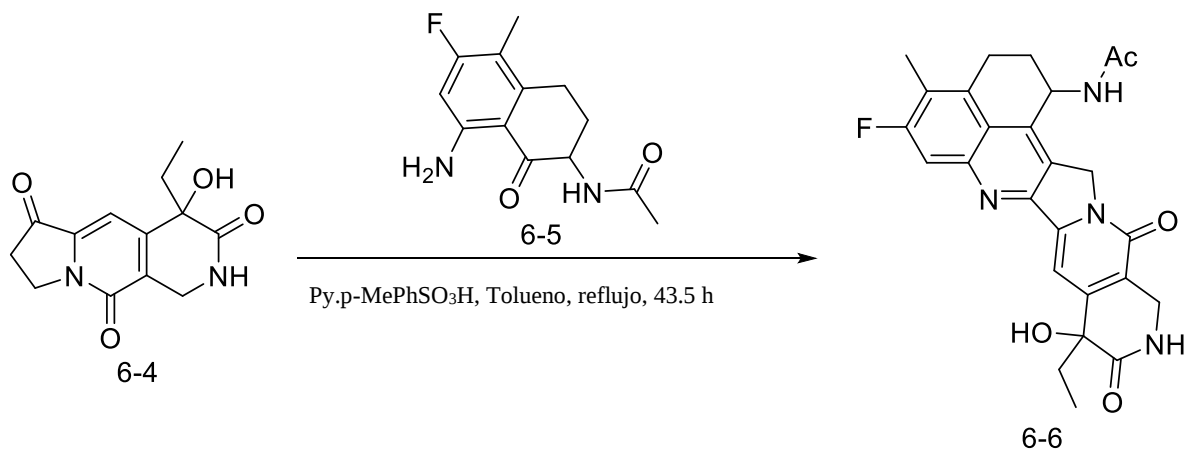
[0340] La preparación del Compuesto **6-4**



[0341] En un entorno de N₂, se añadió TFA (2,5 mL) gota a gota a una solución de compuesto **6-3** (354 mg, 1,16 mmol, 1,0 eq) en DCM (5 mL) a 0 °C. La solución de reacción se agitó a la misma temperatura

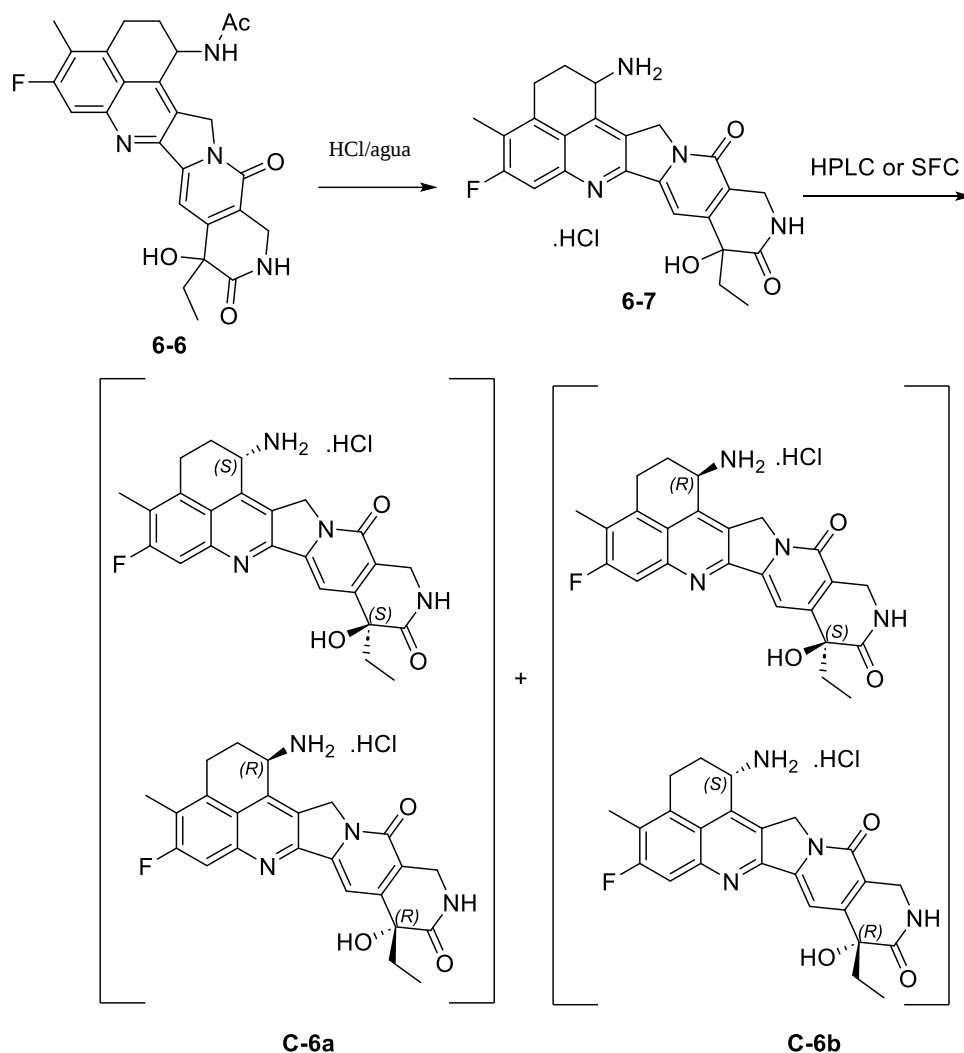
durante 3 h. Después de que LCMS monitoreó la finalización de la reacción, la solución de reacción se concentró y la mezcla marrón rojiza resultante se liofilizó a 0 °C para obtener el compuesto **6-4** (332 mg), que podría usarse directamente en el siguiente paso de la reacción.

[0342] La preparación del Compuesto **6-6**



[0343] En un ambiente de N₂, la solución de Compuesto **6-4** (332 mg, 1,27 mmol), Compuesto **6-5** (317 mg, 1,27 mmol) y PPTS (64 mg, 0,25 mmol) en tolueno (9,0 mL) se calentó a 125 °C (temperatura externa) y se agitó bajo reflujo durante la noche. Una vez completada la reacción, la solución de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se concentró hasta la sequedad para obtener sólidos de color marrón rojizo y se purificó aún más mediante cromatografía en columna para obtener 122 mg de compuesto **6-6** (el rendimiento fue del 26%), que se utilizó directamente en el siguiente paso de la reacción.

[0344] La preparación de los compuestos **6-7**, **C-6a** y **C-6b**

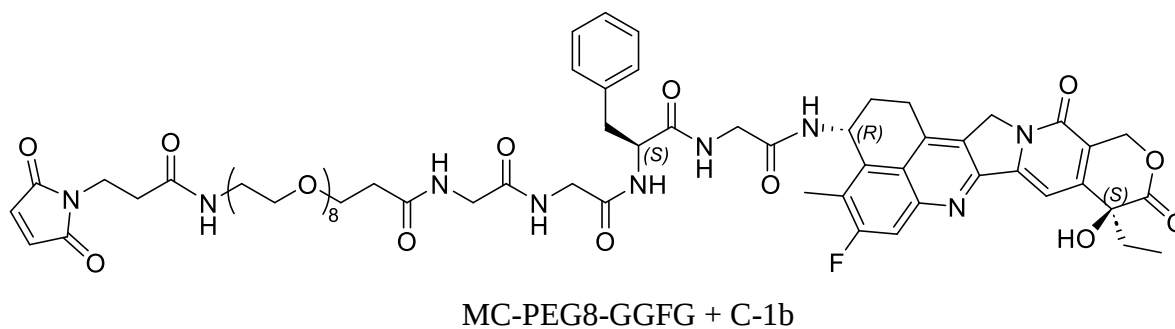


[0345] La solución del compuesto **6-6** (122 mg, 256 μmol) en solución diluida de HCl (6 M en agua, 5 mL) se calentó bajo reflujo durante 3 h. El LCMS monitoreó la finalización de la reacción. La solución de reacción se concentró directamente hasta la sequedad, y dos picos principales se separaron mediante cromatografía líquida preparativa. La solución preparatoria que contenía los productos se liofilizó para obtener P1 (C-6a, 7,2 mg) y P3 (C-6b, 8,1 mg), respectivamente.

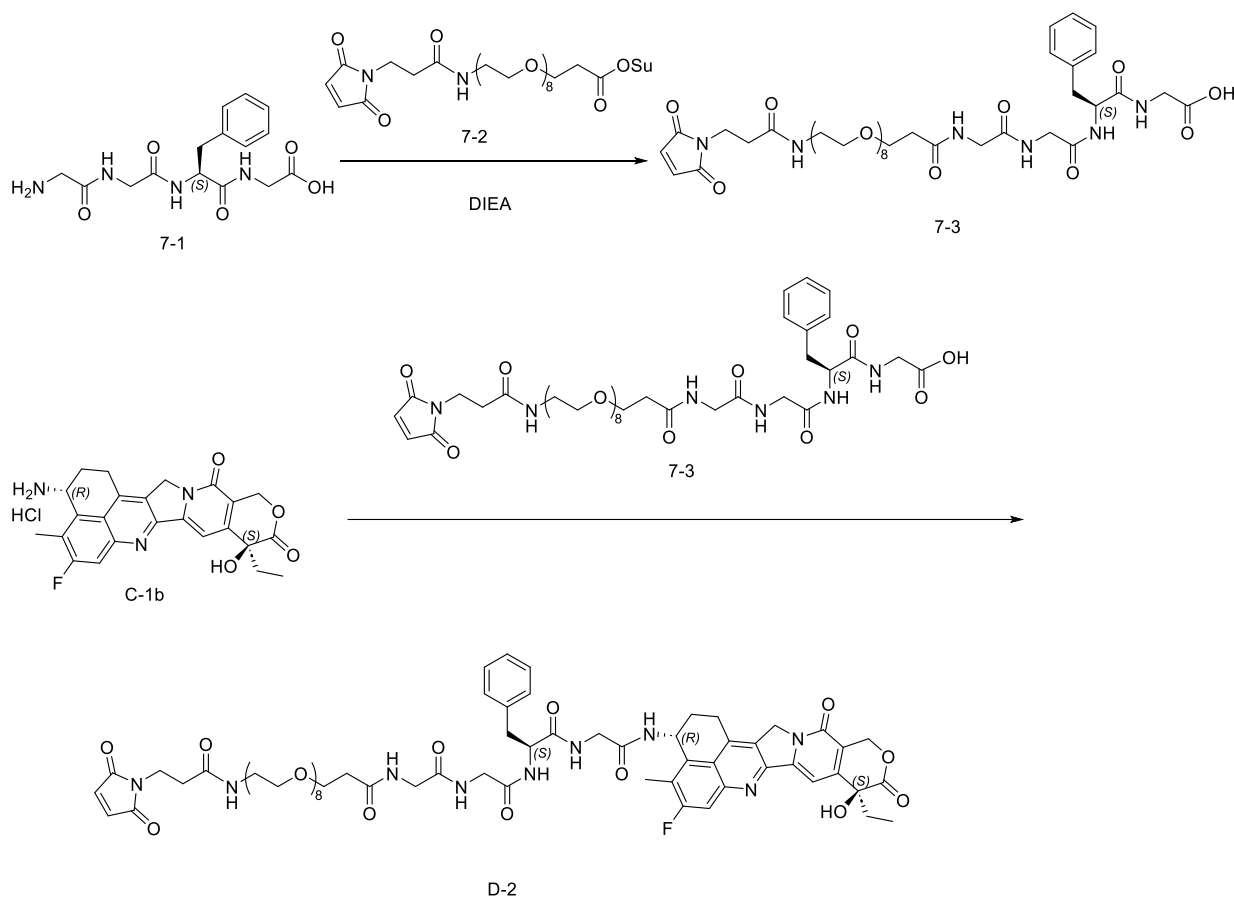
[0346] LCMS (m/z) = 435,2. RMN ^1H (400 MHz, MeOD) δ 7,79 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 5,50 (dd, J = 41,9, 18,8 Hz, 2H), 5,11 (s, 1H), 4,59 (d, J = 18,6 Hz, 1H), 4,31 (d, J = 18,6 Hz, 1H), 3,42 (d, J = 18,1 Hz, 1H), 3,18 (s, 1H), 2,62 (d, J = 12,7 Hz, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,41 (s, 1H), 2,00 – 1,85 (m, 2H), 0,93 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

[0347] LCMS (m/z) = 435,2. RMN ^1H (400 MHz, MeOD) δ 7,79 (d, J = 10,7 Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 5,51 (q, J = 18,8 Hz, 2H), 4,58 (d, J = 18,4 Hz, 1H), 4,31 (d, J = 18,6 Hz, 1H), 3,41 (s, 1H), 3,18 (s, 1H), 2,60 (s, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,41 (s, 1H), 1,99 – 1,85 (m, 2H), 0,92 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

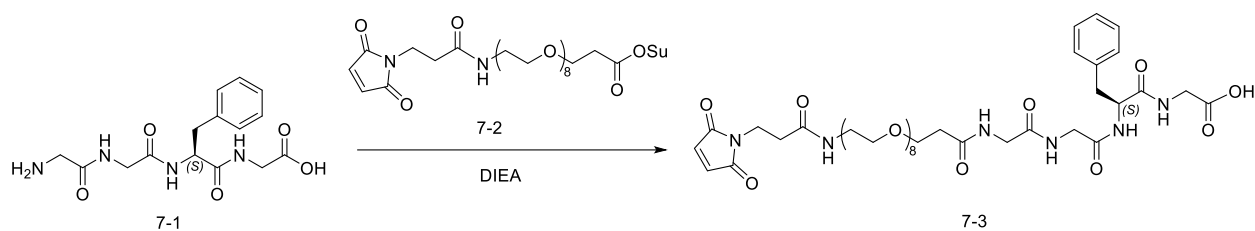
Ejemplo 7: Síntesis del compuesto D-2



[0348] El tema de la reacción:



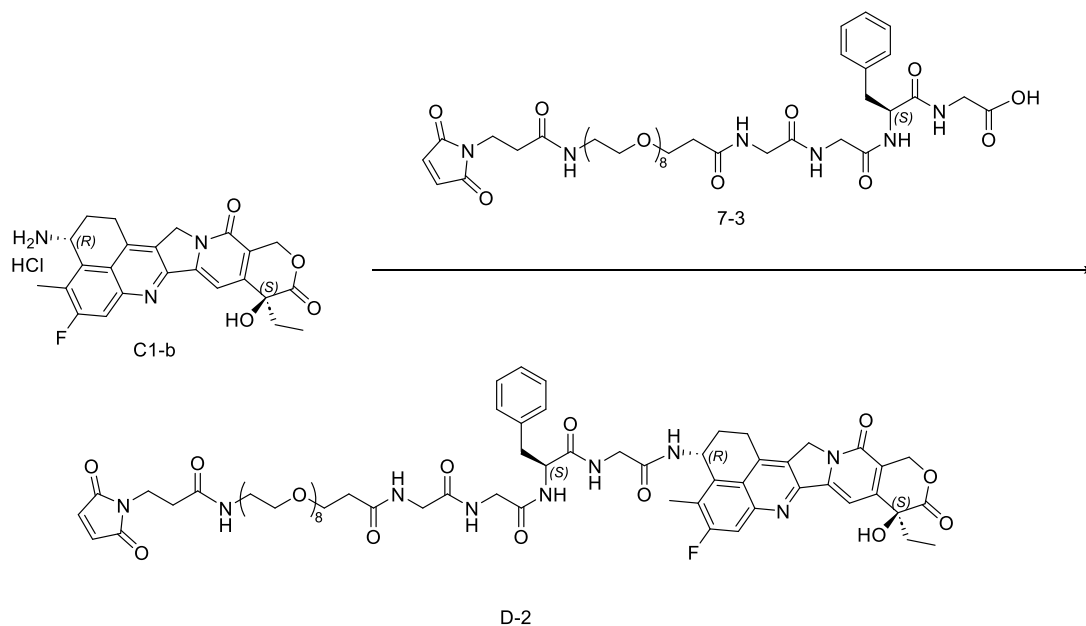
[0349] La preparación de 7-3:



[0350] El compuesto 7-2 (7 g, 10,16 mmol) y el compuesto 7-1 (3,41 g, 10,16 mmol) se disolvieron en DMF (70 mL), a los que se añadió DIPEA (3,93 g, 30,5 mmol). La reacción se llevó a cabo durante 1 hora a temperatura ambiente para obtener un producto viscoso claro y transparente (5 g, rendimiento: 54).

[0351] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% TFA) B: ACN (0,01%TFA); Gradiente: 5% a 95%B en 0,6 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 μ m A = RP = 517; Temperatura del horno: 45°C. MS (+) = 117; Rt = 0,91 min..

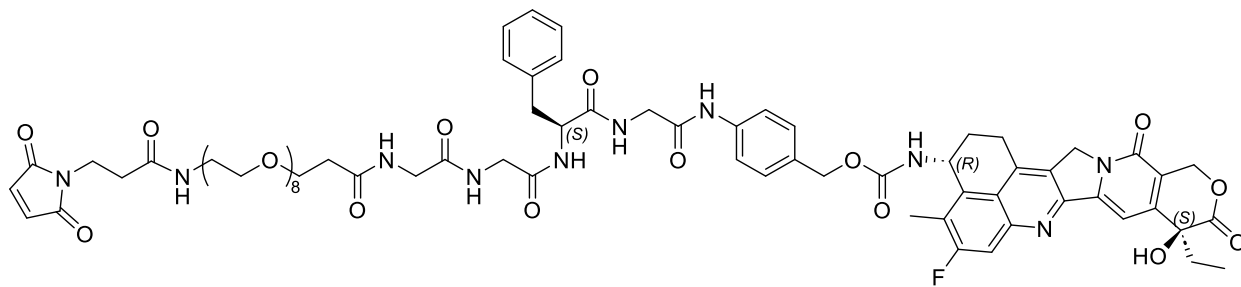
[0352] La preparación del Compuesto D-2:



[0353] El compuesto C1-b (2,6 g, 5,5 mmol) y el compuesto 7-3 (5 g, 5,5 mmol) se disolvieron en DMF (50 mL). A continuación, se añadieron DIC (1,4 g, 11 mmol), HOBT (1,5 g, 11 mmol) y DIPEA (709 mg, 5,5 mmol) a la reacción, que se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, para obtener el producto blanco D-2 (2,1 g, rendimiento: 28%).

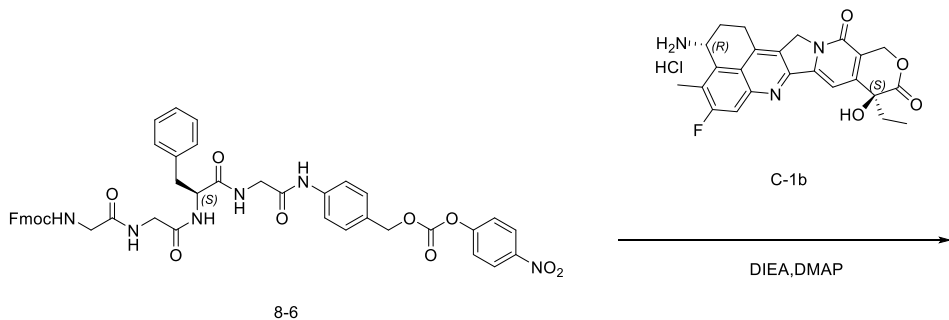
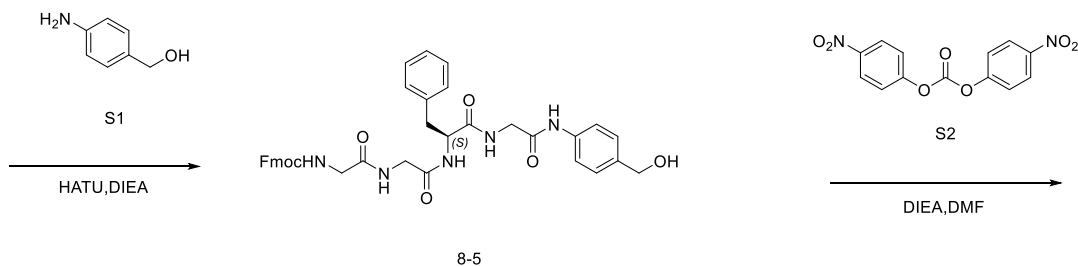
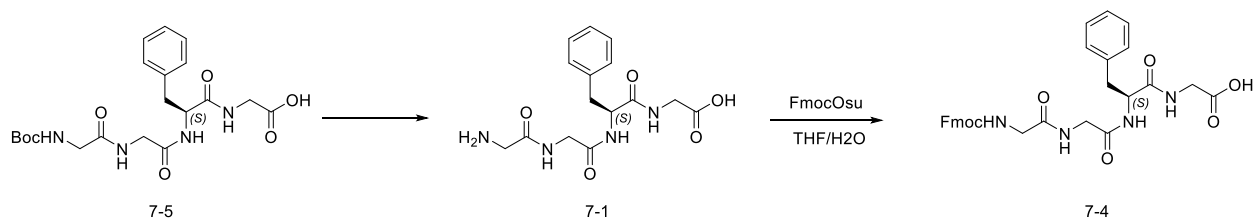
Temperatura del horno: 45°C. MS (+) = 117; Rt = 1.06 min.

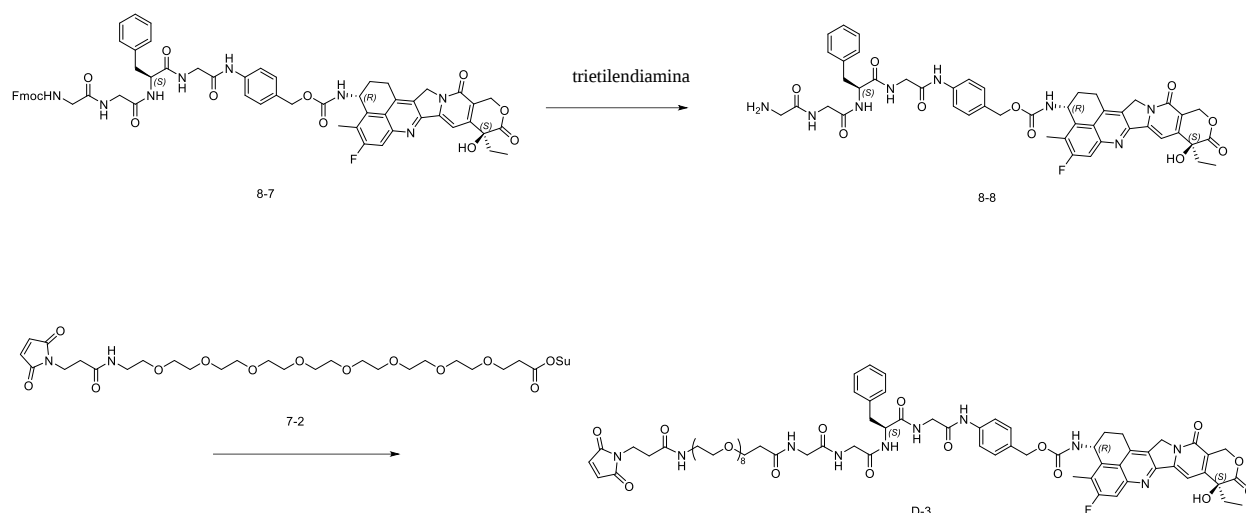
Ejemplo 8: Síntesis del compuesto D-3



MC-PEG8-GGFG-Pab + C-1b

[0355] El tema de la reacción:

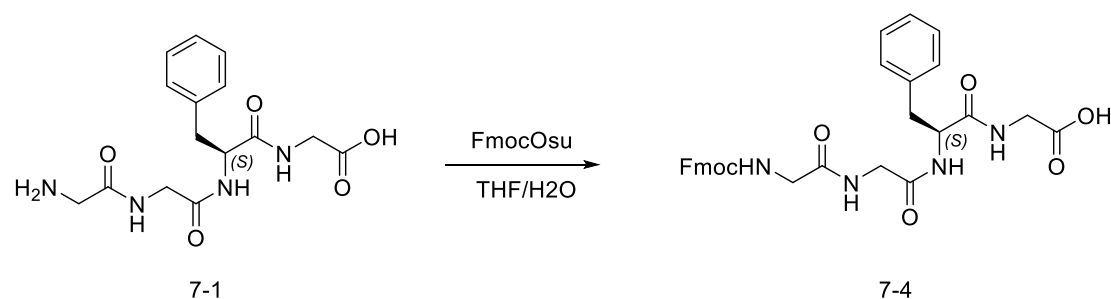




[0356] Se disolvieron 10 g de Compound 7-5 en 100 mL DCM/TFA (1:1), se agitaron durante 1 hora a temperatura ambiente y se centrifugaron para obtener el producto blanco 7-1 (11,5 g, rendimiento: 100%).

[0357] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% FA) B: ACN (0,01%FA); Gradiente: 5% a 95%B en 0,8 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 μ m; Temperatura del horno: 45°C. MS (+) = 337; Rt = 0,42 min.

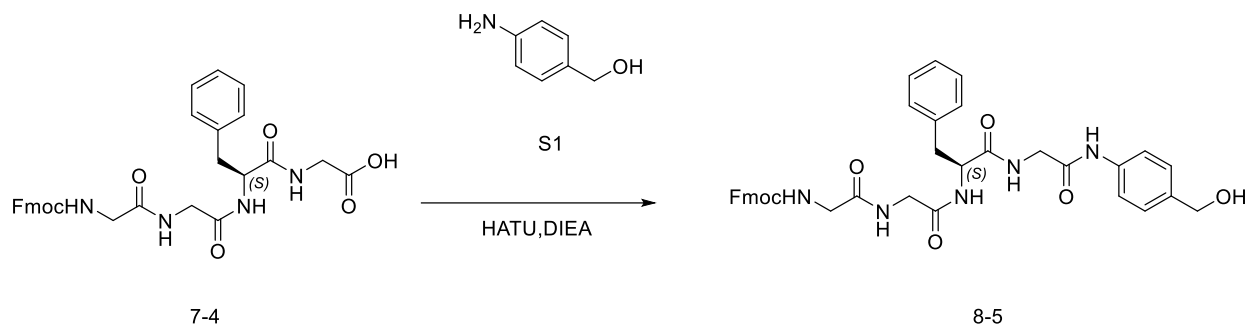
[0358] La preparación de 7-4:



[0359] El compuesto 7-1 (11,5 g, 34 mmol) y FmocOSu (17,3, 51 mmol) se disolvieron en THF/H₂O (120 mL, 1:1), a los que se añadió NaHCO₃ (5,75 g, 68 mmol). La reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente, y el pH se ajustó a <5 con HCl. Precipitado sólido blanco, el cual fue filtrado y secado para obtener producto final blanco (16.9 g, rendimiento: 88%).

[0360] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% FA) B: ACN (0,01%FA); Gradiente: 5% a 95%B en 0,8 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 μ m; Temperatura del horno: 45°C. MS (+) = 559; Rt = 1.00 min.

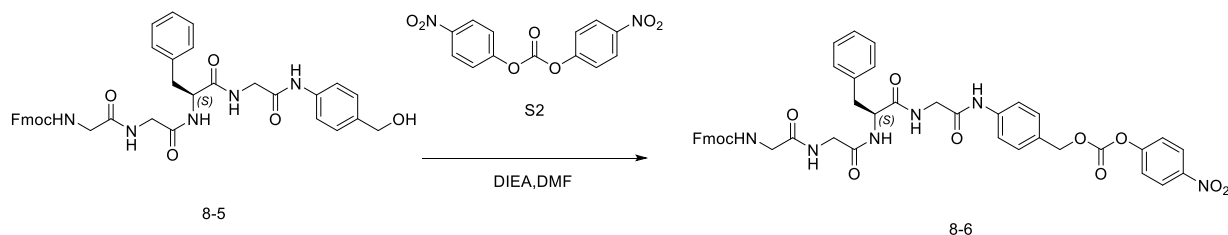
[0361] La preparación de 8-5:



[0362] Los compuestos 7-4 (16,8 g, 30 mmol) y S1 (alcohol 4-aminobencílico, 4,07 g, 33 mmol) se disolvieron en DMF (180 mL), a los que se añadieron HATU (14,9 g, 39 mmol) y DIPEA (9,7 g, 75 mmol). La reacción se llevó a cabo durante 2 horas a temperatura ambiente.

[0363] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% TFA) B: ACN (0,01%TFA); Gradiente: 5% a 95%B en 1,3 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 μ m; Temperatura del horno: 45°C. MS (+) = 646; Rt = 1.04 min.

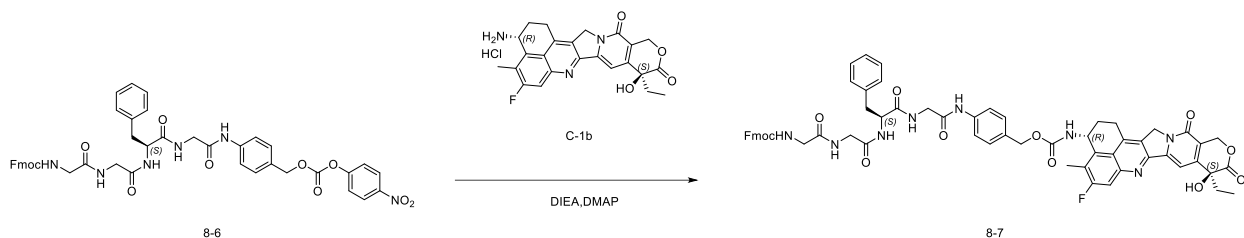
[0364] La preparación de 8-6:



[0365] Los compuestos 8-5 (6 g, 9 mmol) y S1 (bis (4-nitrofenil) carbonato, 4,13 g, 13,5 mmol) se disolvieron en DMF (60 mL), a los que se añadió DIPEA (3,5 g, 27 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 2 horas, y el producto final en blanco se obtuvo mediante purificación en fase reversa (4,16 g, rendimiento: 55%).

[0366] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% TFA) B: ACN (0,01%TFA); Gradiente: 5% a 95%B en 1,3 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 μ m; Temperatura del horno: 45°C. Rt = 1.23 min.

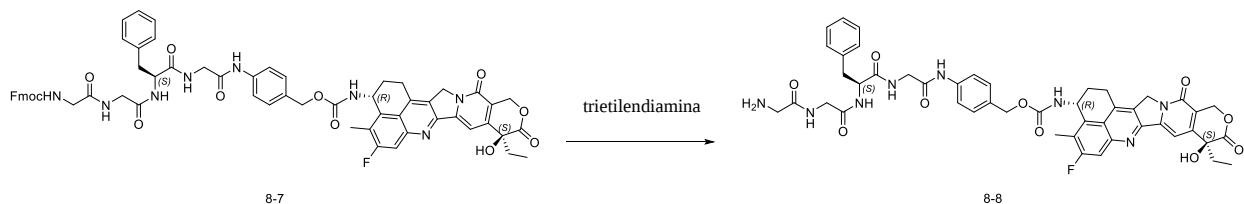
[0367] La preparación de 8-7:



[0368] El compuesto 8-6 (7 g, 8,45 mmol) y el compuesto C-1b (3,58 g, 7,6 mmol) se disolvieron en DMF (70 mL), a los que se añadieron HOBT (2,28 g, 16,9 mmol) y DIPEA (3,27 g, 25,3 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 1 hora, y luego se agregó al éter terciario metílico para precipitar el sólido blanco, que se secó para obtener un producto crudo de color marrón claro (7 g, rendimiento: 73%).

[0369] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% TFA) B: ACN (0,01%TFA); Gradiente: 5% a 95%B en 2.0 min; Caudal: 1,2 ml/min; Columna: Cetro C18-120, 3.0 * 33 mm, 3 µm; Temperatura del horno: 45°C. Rt = 1.57 min.

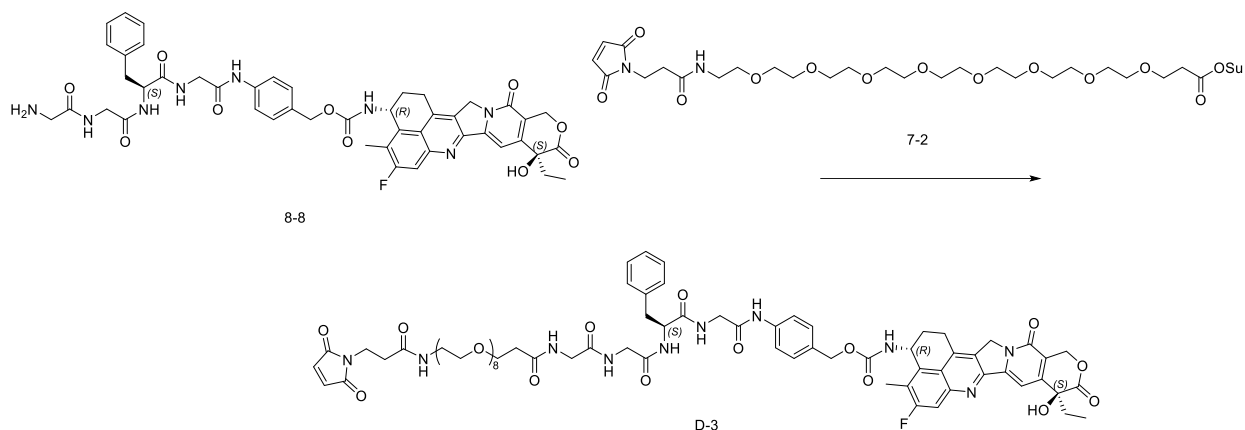
[0370] La preparación de 8-6:



[0371] El compuesto 8-7 se disolvió en DMF (70 mL) y se añadió trietildiamina (1,4 g, 12,45 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 2 horas, y el producto final en blanco se obtuvo mediante purificación en fase reversa (3,65 g, rendimiento: 65%).

[0372] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% TFA) B: ACN (0,01%TFA); Gradiente: 5% a 95%B en 1,3 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 µm; Temperatura del horno: 45°C. Rt = 0,93 min.

[0373] La preparación de D-3:



[0374] Los compuestos 8-8 (3,65 g, 4 mmol) y 7-2 (3,07 g, 4,45 mmol) se disolvieron en DMF (40 mL), a los que se añadió DIPEA (522 mg, 4 mmol). La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 0,5 horas, y el producto final en blanco se obtuvo mediante purificación en fase reversa (3,1 g, rendimiento: 52%).

[0375] LCMS: Fase móvil: A: agua (0,01% TFA) B: ACN (0,01%TFA); Gradiente: 5% a 95%B en 1,3 min; Caudal: 0,8 ml/min; Columna: Poroshell 120 EC-C18, 2,1 * 50 mm, 1,9 μ m; Temperatura del horno: 45°C. MS (+) = 84; Rt = 1.01 min.

Ensayos biológicos

Ejemplo 1. Pruebas de citotoxicidad de compuestos

[0376] En este ejemplo se probó la capacidad de cuatro de los compuestos para inducir citotoxicidad. Las moléculas fueron los compuestos C-2a, C-2b, C-6a y C-6b. Se utilizaron como referencias de referencia MMAE y DXD (derivado exatecan de ADC).

[0377] Las células HT-29 (cáncer colorrectal) y MDA-MB-468 (TNBC) se cosecharon y sembraron con 3000 células por pocillo en placas de cultivo celular de 96 pocillos, respectivamente. A continuación, se incubaron a 37 °C, 5% de CO₂ durante toda la noche. Cada compuesto se diluyó 3 veces a partir de 500 nM y se agregó a cada pocillo respectivamente. Después de 5 días, se añadieron 30 μ L de tampón luminiscente Glo a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La señal de luminiscencia fue detectada por el lector de microplacas Envision.

[0378] Los resultados se muestran en la **Tabla 1**. Como se muestra, MMAE, DXD, C-2a y C-2b inhibieron la proliferación celular de manera dependiente de la concentración.

Tabla 1. Resultados de las pruebas de citotoxicidad

Compuesto		MMAE	DXD	C-2a	C-2b	C-6A	C-6B
HT29	IC ₅₀	~ 0.5	25.2	5.7	5.6	NA	NA
	Viabilidad celular mínima	21.3	4.0	4.6	1.9	130.0	101.4
MDA-MB-468	IC ₅₀	0.1	3.2	1.6	1.0	NA	NA
	Viabilidad celular mínima	4.6	1.2	0.9	0.9	15.4	58.9

[0379] En una segunda ronda de pruebas, se probaron C-2a y C-2b, junto con otros 6 compuestos (C-1a, C-1b, C-3a, C-3b, C-5a y C-4a) con las mismas líneas celulares más A549, una línea celular de NSCLC. Los resultados se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Resultados de la segunda ronda de pruebas de citotoxicidad

Compuesto		MMAE	DXD	C-2a	C-2b	C-1a	C-1b	C-3a	C-3b	C-5a	C-4A
HT29	IC ₅₀	1.1	105	40.1	~ 52.7	21.1	18.5	76.6	NA	26.57	NA
	Viabilidad celular mínima	35.5	11.4	4.8	3.7	7.7	4.0	5.1	14.6	4.4	99.4
MDA-MB-468	IC ₅₀	0.3	4.2	5.6	5.2	3.6	3.1	8.8	17.6	2.4	114.7
	Viabilidad celular mínima	6.3	4.1	3.7	2.9	3.0	2.3	3.3	3.7	2.4	8.3
A549	IC ₅₀	2.0	125.7	18.9	24.2	16.6	13.7	36.6	113.6	22.0	NA
	Viabilidad celular mínima	30.8	28.4	19.7	23.6	20.3	14.5	23.8	30.6	19.4	83.0

[0380] Todos los compuestos probados inhibieron la proliferación celular de manera dependiente de la concentración.

Ejemplo 2. Unión de ADCs HER2 con células HER2 positivas y negativas humanas

[0381] La unión celular de los conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-1, ADC-2, ADC-3, ADC-4 y ADC-5) a las células tumorales se evaluó mediante el método de citometría de flujo (todos los ADC-1 a ADC-5 incluyeron trastuzumab como antígeno). Brevemente, las células NCI-N87, SK-BR-3, BT-474, JIMT-1 y MDA-MB-468 se incubaron con conjugados anticuerpo-fármaco titulados (de 100 nM, dilución de 5 pliegues, 8 puntos) a 4 °C durante 60 minutos. A continuación, las células se lavaron dos veces con tampón FACS y se tiñeron con un anticuerpo secundario conjugado fluorescente (Alexa Fluor® 647 Goat Anti-Human IgG, Jackson, 109-605-098) a 4 °C durante 60 minutos. Después de eso, las células se lavaron dos veces y se analizaron mediante citometría de flujo.

[0382] Como se ha visto en las FIG. 1A-1E, todos los conjugados de anticuerpos-fármacos (Trastuzumab-DXd, ADC-1, ADC-2, ADC-3, ADC-4 y ADC-5) podrían unirse eficazmente a las células tumorales humanas que expresan Her2 de forma dependiente de la dosis.

	NCI-N87		SK-BR-3		BT-474	
Muestra	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)
Trastuzumab-DXd	2.961	276178	3.021	220188	4.894	161192
ADC-1	3.382	278250	3.005	223969	5.296	163364
ADC-2	3.046	281146	2.773	228856	5.078	167755
ADC-3	3.528	225645	3.567	185789	5.758	143435
ADC-4	3.141	232610	2.785	198090	4.292	149506
ADC-5	4.994	201273	5.201	164088	9.016	131907
Isotipo-DXd	N.D.	119	N.D.	133	N.D.	121

	JIMT-1		MDA-MB-468	
Muestra	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)
Trastuzumab-DXd	1.623	31787	N.D.	115
ADC-1	1.743	31703	N.D.	115
ADC-2	1.461	32081	N.D.	116
ADC-3	1.971	29573	N.D.	115
ADC-4	1.123	29765	N.D.	150
ADC-5	4.308	26472	N.D.	124
Isotipo-DXd	N.D.	136	N.D.	123

Ejemplo 3. Unión de ADC-3 con una relación fármaco-anticuerpo 4 (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) a células humanas HER2 positivas y negativas

[0383] Se evaluó la unión celular de conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-2, ADC-3-4 (DAR4), ADC-3-6 (DAR6) y ADC-3-8 (DAR8)) a las células tumorales mediante el método de citometría de flujo. Brevemente, las células NCI-N87, SK-BR-3, BT-474, JIMT-1, MDA-MB-231 y MDA-MB-468 se incubaron con conjugados anticuerpo-fármaco titulados (de 100 nM, dilución de 5 pliegues, 8 puntos) a 4 °C durante 60 minutos. A continuación, las células se lavaron con tampón FACS dos veces y se tiñeron con anticuerpo secundario conjugado fluorescente (Alexa Fluor® 647 Goat Anti-Human IgG, Jackson, 109-605-098) a 4 °C durante 60 minutos. Después de eso, las células se lavaron dos veces y se analizaron mediante citometría de flujo.

[0384] Como se ha visto en los FIGs. 2A-2F, todos los conjugados de anticuerpos-fármacos (Trastuzumab-DXd, ADC-2, ADC-3-4 (DAR4), ADC-3-6 (DAR6) y ADC-3-8 (DAR8)) podrían unirse eficazmente a las células tumorales humanas que expresan Her2 de forma dependiente de la dosis.

	NCI-N87		SK-BR-3		BT-474	
Muestra	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)
Trastuzumab-DXd	3.425	215714	4.621	185879	2.813	174842
Isotipo-DXd	N.D.	561	N.D.	161	N.D.	179
ADC-2	3.33	221679	4.232	190683	3.114	183723
ADC-3-8	4.001	180484	5.593	162056	3.624	153643
ADC-3-4	3.141	203221	4.474	183087	2.807	170486
ADC-3-6	3.729	199957	4.781	172890	3.34	162486

	JIMT-1		MDA-MB-231		MDA-MB-468	
Muestra	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)	EC50(nM)	Máx. (MFI)
Trastuzumab-DXd	1.347	31720	1.575	2913	N.D.	146
Isotipo-DXd	N.D.	193	N.D.	143	N.D.	150
ADC-2	1.383	32549	1.521	2936	N.D.	147
ADC-3-8	1.897	29804	2.112	2819	N.D.	153
ADC-3-4	1.387	30625	1.31	2811	N.D.	156
ADC-3-6	1.592	29546	1.659	2776	N.D.	157

Ejemplo 4. Citotoxicidad de los ADCs de HER2 en células humanas positivas y negativas de HER2

[0385] La citotoxicidad de los conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-1, ADC-2, ADC-3, ADC-4 y ADC-5) para las células tumorales humanas que expresan Her2 se evaluó mediante el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo (Promega, G7573). Brevemente, las células NCI-N87, SK-BR-3, BT-474, JIMT-1 y MDA-MB-468 se incubaron con conjugados anticuerpo-fármaco titulados (de 100 nM, dilución de 5 pliegues, 9 puntos) en placas de 96 pocillos a 37 °C de incubadora de células durante 6 días. La viabilidad de la célula se evaluó utilizando el kit CellTiter-Glo (Promega, G7573), siguiendo las instrucciones del fabricante.

[0386] Como se observó en las FIGs 3A-3E, las células SK-BR-3 fueron más sensibles a todos los conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-1, ADC-2, ADC-3, ADC-4 y ADC-5) que otras células tumorales, y ADC-1 mostró la mayor *capacidad antitumoral in vitro*. En las células NCI-

N87, SK-BR-3 y BT-474, la actividad antitumoral de ADC-1 fue aproximadamente 3 veces mayor que la de Trastuzumab-DXd.

	NCI-N87		SK-BR-3		BT-474	
Muestra	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)
Trastuzumab-DXd	0.246	20.5	0.075	12.9	0.059	43.4
ADC-1	0.077	12.6	0.020	9.0	0.015	34.5
ADC-2	0.105	14.6	0.046	11.0	0.030	45.9
ADC-3	0.135	34.8	0.079	18.1	0.178	57.8
ADC-4	0.608	36.2	0.199	29.6	0.168	68.6
ADC-5	N.D.	70.1	0.255	46.4	N.D.	95.2
Isotipo-DXd	N.D.	87.7	N.D.	96.2	N.D.	80.7

	JIMT-1		MDA-MB-468	
Muestra	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)
Trastuzumab-DXd	N.A.	95.3	N.A.	70.4
ADC-1	0.352	59.6	N.A.	86.7
ADC-2	0.168	64.2	N.A.	97.3
ADC-3	N.A.	69.6	N.A.	33.0
ADC-4	N.A.	96.0	N.A.	96.9
ADC-5	N.A.	92.3	N.A.	31.5
Isotipo-DXd	N.A.	99.3	N.A.	57.5

Ejemplo 5. Citotoxicidad de ADC-3 con relación fármaco/anticuerpo (ADC-3-4), 6 (ADC-3-6) y 8 (ADC-3-8) en células humanas HER2 positivas y negativas

[0387] La citotoxicidad de los conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-2, ADC-3-4 (DAR4), ADC-3-6 (DAR6) y ADC-3-8 (DAR8)) para las células tumorales humanas que expresan Her2 se evaluó mediante el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo (Promega, G7573). En resumen, las células NCI-N87, SK-BR-3, BT-474, JIMT-1, MDA-MB-231 y MDA-MB-468 se incubaron con conjugados anticuerpo-fármaco titulados (de 100 nM, dilución de 5 pliegues, 9 puntos) en placas de 96 pocillos a 37 °C en incubadora de células durante 6 días. La viabilidad de la célula se evaluó utilizando el kit CellTiter-Glo (Promega, G7573), siguiendo las instrucciones del fabricante.

[0388] Como se observó en las FIGs 4A-4F, las células SK-BR-3 fueron más sensibles a todos los conjugados de anticuerpos-fármacos (Trastuzumab-DXd, ADC-1, ADC-2, ADC-3-4, ADC-3-6, ADC-3-

8, ADC-4 y ADC-5) que otras células tumorales, y ADC-2 mostró una *capacidad antitumoral* in vitro superior.

	NCI-N87		SK-BR-3		BT-474	
Muestra	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)
Trastuzumab-DXd	0.2852	32.2	0.08948	17.6	0.05995	55.9
Isotipo-DXd	N.D.	89.3	N.D.	92.9	N.D.	103.2
ADC-2	0.1472	20.1	0.06765	17.9	0.0344	48.2
ADC-3-8	0.1722	38.7	0.07956	22.0	0.243	57.1
ADC-3-4	0.441	41.2	0.181	29.0	N.D.	76.4
ADC-3-6	0.3747	39.5	0.1041	23.9	1.073	57.0

	JIMT-1		MDA-MB-231		MDA-MB-468	
Muestra	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)	IC50(nM)	Viabilidad mínima de la célula (%)
Trastuzumab-DXd	N.D.	91.9	N.D.	94.5	N.D.	85.5
Isotipo-DXd	N.D.	95.8	N.D.	85.5	N.D.	65.1
ADC-2	0.2134	46.6	N.D.	95.3	N.D.	106.6
ADC-3-8	N.D.	50.5	N.D.	54.4	N.D.	14.3
ADC-3-4	N.D.	81.6	N.D.	89.3	N.D.	70.1
ADC-3-6	N.D.	59.7	N.D.	74.0	N.D.	28.5

Ejemplo 6. Efecto eliminatorio de los ADC HER2 en las células MDA-MB-468 humanas HER2 negativas

[0389] Se evaluó el efecto destructor de los conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-1, ADC-2 y ADC-3) en células tumorales humanas Her2 negativas (MDA-MB-468) mediante el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo (Promega, G7573). Brevemente, las células SK-BR-3 (5000 células/pocillo) se incubaron con conjugados anticuerpo-fármaco titulados (de 100 nM, dilución de 5 pliegues, 9 puntos) en placas de 96 pocillos a 37 °C de incubadora de células durante 6 días. A continuación, el sobrenadante del cultivo celular se transfirió al cultivo celular MDA-MB-468 (2000 células/pocillo) para otra incubación de 6 días. La viabilidad de la célula se evaluó utilizando el kit CellTiter-Glo (Promega, G7573), siguiendo las instrucciones del fabricante.

[0390] Como se muestra en las figuras 5A y 5B, ADC-1 y ADC-2 tuvieron una citotoxicidad más potente contra las células SK-BR-3 diana que el trastuzumab-DXd (T-DXd), y todos los ADC-1, ADC-2

y ADC-3 mostraron menos efectos transeúntes que el trastuzumab-DXd. En particular, ADC-1 tuvo el rendimiento más sobresaliente en ambas líneas celulares.

Ejemplo 7. Efecto espectador de ADC-3 con relación fármaco-anticuerpo 4, 6, 8 (DAR 4, 6, 8) en células MDA-MB-468 humanas HER2 negativas

[0391] Se evaluó el efecto destructor de los transeúntes de los conjugados anticuerpo-fármaco (Trastuzumab-DXd, ADC-2, ADC-3 (DAR4), ADC-3 (DAR6), ADC-3 (DAR8)) a las células tumorales Her2 negativas humanas (MDA-MB-468) y a las células tumorales humanas de baja expresión Her2 (MDA-MB-231) mediante el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo (Promega, G7573). Brevemente, las células SK-BR-3 (5000 células/pocillo) se incubaron con conjugados anticuerpo-fármaco titulados (de 100 nM, dilución de 5 veces, 9 puntos) en placas de 96 pocillos a 37 °C de incubadora de células durante 6 días. A continuación, el sobrenadante del cultivo celular se transfirió al cultivo celular MDA-MB-468 (2000 células/pocillo) para otra incubación de 6 días. La viabilidad de la célula se evaluó utilizando un kit CellTiter-Glo (Promega, G7573), siguiendo las instrucciones del fabricante.

[0392] Como se observó en las figuras 6A y 6B, ADC-2 tuvo una citotoxicidad dirigida más fuerte y efectos transeúntes más leves que Trastuzumab-DXd, mientras que ADC-3, en diferentes DAR, fue tan bueno como Trastuzumab-DXd en ambos experimentos.

Ejemplo 8. Comparación de la carga útil en el modo JIMT-1 CDX - Vinculado con Trastuzumab

[0393] Los ratones NOG fueron inoculados con 8 millones de células JIMT-1 por cada individuo. Cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 100 mm³, se administraron inyecciones intravenosas de trastuzumab-DXd y ADC-2 una vez por semana durante un total de tres semanas. El tamaño de los tumores se midió tres veces por semana.

[0394] Como se observa en la FIG. 7, las moléculas de ADC probadas tuvieron efectos antitumorales *in vivo* similares, a pesar de que, en una de las pruebas, se utilizó ADC-2 (6mpk) a una dosis más baja que Trastuzumab-DXd (10 mpk).

* * *

[0395] La presente divulgación no debe estar limitada en su alcance por las realizaciones específicas descritas que pretenden ser ilustraciones únicas de aspectos individuales de la divulgación, y cualquier composición o método que sea funcionalmente equivalente está dentro del alcance de esta divulgación.

Será evidente para los expertos en la materia que se pueden hacer varias modificaciones y variaciones en los métodos y composiciones de la presente divulgación sin apartarse del espíritu o alcance de la misma. Por lo tanto, se pretende que la presente divulgación abarque las modificaciones y variaciones de esta divulgación, siempre que entren en el ámbito de las reclamaciones adjuntas y sus equivalentes.

[0396] Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en esta descripción se incorporan aquí por referencia en la misma medida en que si cada publicación individual o solicitud de patente se indicara específica e individualmente que se incorporaría por referencia.