

ENLAZADORES-CARGAS ÚTILES DE AURISTATINA, COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS, Y USOS DE LOS MISMOS

REFERENCIA CRUZADA A OTRAS SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud internacional se beneficia de la reivindicación de prioridad de la solicitud provisional de los EE. UU. número 63/432,470, presentada el 14 de diciembre de 2022, y a la solicitud provisional de EE. UU. número 63/497,887, presentada el 24 de abril de 2023, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por su totalidad.

ANTECEDENTES DE LA DIVULGACIÓN

[0002] El conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) es una modalidad terapéutica que consiste en un anticuerpo monoclonal unido a cargas útiles citotóxicas y ha propiciado avances significativos como vehículo de transporte que reconoce y se une a una proteína antigénica expresada en tejidos tumorales. El suministro y la liberación localizadas de la carga útil dentro o cerca de las células malignas permite el suministro selectivo de un potente agente citotóxico al tejido enfermo, a la vez que reduce el daño a los tejidos normales. El componente enlazador de los ADC es una característica importante a la hora de desarrollar agentes terapéuticos optimizados que son muy activos a dosis bien toleradas (véanse los documentos WO2021055865, WO2018025168 y US20130309256).

[0003] Sigue habiendo necesidad de enlazadores-cargas útiles de citotoxinas útiles para la conjugación a anticuerpos u otros restos de direccionamiento para generar conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC) u otros conjugados con ligandos de direccionamiento, especialmente para indicaciones oncológicas.

SUMARIO DE LA DIVULGACIÓN

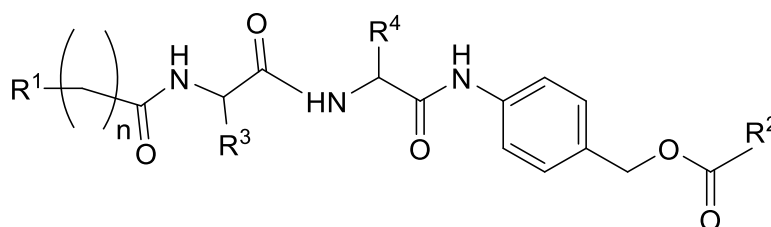
[0004] La presente divulgación proporciona enlazadores y enlazadores-cargas útiles con utilidad para la conjugación a anticuerpos u otros restos de direccionamiento para generar conjugados de ligando-fármaco (p. ej., ADC), útiles para oncología y otras indicaciones. Concretamente, se divulgan estructuras de enlazador-carga útil novedosas que contienen una maleimida o una piridil sulfona unida a un dipéptido enlazador escindible y una conexión de carbamato de p-aminobencilo (PABC) a una carga útil citotóxica (fármaco), tal como monometilauristatina E (MMAE), monometilauristatina F (MMAF), u otras cargas útiles

citotóxicas, como se divulga en el presente documento. La utilidad de estos enlazadores-cargas útiles se demuestra mediante conjugación a restos de cisteína en un ligando (p. ej., anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo), obteniéndose conjugados de ligando-fármaco (p. ej., ADC), que muestran propiedades fisicoquímicas favorables y una elevada potencia mediada por la diana. Los enlazadores-cargas útiles se utilizan para proporcionar conjugados de ligando-fármaco potentes y novedosos activos entre diversas líneas celulares de cáncer y demuestran una amplia utilidad para conjugarlos a diversos anticuerpos u otros restos de direccionamiento, a la vez que conservan unas propiedades favorables y la eficacia. Por tanto, un aspecto de la presente divulgación son candidatos de ligando-fármaco que tienen secuencias de dipéptido enlazador que proporcionan una exposición mejorada del compuesto citotóxico libre liberado en el tejido tumoral comparado con el tejido normal y por tanto una entrada selectiva en las células diana y una exposición reducida al compuesto citotóxico en el tejido normal en comparación con el tejido tumoral.

[0005] Algunos compuestos de enlazador-carga útil ilustrativos incluyen, pero sin limitación, las estructuras mostradas a lo largo de la presente divulgación. También se describen conjugados de enlazador-fármaco (p. ej., ADC) ilustrativos formados utilizando los enlazadores-cargas útiles descritos en el presente documento. Otras realizaciones, aspectos y características de la presente divulgación se describen con más detalle en, o serán evidentes a partir de, la siguiente descripción, los ejemplos y las reivindicaciones adjuntas.

[0006] En cada una de las realizaciones descritas en el presente documento, cada variable se selecciona independientemente de las otras, a menos que se indique lo contrario.

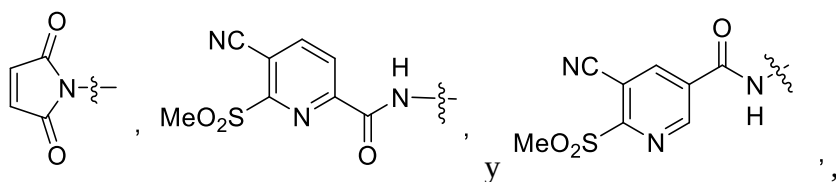
[0007] En una realización, la presente divulgación proporciona un dipéptido enlazador-carga útil (fármaco) y sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende una estructura de fórmula I:



Fórmula I

en donde:

R¹ se selecciona entre:



~~~~ la línea ondulada indica el sitio de unión covalente;

R<sup>2</sup> es un fármaco citotóxico;

R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representan independientemente alquilo C<sub>1-3</sub> o una cadena lateral de aminoácido de origen natural o no natural; y

n es un número entero de 1 a 4.

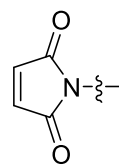
**[0008]** Una realización de fórmula I se representa cuando n es 1.

**[0009]** Una realización de fórmula I se representa cuando n es 2.

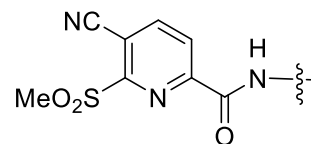
**[0010]** Una realización de fórmula I se representa cuando n es 3.

**[0011]** Una realización de fórmula I se representa cuando n es 4.

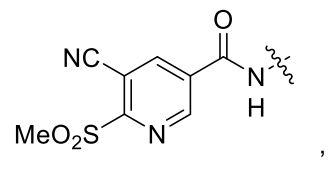
**[0012]** Una realización de fórmula I se representa cuando R<sup>1</sup> es



**[0013]** Otra realización de fórmula I se representa cuando R<sup>1</sup> es



**[0014]** Otra realización de fórmula I se representa cuando R<sup>1</sup> es



**[0015]** Otra realización de fórmula I se representa cuando R<sup>2</sup> es un fármaco o carga útil citotóxica seleccionada entre antraciclinas, auristatinas, camptotecinas, duocarmicinas, etopósidos, maitansinoides, dímeros de pirrolobenzodiazepina, compuestos de unión al surco menor del ADN, taxanos, alcaloides de la vinca, enediínas, antitubulinas y alcaloides de la vinca. Una subrealización de este aspecto de la divulgación se representa cuando R<sup>2</sup> se selecciona entre

auristatina T, auristatina E, auristatina F, fenilenodiamina, AEB, AEVB, monometil auristatina F (MMAF), monometil auristatina F lipófila, monometil auristatina E (MMAE), lexitropsinas, duocarmicinas, paclitaxel y docetaxel, T67 (Tularik), vincristina, vinblastina, vindesina, vinorelbina, inhibidores de nicotinamida fosforibosiltransferasa (NAMPTi), tubulisina M, doxorubicina, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, melfalán, metotrexato, mitomicina C, etopósido, análogo de CC-1065, calicheamicina, maitansina, un análogo de dolastatina 10, rizoxina, palitoxina, derivados de bacatina, análogos de taxanos (por ejemplo, epotilona A y B), nocodazol, colchicina y colcimida, estramustina, criptofisinas, cemadotina, maitansinoides, combretastatinas, discodermoida y eleuterobina. El agente citotóxico o citostático puede ser un agente antitubulina. Algunos ejemplos de agentes antitubulina incluyen taxanos (p. ej., Taxol® (paclitaxel), Taxotere® (docetaxel)), T67 (Tularik), alcaloides de la vinca (por ejemplo, Otros agentes antitubulina adecuados incluyen, por ejemplo, derivados de bacatina, análogos de taxanos (por ejemplo, epotilona A y B), nocodazol, colchicina y colcimida, estramustina, criptofisinas, cemadotina, maitansinoides, combretastatinas, discodermoida y eleuterobina.

**[0016]** Otra subrealización de este aspecto de la divulgación se representa cuando  $R^2$  es un fármaco de auristatina. Un aspecto de esta subrealización se representa cuando  $R^2$  es un fármaco de auristatina seleccionado entre AE, auristatina F fenilenodiamina (AFP), AEB, AEVB, MMAF y MMAE. Un aspecto adicional de esta realización se representa cuando  $R^2$  es MMAE. Un aspecto adicional de esta realización se representa cuando  $R^2$  es MMAF.

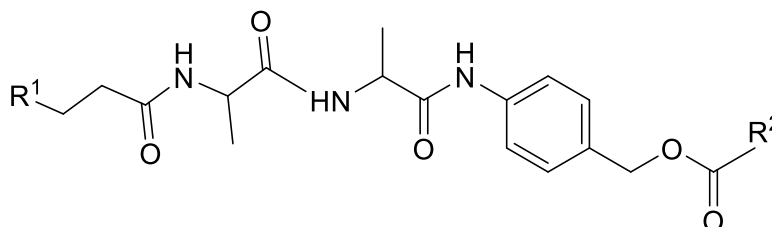
**[0017]** Otra realización de fórmula I se representa cuando  $R^2$  es un dímero de pirrolobenzodiazepina. Una subrealización de este aspecto se representa cuando  $R^2$  es tesirina.

**[0018]** Una realización de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  se seleccionan independientemente entre alquilo  $C_{1-3}$ . Una subrealización de este aspecto de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  se seleccionan independientemente entre  $-CH_3$ ,  $-CH_2CH_3$ ,  $-(CH_2)_2CH_3$ . Una subrealización de este aspecto de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  son ambos  $CH_3$ . Una subrealización de este aspecto de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  son ambos  $-CH_2CH_3$ . Una subrealización de este aspecto de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  son ambos  $-(CH_2)_2CH_3$ . Una subrealización de este aspecto de fórmula I se representa cuando uno de  $R^3$  y  $R^4$  es  $CH_3$  y el otro se selecciona entre  $-CH_2CH_3$  y  $-(CH_2)_2CH_3$ .

**[0019]** Una realización de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  son independientemente una cadena lateral de aminoácido de origen natural o no natural. Una subrealización de este aspecto

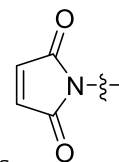
de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  se seleccionan independientemente entre arginina, glutamina, fenilalanina, tirosina, triptófano, lisina, glicina, alanina, histidina, serina, prolina, ácido glutámico, ácido aspártico, treonina, cisteína, metionina, leucina, asparagina, isoleucina y valina o cadenas laterales, en la configuración L o D. Otra realización de fórmula I se representa cuando  $R^3$  y  $R^4$  se seleccionan independientemente entre una cadena lateral de aminoácido de origen natural o no natural seleccionada entre las cadenas laterales de alanina, valina, leucina y metionina.

**[0020]** En otra realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula II y sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende una estructura de:

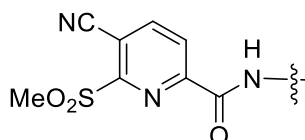


II

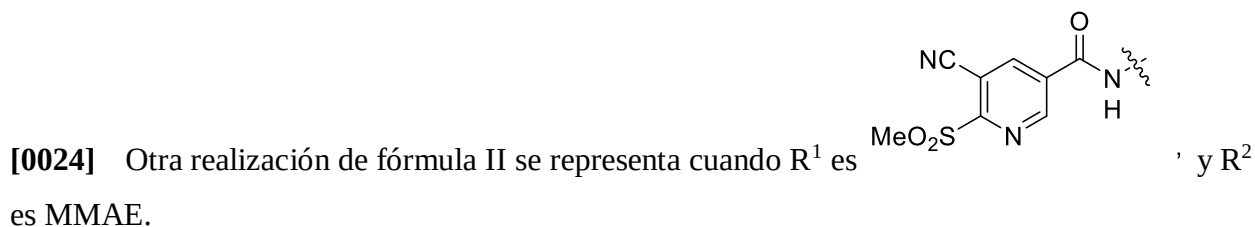
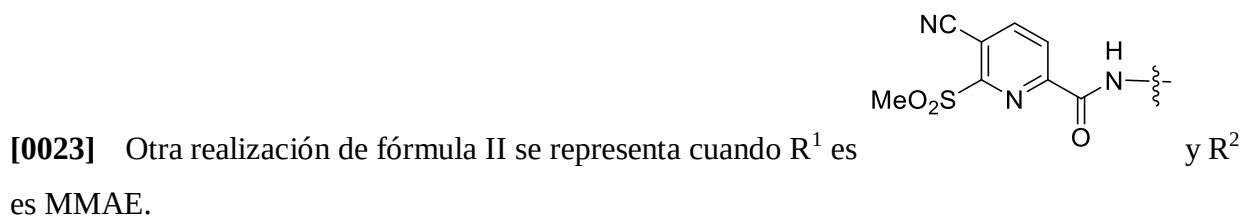
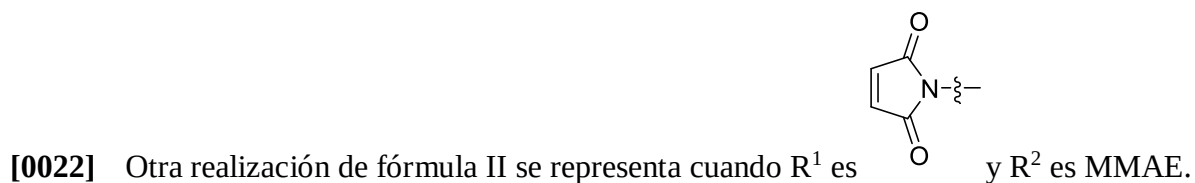
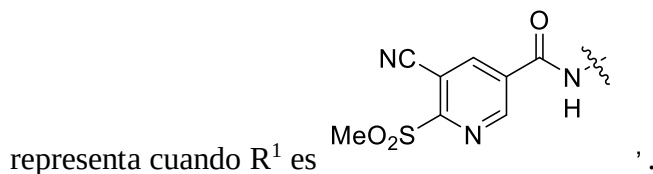
en donde  $R^1$  y  $R^2$  son como se describen en el presente documento. Una realización de fórmula II se representa cuando  $R^2$  es un fármaco de auristatina. Un aspecto de esta subrealización se representa cuando  $R^2$  es un fármaco de auristatina seleccionado entre AE, auristatina F, fenilenodiamina (AFP), AEB, AEVB, MMAF y MMAE. Un aspecto adicional de fórmula II se representa cuando  $R^2$  es MMAE. Un aspecto adicional de fórmula II se representa cuando  $R^2$  es MMAF.



**[0021]** Una realización de fórmula II se representa cuando  $R^1$  es . Una realización de

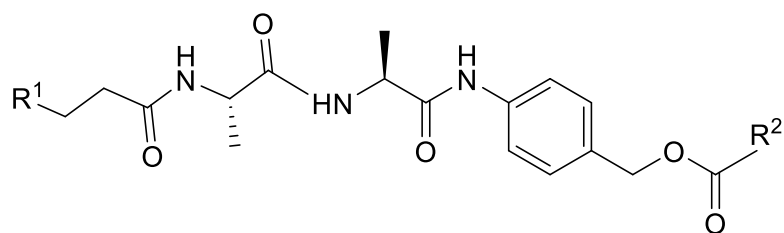


fórmula II se representa cuando  $R^1$  es . Una realización de fórmula II se



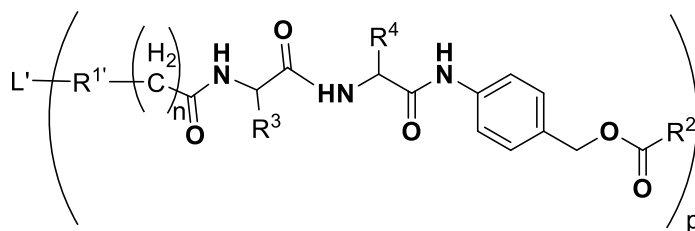
**[0025]** Otra realización de fórmula II se representa cuando  $R^2$  es un dímero de pirrolobenzodiazepina. Una subrealización de este aspecto se representa cuando  $R^2$  es tesirina.

**[0026]** Otra realización de fórmula II se representa por la fórmula estructural II':



II' .

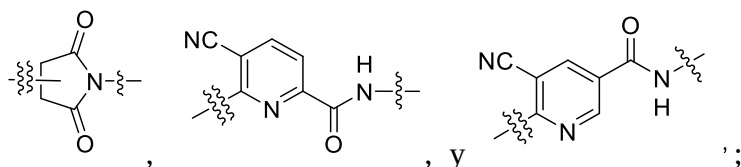
**[0027]** En otra realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de fórmula III y sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende una estructura de:



Fórmula III

en donde L' es un ligando que es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo), p indica el número promedio de restos de enlazador de fármaco en una composición de conjugado de ligando-fármaco

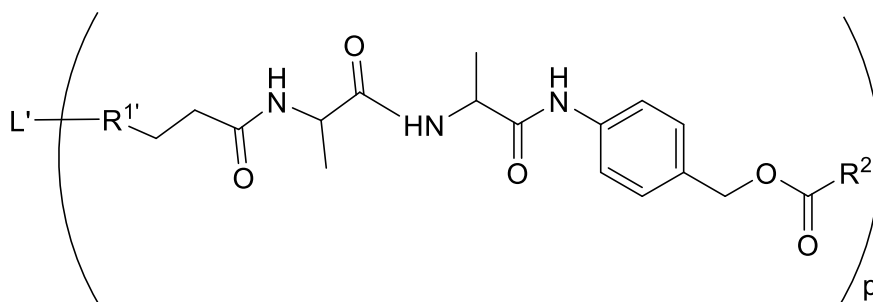
y R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son como se describen en el presente documento y R<sup>1'</sup> se selecciona entre:



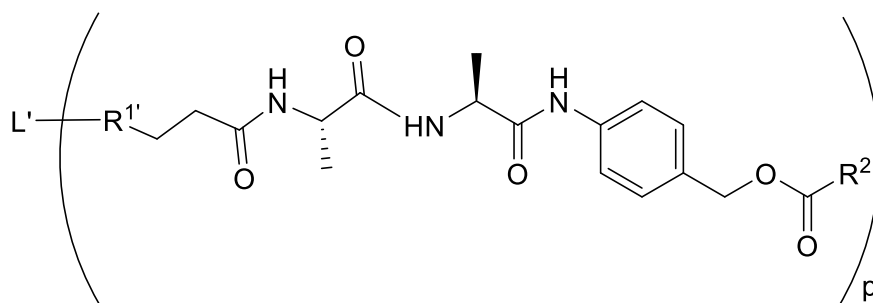
~~~~ una sola línea ondulada indica el sitio de unión covalente a  $-(CH_2)_n$ ;

~~~~ una línea ondulada doble indica el sitio de unión covalente a un azufre de un resto de cisteína de L'. Se entiende que cuando L' es un anticuerpo, un átomo de azufre S unido a L' en la fórmula III representa un azufre de la cadena lateral de una cadena lateral de cisteína del anticuerpo. P es un número real positivo, incluidas todas las fracciones y valores decimales. En algunas realizaciones, p es un número racional positivo de 1 a 24, de 1 a 12, de 1 a 8 o es 4 u 8, que incluye fracciones y valores decimales. En algunas realizaciones, p es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 y 24, o una fracción y valores decimales entre 1 a 24. En algunas realizaciones, p es 2, 4, 6 u 8, o p es de 1 a 2, incluidas fracciones y valores decimales entre 2 y 8.

**[0028]** Otra realización de fórmula III se representa por la fórmula estructural III' o III'':



Fórmula III'



III''

en donde L', R<sup>1</sup>' y R<sup>2</sup> son como se describen en el presente documento.

**[0029]** Una realización de fórmula III, III' y III'' se representa cuando L' incluye anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (p. ej., anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpo que muestran la actividad biológica deseada. Además, se prevé que los conjugados de anticuerpo-fármaco de la presente divulgación puedan reemplazarse por cualquier cosa que se una específicamente o que se asocie de manera reactiva o que forme complejos con un receptor, antígeno u otro resto receptor asociado con una población de células diana dada. Por ejemplo, en lugar de contener un anticuerpo, los conjugados de la divulgación podrían contener una molécula de direccionamiento que se une a complejos con, o que reacciona con un receptor, antígeno u otro resto receptor de una población celular que se quiere modificar con intención terapéutica u otra intención biológica (por ejemplo, proteínas, polipéptidos o péptidos de pequeño peso molecular, lectinas, glucoproteínas, no péptidos, vitaminas, moléculas transportadoras de nutrientes (p. ej., transferrina) y cualquier otra molécula o sustancia de unión a células.

**[0030]** En el presente documento se divulgan algunos ejemplos del ligando L' útiles en la presente divulgación,

seleccionados entre trastuzumab o mutantes del mismo, oregovomab, edrecolomab, cetuximab, un anticuerpo monoclonal humanizado para el receptor de vitronectina ( $\alpha_v\beta_3$ ), alemtuzumab, anticuerpos anti-HLA-DR incluido un anticuerpo anti-HLA-DR humanizado para el tratamiento del linfoma no hodgkiniano, 121I Lym-1, anticuerpos anti-HLA-Dr10 incluido un anticuerpo murino anti-DLA-Dr10 para el tratamiento del linfoma no hodgkiniano, anticuerpos anti-CD33, anticuerpos anti-CD22, incluido un mAb humanizado anti-CD22 para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin o el linfoma no hodgkiniano, labetuzumab, bevacizumab, ibritumomab tiuxetán, ofatumumab, panitumumab, rituximab, tositumumab, ipilimumab, sacituzumab, cetuximab (ERBITUX) y gentuzumab.

**[0031]** Un aspecto de la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de las fórmulas I, II, II', III, III', III o IV o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

**[0032]** Otro aspecto de la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de las fórmulas I, II, II', III, III' o III'' como se describen en el presente documento o un tautómero, mesómero, racemato, enantiómero, diastereómero del mismo, o una mezcla de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

**[0033]** Otro aspecto de la divulgación se refiere a un compuesto de las fórmulas I, II, II', III, III' o III'' como se describen en el presente documento o un tautómero, mesómero, racemato, enantiómero, diastereómero del mismo, o una mezcla de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como un fármaco o componente farmacológico.

**[0034]** Otro aspecto de la divulgación se refiere a un compuesto de las fórmulas I, II, II', III, III' o III'' como se describen en el presente documento o un tautómero, mesómero, racemato, enantiómero, diastereómero del mismo, o una mezcla de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de un tumor.

**[0035]** En otra realización, los compuestos de la divulgación incluyen los identificados en el presente documento como ejemplos en las tablas a continuación, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA DIVULGACIÓN

**[0036]** Para cada una de las realizaciones siguientes, cualquier variable no definida explícitamente en la realización es como se define en la fórmula (I). En cada una de las realizaciones descritas en el presente documento, cada variable se selecciona independientemente de las otras, a menos que se indique lo contrario.

**[0037]** Los compuestos de la divulgación pueden contener uno o más centros asimétricos y por tanto, pueden aparecer como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. Puede haber presencia de centros asimétricos adicionales en función de la naturaleza de los distintos sustituyentes en la molécula. Cada uno de dichos centros asimétricos producirá de manera independiente dos isómeros ópticos y se pretende que todos los posibles isómeros ópticos y diastereómeros en las mezclas y como compuestos puros o parcialmente puros estén incluidos dentro del alcance de la presente divulgación. A menos que se indique una estereoquímica específica, se pretende que la presente divulgación abarque dichas formas isoméricas de estos compuestos.

**[0038]** Las síntesis independientes de estos diastereómeros o sus separaciones cromatográficas pueden lograrse como es conocido en la técnica mediante la modificación adecuada de la metodología divulgada en el presente documento. Su estereoquímica absoluta puede determinarse, entre otros métodos, mediante la cristalografía de rayos X de productos cristalinos o de intermedios cristalinos que se derivatizan, en caso necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de configuración absoluta conocida.

**[0039]** Si se desea, las mezclas racémicas de los compuestos pueden separarse de forma que puedan aislarse los enantiómeros individuales. La separación puede realizarse mediante métodos bien conocidos en la técnica, tales como el acoplamiento de una mezcla racémica de compuestos con un compuesto enantioméricamente puro para formar una mezcla diastereomérica, seguido de separación de los diastereómeros individuales mediante métodos convencionales, tales como cristalización fraccionada o cromatografía. La reacción de acoplamiento es a menudo la formación de sales usando un ácido o base enantioméricamente pura. A continuación, los derivados diastereoméricos se pueden convertir en los enantiómeros puros mediante escisión del resto quiral añadido. La mezcla racémica de los compuestos también se puede separar directamente por métodos cromatográficos usando fases estacionarias quirales, métodos que son bien conocidos en la técnica.

**[0040]** Como alternativa, se puede obtener cualquier enantiómero de un compuesto mediante

síntesis estereoselectiva usando materiales de partida ópticamente puros o reactivos de configuración conocida por métodos bien conocidos en la técnica.

**[0041]** En los compuestos de las fórmulas I, II, II', III, III' o III'' átomos pueden mostrar sus abundancias isotópicas naturales o uno o más de los átomos pueden estar artificialmente enriquecidos en un isótopo particular que tiene el mismo número ' atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra predominantemente en la naturaleza. La presente divulgación puede incluir todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de las fórmulas genéricas I, II, II', III, III' o III''. Por ejemplo, las diferentes formas isotópicas del hidrógeno (H) incluyen protio ( $^1\text{H}$ ) y deuterio ( $^2\text{H}$ ). El protio es el isótopo del hidrógeno predominante en la naturaleza. El enriquecimiento en deuterio puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas, tales como aumentar la semivida *in vivo* o reducir los requisitos de dosificación o puede proporcionar un compuesto útil como patrón para la caracterización de muestras biológicas. A efectos de la presente divulgación, cuando se dice que un compuesto "no está deuterado", significa que no está enriquecido en deuterio más allá del estado de fondo. Los compuestos isotópicamente enriquecidos de las fórmulas genéricas I, II, II', III, III' o III'' pueden prepararse sin una experimentación excesiva mediante técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos en los esquemas y ejemplos del presente documento usando reactivos y/o intermedios isotópicamente enriquecidos adecuados.

**[0042]** Cuando un compuesto de la divulgación puede formar tautómeros, también se incluyen todas estas formas tautoméricas dentro del alcance de la presente divulgación. Por ejemplo, los compuestos que incluyen grupos carbonilo  $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$  (formas ceto) pueden experimentar tautomerismo para formar grupos hidroxilo  $-\text{CH}=\text{C}(\text{OH})-$  (formas enol). Las formas tanto ceto como enol, cuando están presentes, se incluyen dentro del alcance de la presente divulgación.

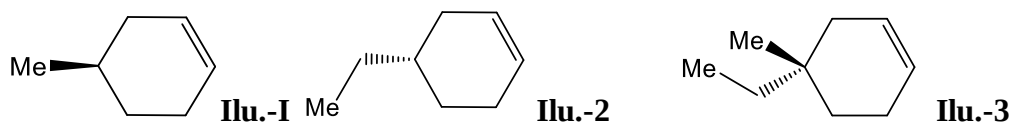
**[0043]** Cuando cualquier variable (p. ej.,  $\text{R}^5$ , etc.) aparece más de una vez en cualquier constituyente, su definición en cada caso es independiente en cualquier otro caso. Asimismo, solo se permiten las combinaciones de sustituyentes y variables en caso de que dichas combinaciones den como resultado compuestos estables. Las líneas dibujadas en los sistemas de anillo de los sustituyentes representan que el enlace indicado puede estar unido a cualquiera de los átomos del anillo sustituibles. Si el sistema de anillo es bicíclico, se pretende que el enlace esté unido a cualquiera de los átomos adecuados en cualquiera de los anillos del resto bicíclico.

**[0044]** Se entiende que un experto en la materia puede incorporar uno o más átomos de silicio

(Si) a los compuestos de la presente divulgación en lugar de uno o más átomos de carbono para proporcionar compuestos que sean químicamente estables y que se puedan sintetizar fácilmente mediante técnicas conocidas en la técnica a partir de materiales de partida fáciles de obtener. El carbono y el silicio difieren en su radio covalente, lo que conduce a diferencias en la distancia de enlace y la disposición estérica cuando se comparan enlaces análogos del elemento C y el elemento Si. Estas diferencias conducen a cambios sutiles en el tamaño y la forma de los compuestos que contienen silicio en comparación con el carbono. Un experto en la materia entendería que las diferencias de tamaño y forma pueden conducir a cambios sutiles o drásticos en la potencia, solubilidad, la falta de actividad inespecífica, propiedades de envasado, y así sucesivamente. (Dias, J. O. *et al. Organometallics* (2006) 5:1188-1198; Showell, G.A. *et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2006) 16:2555-2558).

**[0045]** Debe entenderse que un experto en la materia puede seleccionar los sustituyentes y los patrones de sustitución en los compuestos de la presente divulgación para proporcionar compuestos que son estables químicamente y que pueden sintetizarse fácilmente mediante técnicas conocidas en la materia, así como los métodos expuestos a continuación, a partir de materiales de partida fácilmente disponibles. Si un sustituyente a su vez está sustituido con más de un grupo, se entiende que estos múltiples grupos pueden estar en el mismo átomo de carbono o en diferentes átomos de carbono, siempre que produzcan una estructura estable. La expresión "opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes" debe entenderse en el sentido de que el grupo en cuestión no está sustituido o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes.

**[0046]** La estereoquímica absoluta se ilustra empleando enlaces en cuña sólidos y rayados. Como se muestra en la Ilu.-I y la Ilu.-II. Por consiguiente, el grupo metilo de Ilu.-I emerge de la página del papel y el grupo etilo en Ilu.-II desciende en la página, donde el anillo de ciclohexeno se encuentra en el plano del papel. Se asume que el hidrógeno en el mismo carbono que el grupo metilo de la Ilu.-I desciende en la página y el hidrógeno en el mismo carbono que el grupo etilo de la Ilu.-II emerge de la página. La convención es la misma cuando se añaden al mismo carbono un rectángulo sólido y un rectángulo rayado, como en la Ilu.-III, el grupo metilo emerge del plano del papel y el grupo etilo desciende en el plano del papel con el anillo de ciclohexeno en el plano del papel.



**[0047]** Como es convencional, a menos que se indique lo contrario en el texto adjunto, los enlaces ordinarios en "bastón" u "ondulados" indican que está representada toda la estereoquímica posible, lo que incluye, compuestos puros, mezclas de isómeros y mezclas racémicas.

**[0048]** Como se usan en el presente documento, a menos que se especifique otra cosa, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

**[0049]** La expresión "al menos uno", usada en referencia al número de componentes que integran una composición, por ejemplo, "al menos un excipiente farmacéutico", significa que un miembro del grupo especificado está presente en la composición y adicionalmente puede estar presente más de uno. Los componentes de una composición son normalmente alícuotas de material puro aislado añadidas a la composición, donde el grado de pureza del material aislado añadido a la composición es el grado de pureza normalmente aceptado para un reactivo del tipo.

**[0050]** Tanto si se utilizan en referencia a un sustituyente en un compuesto o un componente de una composición farmacéutica, la expresión "uno o más", tiene el mismo significado que "al menos uno";

**[0051]** "Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende describir el suministro de una cantidad de al menos un compuesto de la divulgación o de una composición que comprende al menos un compuesto de la divulgación, que es eficaz en el tratamiento o la inhibición de una enfermedad o afección descrita en el presente documento, y por tanto producir el efecto terapéutico, de mejora, inhibidor o preventivo deseado. Por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades o trastornos del sistema nervioso central con uno o más de los compuestos descritos en el presente documento, "cantidad eficaz" (o "cantidad terapéuticamente eficaz") significa, por ejemplo, proporcionar la cantidad de al menos un compuesto de fórmula I, fórmula II o fórmula III que da como resultado una respuesta terapéutica en un paciente afectado por una enfermedad o trastorno ("afección") del sistema nervioso central, incluida una respuesta adecuada para controlar, aliviar, mejorar o tratar la afección o aliviar, mejorar, reducir o erradicar uno o más síntomas atribuidos a la afección y/o a la estabilización a largo plazo de la afección, por ejemplo, como puede determinarse mediante el análisis de marcadores farmacodinámicos o la evaluación clínica de pacientes afectados por la afección;

**[0052]** "Paciente" y "sujeto" significa un animal, tal como un mamífero (p. ej., un ser humano) y es preferentemente un ser humano;

**[0053]** "Profármaco" significa compuestos que se transforman rápidamente, por ejemplo,

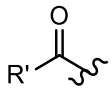
mediante hidrólisis en la sangre, *in vivo*, en el compuesto precursor, p. ej., conversión de un profármaco de fórmula I, fórmula II o fórmula III en un compuesto de fórmula I, fórmula II o fórmula III o en una sal del mismo; se proporciona un análisis minucioso en T. Higuchi y V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, vol. 14 de la A.C.S. Symposium Series, y en Edward B. Roche, ed., *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987, incorporándose ambos al presente documento por referencia; el alcance de la presente divulgación incluye profármacos de los nuevos compuestos de la presente divulgación;

**[0054]** El término "sustituido" significa que uno o más de los sustituyentes enumerados pueden ocupar una o más de las posiciones de enlace en el sustrato normalmente ocupadas por "-H", con la condición de que tales sustituyentes no excedan las reglas de valencia normales para el átomo en la configuración de enlace presentada en el sustrato, y que la sustitución proporcione en última instancia un compuesto estable, es decir, que dicha sustitución no proporcione compuestos con sustituyentes mutuamente reactivos ubicados geminal o vecinalmente entre sí; y en donde la sustitución proporciona un compuesto suficientemente robusto como para sobrevivir al aislamiento hasta un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción.

**[0055]** Cuando se describe la sustitución opcional de un resto (p. ej., "opcionalmente sustituido"), la expresión significa que si los sustituyentes están presentes, uno o más de los sustituyentes del sustrato especificado pueden estar presentes en el sustrato en una posición de enlace normalmente ocupada por el sustituyente por defecto que normalmente ocupa dicha posición. Por ejemplo, un sustituyente por defecto en los átomos de carbono de un resto alquilo es un átomo de hidrógeno, un sustituyente opcional puede reemplazar al sustituyente por defecto.

**[0056]** Como se usan en el presente documento, a menos que se especifique otra cosa, los siguientes términos usados para describir restos, tanto si comprende la definición entera de una porción variable de una representación estructural de un compuesto de la divulgación como un sustituyente unido a una porción variable de una representación estructural de un grupo de compuestos de la divulgación tienen los siguientes significados, y a menos que se indique otra cosa, las definiciones de cada término (es decir, resto o sustituyente) se aplican cuando ese término se usa individualmente o como un componente de otro término (p. ej., la definición de arilo es la misma para arilo y para la porción arilo de restos arilalquilo, alquilarilo, arilalquinilo, y similares); los restos se describen de un modo equivalente en el presente documento mediante estructura, representación tipográfica o terminología química sin pretender ninguna

diferenciación en significado, por ejemplo, un sustituyente "acilo" puede describirse de manera equivalente en el presente documento por el término "acilo", mediante representaciones

tipográficas de "R'-(C=O)-" o "R'-C(O)-", o mediante una representación estructural: , igualmente, sin implicar una diferenciación al utilizar alguna o todas estas representaciones;

**[0057]** El término "alquilo" (incluidas las porciones alquílicas de otros restos, tales como trifluorometil-alquilo y alcoxi-) significa un resto hidrocarburo alifático lineal o ramificado que comprende hasta 20 átomos de carbono (por ejemplo, una designación de "alquilo C<sub>1-20</sub>" indica un resto hidrocarburo alifático de 1 a 20 átomos de carbono). En algunas realizaciones, los alquilos comprenden preferentemente hasta aproximadamente 10 átomos de carbono, a menos que el término se modifique mediante una indicación de que está contemplada una cadena más corta, por ejemplo, un resto alquilo de 1 hasta 8 átomos de carbono se designa en el presente documento como "alquilo C<sub>1-8</sub>". Cuando el término "alquilo" se indica con dos guiones (es decir, "-alquilo-"), esto indica que el resto alquilo está unido de tal forma que el resto alquilo se conecta a los sustituyentes en cualquier lado del mismo, por ejemplo, "-alquil-OH" indica un resto alquílico que conecta un resto hidroxilo a un sustrato.

**[0058]** Como se usan en el presente documento, cuando el término "alquilo" se modifica con "sustituido" u "opcionalmente sustituido", significa que uno o más enlaces C-H en el grupo del resto alquílico está sustituido o puede estar opcionalmente sustituido, con un sustituyente unido al sustrato alquílico, que se indica en la definición del resto.

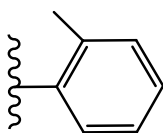
**[0059]** El término "solvato" se refiere a un solvato farmacéuticamente aceptable formado por un compuesto de la presente divulgación con una o más moléculas de disolvente. Algunos ejemplos no limitantes de moléculas de disolvente incluyen agua, etanol, acetonitrilo, isopropanol, DMSO, acetato de etilo.

**[0060]** El término "halógeno" significa flúor, cloro, bromo o yodo; los halógenos preferidos, a menos que se especifique lo contrario donde se use el término, son flúor, cloro y bromo, un sustituyente que es un átomo de halógeno significa -F, -Cl, -Br, o -I, y "halo" significa sustituyentes flúor, cloro, bromo o yodo unidos al resto definido, por ejemplo, "haloalquilo" significa un alquilo, como se ha definido anteriormente, en donde una o más de las posiciones de enlace en el resto alquilo típicamente ocupadas por átomos de hidrógeno están en su lugar ocupadas por un grupo halo, perhaloalquilo (o alquilo "completamente halogenado") significa que todas las posiciones de enlace que no participan en el enlace del sustituyente alquilo a un

sustrato están ocupadas por un halógeno, por ejemplo, cuando el alquilo se selecciona para que sea metilo, el término perfluoroalquilo significa  $-CF_3$ ;

**[0061]** El término "hidroxilo" e "hidroxi" significa un grupo  $HO-$ , "hidroxialquilo" significa un sustituyente de la fórmula: "HO-alquil-", en el que el grupo alquilo está enlazado al sustrato y puede estar sustituido o no sustituido como se ha definido anteriormente; los restos hidroxialquilo preferidos comprenden un alquilo inferior; Algunos ejemplos no limitantes de grupos hidroxialquilo adecuado incluyen hidroximetilo y 2-hidroximetilo.

**[0062]** La secuencia de enlace se indica mediante guiones, donde los restos se representan en texto, por ejemplo, -alquilo, indica un enlace sencillo entre a sustrato y un resto alquilo, -alquil-X, indica que un grupo alquilo enlaza un sustituyente "X" a un sustrato, y en representación estructural, la secuencia de enlace se indica mediante una línea ondulada que termina una



representación de enlace, por ejemplo: , indica que el resto metilfenilo está enlazado a un sustrato a través de un átomo de carbono en orto con respecto al sustituyente metilo, mientras que una representación de enlace terminada con una línea ondulada y dibujada en una estructura sin ninguna indicación particular de un átomo al que está enlazada indica que el resto puede estar enlazado a un sustrato mediante cualquiera de los átomos en el resto que estén disponibles para enlace, como se describe en los ejemplos anteriores.

**[0063]** La línea —, como un enlace generalmente indica una mezcla de, o cualquiera de, los isómeros posibles, p. ej., que contienen la configuración estereoquímica (*R*)- y (*S*)-.

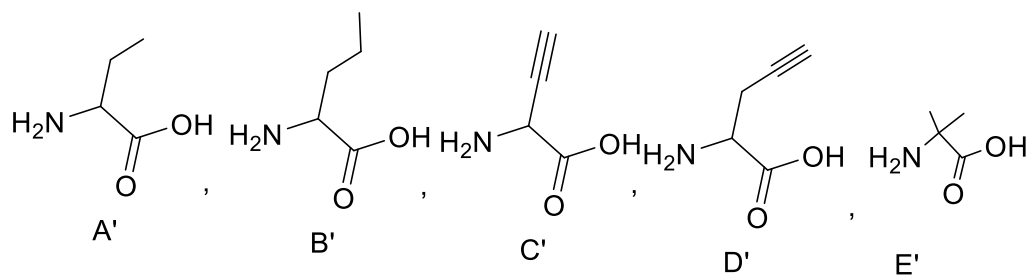
**[0064]** El término "DAR" o la "relación fármaco-anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, se refiere al número medio de restos de enlazador/fármaco unidos a los anticuerpos presentes en una composición. Para una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco de la presente divulgación, el DAR para la composición es el promedio de la "p" de todas las moléculas individuales del conjugado anticuerpo-fármaco presentes en dicha composición, y este promedio se expresa como un decimal. Como tal, en algunas realizaciones para una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco de la presente divulgación, el DAR de la composición es un decimal de 0 a 24, de 0 a 8, de 0 a 7, de 0 a 6, de 0 a 5, de 0 a 4, de 0 a 3, de 0 a 2 y de 0 a 1. En realizaciones adicionales, para una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco de la presente divulgación, el DAR de la composición es un decimal de 1 a 4, 2 a 5, 3 a 6, 4 a 7, 5 a 8 y 6 a 8. En otras realizaciones, para

una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco de la presente divulgación, el DAR de la composición es un decimal de 1 a 3, 2 a 4, 3 a 5, 4 a 6, 5 a 7 y 6 a 8. En realizaciones adicionales, para una composición que comprende un conjugado anticuerpo-fármaco de la presente divulgación, el DAR de la composición es un decimal de 1 a 2, 2 a 3, 3 a 4, 4 a 5, 5 a 6, 6 a 7 y 7 a 8. En realizaciones particulares, el DAR de la composición es 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, , 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9 , 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9 y 8,0. Se entiende que el término "composición", tal como se usa anteriormente, abarca composiciones farmacéuticas. El DAR promedio se puede determinar mediante diversos medios convencionales, como espectroscopia UV, espectroscopia de masas, ensayo ELISA, métodos radiométricos, cromatografía de interacción hidrófoba (HIC), electroforesis y HPLC.

**[0065]** En todos los casos, los nombres del compuesto acompañan a la estructura dibujada y pretenden captar cada una de las permutaciones estereoquímicas que son posibles para un isómero estructural dado en función de las operaciones sintéticas empleadas en su preparación. Las listas de estereoisómeros individuales que están unidos mediante o indican que el compuesto presentado (p. ej., "Número de ejemplo") se aisló como un único estereoisómero, y que la identidad de ese estereoisómero corresponde a una de las posibles configuraciones enumeradas. Las listas de estereoisómeros individuales que se unen mediante e indican que el compuesto presentado se aisló como mezcla racémica o mezcla diastereomérica.

**[0066]** Como se usa en el presente documento, "aminoácido natural", a menos que el contexto indique o implique otra cosa, se refiere a un aminoácido de origen natural, concretamente, arginina, glutamina, fenilalanina, tirosina, triptófano, lisina, glicina, alanina, histidina, serina, prolina, ácido glutámico, ácido aspártico, treonina, cisteína, metionina, leucina, asparagina, isoleucina y valina o un resto de los mismos, en la configuración L o D, a menos que el contexto especifique o implique otra cosa.

**[0067]** Como se usa en el presente documento, "aminoácido no natural", a menos que el contexto indique o implique otra cosa, se refiere a un ácido que contiene alfa-amino o a un resto del mismo, que tiene la estructura de cadena principal de un aminoácido natural, pero que, por ejemplo, tiene un grupo de cadena lateral unido al carbono alfa que no está presente en los aminoácidos naturales. Algunos ejemplos de aminoácidos no naturales son A', B', C', D' y E' con cadenas laterales de aminoácidos que tienen las estructuras:



Algunos ejemplos de cadenas laterales de aminoácidos son alquilo  $C_{1-6}$ , alqueno  $C_{2-6}$  y alquino  $C_{2-6}$ . Algunos ejemplos adicionales de cadenas laterales de aminoácidos son dimetilo, etilo, propilo, butilo,  $-C\equiv C$ , y  $-CH_2C\equiv C$ .

**[0068]** El ligando (L') puede ser cualquier resto con un grupo cisteína libre, incluidos, pero sin limitación, anticuerpos, proteínas, péptidos, polipéptidos o anticuerpos modificados por ingeniería para proporcionar una cisteína libre. Un aspecto de esto se representa cuando el ligando es un anticuerpo, preferentemente un anticuerpo intacto. El ligando actúa para dirigir y presentar el fármaco a la población de células diana concreta con la que interacciona el ligando. Los ligandos adecuados incluyen, por ejemplo, anticuerpos, p. ej., anticuerpos de longitud completa y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, interferones, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento y factores estimulantes de colonias, vitaminas, moléculas transportadoras de nutrientes (tales como, aunque no de forma limitativa, transferrina) o cualquier otra molécula o sustancia de unión a células, incluidas moléculas pequeñas y péptidos. El ligando puede ser, por ejemplo, un agente de direccionamiento proteínico distinto de un anticuerpo.

**[0069]** Cuando los conjugados comprenden proteínas, polipéptidos o ligandos peptídicos no inmunorreactivos en lugar de un anticuerpo, los ligandos proteicos, polipeptídicos o peptídicos no inmunorreactivos útiles incluyen, pero sin limitación, transferrina, factores de crecimiento epidérmico ("EGF"), bombesina, gastrina, péptido liberador de gastrina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, IL-2, IL-6, factores de crecimiento transformante ("TGF"), tales como TGF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ , factor de crecimiento de vaccinia ("VGF"), insulina y factores de crecimiento insulínicos I y II, somatostatina, lectinas y apoproteína procedente de una lipoproteína de baja densidad.

**[0070]** Los ligandos (L') particularmente preferidos son anticuerpos, incluidos los anticuerpos intactos. De hecho, en cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el ligando puede ser un anticuerpo. Los anticuerpos policlonales útiles son poblaciones heterogéneas de moléculas de anticuerpo obtenidas de los sueros de animales inmunizados. Los

anticuerpos monoclonales útiles son poblaciones homogéneas de anticuerpos contra un determinante antigénico particular (p. ej., un antígeno de célula cancerosa, un antígeno vírico, un antígeno microbiano, una proteína, un péptido, un hidrato de carbono, un producto químico, ácido nucleico, o fragmentos de los mismos). Puede prepararse un anticuerpo monoclonal (mAb) frente a un antígeno de interés utilizando cualquier técnica conocida en la técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpo mediante líneas celulares continuas en cultivo.

**[0071]** Además, los anticuerpos recombinantes, tales como anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados, que comprenden tanto porciones humanas como no humanas, que pueden fabricarse utilizando técnicas de ADN recombinante convencionales, son anticuerpos útiles. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que las distintas porciones se obtienen de distintas especies animales, tal como, por ejemplo, las que tienen una región variable obtenida de un monoclonal murino y regiones constantes de inmunoglobulina humana. (Véase, p. ej., las patentes de los EE. UU. n.º 4.816.567; y 4.816.397, que se incorporan al presente documento por referencia en su totalidad). Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especies no humanas que tienen una o más regiones determinantes de complementariedad (las CDR) de la especie no humana y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana. (Véase, p. ej., la patente de los EE. UU. n.º 5.585.089, que se incorpora al presente documento por referencia en su totalidad). Dichos anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante conocidas en la técnica, por ejemplo, utilizando los métodos descritos en la publicación internacional n.º WO 87/02671; publicación de patente europea n.º 0 184 187, incorporándose cada una de ellas al presente documento por referencia en su totalidad.

**[0072]** Son particularmente deseables los anticuerpos completamente humanos y se pueden producir utilizando ratones transgénicos que son incapaces de expresar los genes de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina endógena, pero que pueden expresar los genes de la cadena pesada y ligera humana.

**[0073]** Los anticuerpos incluyen análogos y derivados que bien pueden estar modificados, es decir, mediante la unión covalente de cualquier tipo de molécula siempre que dicha unión covalente permita al anticuerpo retener su inmunoespecificidad de unión a antígeno. Por ejemplo, aunque no de forma limitativa, los derivados y análogos de los anticuerpos incluyen aquellos que se han modificado adicionalmente, p. ej., mediante glucosilación, acetilación, PEGilación,

fosforilación, amidación, derivatización mediante grupos protectores/bloqueantes, escisión proteolítica, unión a un anticuerpo celular u otra proteína, etc. Se puede llevar a cabo cualquiera de numerosas modificaciones químicas mediante técnicas conocidas que incluyen, pero sin limitación, escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica en presencia de tunicamicina, etc. Además, el análogo o derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

**[0074]** En una realización específica, pueden utilizarse anticuerpos conocidos para el tratamiento del cáncer. Se pueden obtener anticuerpos inmuno-específicos para un antígeno de célula cancerosa comercialmente o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia tal como, p. ej., técnicas de expresión recombinante. Pueden obtenerse anticuerpos inmuno-específicos que codifican la secuencia de nucleótidos de un antígeno de célula cancerosa, p. ej., de la base de datos GenBank o de una base de datos similar, de las publicaciones de la bibliografía, o por clonación y secuenciación rutinarias.

**[0075]** En otra realización específica, los anticuerpos para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria se utilizan de acuerdo con las composiciones y métodos de la divulgación. Los anticuerpos inmuno-específicos de un antígeno de una célula que es responsable de producir anticuerpos autoinmunitarios se puede obtener de cualquier organización (p. ej., un científico de una universidad o una compañía) o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia tal como, p. ej., síntesis química o técnicas de expresión recombinante.

**[0076]** En otra realización, puede ser deseable conjugar componentes del enlazador al ligando (p. ej., anticuerpo) antes de unir la carga útil o el componente farmacológico del ADC. Por ejemplo, en realizaciones donde se usa un sustituyente que contiene tiol, p. ej., cisteína, para unir el componente farmacológico, puede ser deseable conjugar componentes del enlazador al ligando L' (p. ej., anticuerpo) antes de unir el componente farmacológico del ADC.

**[0077]** En otra realización, los compuestos de la divulgación incluyen los identificados en el presente documento como ejemplos en las tablas a continuación, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

**[0078]** El "conjugado de anticuerpo y fármaco" o ADC, como se usa el término en el presente documento, a menos que el contexto indique o implique otra cosa, es un subconjunto de los conjugados de ligando-fármaco de fórmula III, fórmula III' y fórmula III'' de los mismos se refiere a una construcción formada por un ligando (L') de anticuerpo que incorpora o corresponde a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y una carga útil

citotóxica que incorpora o corresponde en cuanto a su estructura a un compuesto biológicamente activo, normalmente denominado fármaco libre, en donde  $L'$  y  $R^2$  en el presente documento están unidos entre sí a través de una unidad de dipéptido enlazador, en donde el conjugado de anticuerpo-fármaco es capaz de unirse selectivamente a un antígeno diana de una célula diana, que en algunos aspectos es un antígeno de una célula anormal, tal como una célula cancerosa, a través de su unidad de ligando de anticuerpo de direccionamiento.

**[0079]** La expresión conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC), en un aspecto, se refiere a una pluralidad (es decir, composición) de compuestos de conjugado individuales que tienen el mismo número de restos de enlazador-carga útil conjugados a cada ligando de anticuerpo ( $L'$ ) y/o de ubicaciones en el ligando de anticuerpo ( $L'$ ) al que se conjugan los restos de enlazador-fármaco, o números o ubicaciones hasta cierto punto diferentes. En algunos aspectos, el término se refiere a una distribución o colección (es decir, población o pluralidad) de compuestos conjugados que tienen los mismos restos de enlazador-carga útil y ligandos ( $L'$ ) de anticuerpo, que permiten que se produzcan variaciones de aminoácidos por mutación y diversos patrones de glucosilación, como se describen en el presente documento, que se producen durante la producción de anticuerpos en el cultivo celular, que en algunos aspectos tienen una carga y/o distribución variable de los restos de enlazador-carga útil unidos a cada resto de anticuerpo (como, por ejemplo, cuando el número de restos de enlazador-carga útil de dos compuestos de conjugado de anticuerpo-fármaco cualesquiera en una pluralidad de dichos compuestos es igual, pero las ubicaciones de sus sitios de unión de los restos de enlazador-carga útil al ligando ( $L'$ ) de anticuerpo de direccionamiento difieren). En estos casos, un conjugado de anticuerpo-fármaco se describe por la carga promediada de fármaco de los compuestos de conjugado.

**[0080]** En algunos aspectos, la carga útil (fármaco) es un agente citotóxico, normalmente uno que tiene una amina alifática secundaria como manejador de conjugación e incluye compuestos de auristatina como se definen en el presente documento. Las clases útiles de agentes citotóxicos incluyen, por ejemplo, agentes antitubulina, agentes de unión al surco menor del ADN, inhibidores de la replicación del ADN, sensibilizantes para la quimioterapia o similares. Otras clases ilustrativas de agentes citotóxicos incluyen antraciclinas, auristatinas, camptotecinas, duocarmicinas, etopósidos, maitansinoides y alcaloides de la vinca. Algunos agentes citotóxicos ilustrativos incluyen, por ejemplo, auristatina T, auristatina E, auristatina F fenilenodiamina (AFP), monometil auristatina F (MMAF), monometil auristatina F lipófila, monometil auristatina E (MMAE), compuestos de unión al surco menor del ADN (p. ej., enediinas y lexitropsinas),

duocarmicinas, taxanos (por ejemplo, paclitaxel y docetaxel), alcaloides de la vinca, inhibidores de nicotinamida fosforibosiltransferasa (NAMPTi), tubulisina M, doxorubicina, morfolino-doxorubicina y cianomorfolino-doxorubicina.

**[0081]** El agente citotóxico puede ser un agente quimioterapéutico tal como, por ejemplo, doxorubicina, paclitaxel, melfalán, alcaloides de la vinca, metotrexato, mitomicina C o etopósido. El agente también puede ser un análogo de CC-1065, calicheamicina, maitansina, un análogo de dolastatina 10, rizoxina o palitoxina.

**[0082]** Algunas auristatinas ilustrativas incluyen, pero sin limitación, auristatina E (AE), hacer reaccionar auristatina E con ácido paraacetil benzoico o ácido benzoilvalérico para producir éster de benzoil-auristatina E (AEB) y éster de ácido 5-benzoilvalérico-auristatina E (AEVB), respectivamente, auristatina F fenilenodiamina (AFP), monometil auristatina F (MMAF) y monometil auristatina E (MMAE) y los descritos adicionalmente en las realizaciones de la divulgación. La síntesis y la estructura de las auristatinas se describen en las publicaciones de solicitud de patente estadounidenses n.º 2003-0083263, 2005-0238649 2005-0009751, 2009-0111756 y 2011-0020343: la publicación de patente internacional n.º WO 04/010957, la publicación de patente internacional n.º WO 02/088172 y las patentes estadounidenses n.º 7.659.241 y 8.343.928. Sus estructuras y métodos de síntesis divulgados en los mismos se incorporan al presente documento específicamente por referencia.

**[0083]** El agente citotóxico puede ser un agente de unión al surco menor del ADN. (Véase, p. ej., la patente estadounidense n.º 6.130.237). Por ejemplo, el agente de unión al surco menor puede ser un compuesto de CBI o una enediina (p. ej., calicheamicina).

**[0084]** El agente citotóxico o citostático puede ser un agente antitubulina. Algunos ejemplos de agentes antitubulina incluyen taxanos (p. ej., Taxol® (paclitaxel), Taxotere® (docetaxel)), T67 (Tularik), alcaloides de la vinca (p. ej., vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina. Otros agentes antitubulina adecuados incluyen, por ejemplo, derivados de bacatina, análogos de taxanos (por ejemplo, epotilona A y B), nocodazol, colchicina y colcimida, estramustina, criptofisinas, cemadotina, maitansinoides, combretastatinas, discodermoida y eleuterobina.

**[0085]** El agente citotóxico puede ser un maitansinoide, otro grupo de agentes antitubulina (p. ej., DM1, DM2, DM3, DM4). Por ejemplo, el maitansinoide puede ser maitansina o un enlazador de fármaco que contiene maitansina tal como DM-1 o DM-4 (ImmunoGen, Inc.; véase también Chari et al., 1992, Cancer Res.)

**[0086]** Se asume que las valencias no satisfechas en el texto, los esquemas, ejemplos, fórmulas

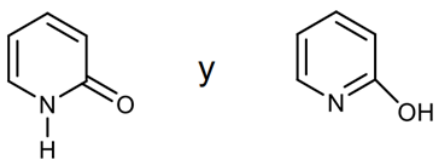
estructurales y cualquiera de las tables del presente documento tienen un átomo de hidrógeno o un número suficiente para satisfacer las valencias.

**[0087]** Uno o más compuestos de la divulgación también pueden existir como, u opcionalmente convertirse en, un solvato. La preparación de solvatos se conoce en general. Por tanto, por ejemplo, M. Caira et al., *J. Pharmaceutical Sci.*, 93(3), 601-611 (2004) describe la preparación de los solvatos del antifúngico fluconazol en acetato de etilo así como a partir de agua. Se describen preparaciones similares de solvatos y hemisolvatos, incluidos hidratos (donde el disolvente es agua o de base acuosa) y similares por E. C. Van Tonder et al., *AAPS PharmSciTech.*, 5(1), artículo 12 (2004); y A. L. Bingham et al., *Chem. Commun.*, 603-604 (2001). Un proceso típico, no limitativo, implica disolver el compuesto inventivo en cantidades deseadas del disolvente deseado (por ejemplo, un disolvente orgánico, un disolvente acuoso, agua o mezclas de dos o más de los mismos) a una temperatura superior a la ambiental y enfriar la solución, con o sin presencia de antidisolvente, a una velocidad suficiente para formar cristales que posteriormente se aíslan mediante métodos convencionales. Las técnicas analíticas tales como, por ejemplo, espectroscopía en el IR, muestran la presencia del disolvente (incluida el agua) en los cristales como un solvato (o hidrato en caso de que se incorpore agua en la forma cristalina).

**[0088]** La presente divulgación también incluye los compuestos de la presente divulgación en forma aislada y purificada obtenida mediante técnicas rutinarias. Se pretende incluir en la presente divulgación las formas polimórficas de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula II y de las sales, solvatos y profármacos de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula II. Determinados compuestos de la divulgación pueden existir en diferentes formas isoméricas (p. ej., enantiómeros, diastereoisómeros, atropisómeros). Los compuestos de la invención incluyen todas las formas isoméricas de los mismos, tanto en forma pura como en mezclas de dos o más, incluidas las mezclas racémicas.

**[0089]** De la misma manera, a menos que se indique lo contrario, la presentación de una representación estructural de cualquier forma tautomérica de un compuesto que muestra tautomerismo pretende incluir todas las formas tautoméricas del compuesto. Por consiguiente, cuando los compuestos de la divulgación, sus sales y solvatos y los profármacos de los mismos pueden existir en diferentes formas tautoméricas o en equilibrio entre dichas formas, la divulgación abarca e incluye en su alcance todas dichas formas del compuesto. Algunos ejemplos de dichos tautómeros incluyen, pero sin limitación, formas tautoméricas cetona/enol, formas

tautoméricas imina-enamina y por ejemplo, formas heteroaromáticas, tales como los siguientes restos:



**[0090]** La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del criterio médico reconocido, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

**[0091]** Como se usan en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados en donde el compuesto parental se modifica fabricando sales ácidas o básicas del mismo. Las sales en forma sólida pueden existir en más de una estructura cristalina y también pueden estar en forma de hidratos. Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos, tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto precursor formadas, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, dichas sales no tóxicas convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como fórmico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y sales preparadas a partir de ácidos orgánicos, tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isetiónico y similares. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, litio, magnesio, sales mangánicas, manganosas, potasio, sodio, cinc y similares.

**[0092]** Cuando el compuesto de la presente divulgación es básico, pueden prepararse sales a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluidos ácidos inorgánicos y orgánicos. Dichos ácidos incluyen ácido acético, bencensulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico,

láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares. En un aspecto de la divulgación, las sales son de los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico, fumárico y tartárico. De forma similar, las sales de los compuestos ácidos se forman mediante reacciones con la base orgánica o inorgánica apropiada.

**[0093]** La expresión "fármaco citotóxico" se refiere a una sustancia que inhibe o detiene la función de las células y/o provoca la muerte o destrucción celular. Los fármacos tóxicos incluyen toxinas y otros compuestos que pueden usarse en el tratamiento de tumores.

**[0094]** El término "toxina" se refiere a cualquier sustancia que pueda tener un efecto nocivo en el crecimiento o la proliferación de células. Las toxinas pueden ser toxinas de molécula pequeña y sus derivados de bacterias, hongos, plantas o animales, incluidos los derivados de la camptotecina, tales como exatecán, maitansinoide y sus derivados (documento CN101573384), tal como DM1, DM3, DM4, auristatina F (AF) y sus derivados, tales como MMAF, MMAE, 3024 (documento WO 2016/127790 A1, compuesto 7), toxina diftérica, exotoxina, cadena A de ricina, cadena A de abrina, modicina, a-sarcina, proteína tóxica de *Aleutites fordii*, proteína tóxica de diantina, proteína tóxica de *Phytolaca americana*, inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y tricotecenos.

**[0095]** La expresión "fármaco quimioterapéutico" se refiere a un compuesto químico que puede usarse para tratar tumores. Esta definición también incluye agentes antihormonales que actúan para modular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de las hormonas que promueven la proliferación del cáncer, que normalmente se encuentran en forma de un tratamiento sistémico u holístico. Pueden ser hormonas. Algunos ejemplos de fármacos quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa; ciclofosfamida (CYTOXANTM); sulfonato de alquilo, tal como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridina, tal como benadopa, carbocuna, meturedopa y uredopa; aziridina y metilmelamina, incluida altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolmelamina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clornafacina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de nitrobina; melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, uramustina; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos, tales como aclacinomicina, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicina, cactinomicina C, calicheamicina, carabicina, cromomicina, carzinofilina,

cromomicina, actinomicina D, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxi-L-norleucina, doxorrubicina, epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicina, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicina, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina; estreptozocina, tuberculocidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de pterina, tales como fludarabina, 6-mercaptopterina, tiometopterina, tioguanopterina; análogos de pirimidina, tales como ancitabina, azacitidina, 6-azuridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxitluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; suplementos de ácido fólico, tales como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestabucilo; biasntreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diacicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinano; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pintostatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK®; razoxano; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; dibromodulcitol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxanos, tales como paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) y docetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Pou-lenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino, tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunorrubicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS2000; difluorometilomitina (DMFO); ácido retinoico; esperamicinas; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de las sustancias anteriores. Esta definición también incluye los agentes antihormonales que pueden modular o inhibir los efectos de las hormonas en los tumores, tales como antiestrógenos, incluido tamoxifeno, raloxifeno, inhibidor de aromatasa 4(5)-imidazol, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LYll 7018, onapristona y Fareston; y antiandrógenos, tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de las sustancias anteriores.

**[0096]** Los términos "tratar" o "tratamiento" (de, p. ej., una enfermedad, trastornos o afecciones

o síntomas asociados, que conjunta o individualmente pueden denominarse "indicaciones") tal como se utilizan en el presente documento incluyen: inhibir la enfermedad, trastorno o afección, es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o sus procesos biológicos, o la progresión, o los síntomas clínicos de la misma; o aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad o de sus procesos biológicos o la progresión y/o los síntomas clínicos de la misma. "Tratamiento", como se usa en el presente documento, también se refiere al control, la mejora o la reducción de los riesgos para el sujeto afectado por una enfermedad, trastorno o afección en la que interviene un tumor. Los términos "prevenir" o "prevención" o "profilaxis" de una enfermedad, trastorno o afección como se usa en el presente documento incluyen: impedir el desarrollo o la progresión de los síntomas clínicos de la enfermedad, trastorno o afección en un mamífero que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad, trastorno o afección, pero que todavía no experimenta o muestra síntomas de la enfermedad, y similares.

**[0097]** Como resultará evidente para los expertos en la materia, los sujetos tratados mediante los métodos descritos en el presente documento son generalmente mamíferos, incluidos los seres humanos y animales no humanos (por ejemplo, animales de laboratorio y animales de compañía).

**[0098]** El término "composición", como se usa en el presente documento, pretende abarcar un producto que comprende un compuesto de la divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más ingredientes especificados adicionales en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que sea el resultado, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. Dicho término, en relación con una composición farmacéutica, pretende abarcar un producto que comprende los principios activos, lo que incluye un compuesto de la divulgación o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente junto con uno o más principios activos adicionales, y los ingredientes inertes que forman el portador, así como cualquier producto que sea el resultado, directa o indirectamente, de la combinación, formación de complejos o agregación de dos o más ingredientes cualesquiera o de la disociación de uno o más de los ingredientes o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los ingredientes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación abarcan cualquier composición preparada mezclando un compuesto de la presente divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable. Por "farmacéuticamente aceptable" se entiende que el portador, diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el destinatario de la misma.

**[0099]** Como se ha indicado anteriormente, las realizaciones adicionales de la presente divulgación se refieren a un método para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección, o uno o más síntomas de la misma ("indicaciones"), comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto o una sal del mismo.

**[0100]** En otra realización, la presente divulgación se refiere a un método para la fabricación de un medicamento para su uso en un sujeto que comprende la combinación de un compuesto de la presente divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con un portador o diluyente farmacéutico.

**[0101]** Una realización de este tipo proporciona un método para tratar o prevenir un cáncer seleccionado entre cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer de útero, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de esófago, melanoma, glioma, neuroblastoma, sarcoma, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico y cáncer de pulmón no microcítico), cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, leucemia (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica), cáncer óseo, melanoma maligno, cáncer de tiroides, cáncer de páncreas y linfoma (por ejemplo, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin o linfoma anaplásico recurrente de células grandes) en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la divulgación, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto, sal o solvato del mismo. En una realización de este tipo, el sujeto es un ser humano.

**[0102]** Otro aspecto de la divulgación se refiere a un método para tratar y/o prevenir un tumor, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o la composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con la presente divulgación.

**[0103]** En los presentes métodos también se contemplan combinaciones con agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, para el tratamiento de ciertas neoplasias malignas, son útiles combinaciones de los compuestos de la presente divulgación con agonistas de PPAR- $\gamma$  (es

decir, PPAR-gamma) y agonistas de PPAR- $\delta$  (es decir, PPAR-delta). PPAR- $\gamma$  y PPAR- $\delta$  son los receptores  $\gamma$  y  $\delta$  activados del proliferador de peroxisomas nucleares. Se ha demostrado que los agonistas de PPAR- $\gamma$  inhiben la respuesta angiogénica al VEGF *in vitro*; los maleatos de troglitazona y rosiglitazona inhiben el desarrollo de la neovascularización retinal en ratones (*Arch. Ophthalmol.* 2001; 119:709-717). Algunos ejemplos de agonistas de PPAR- $\gamma$  y agonistas de PPAR- $\gamma/\alpha$  incluyen, pero sin limitación, tiazolidindionas (tales como DRF2725, CS-011, troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona), fenofibrato, gemfibrozilo, clofibrato, GW2570, SB219994, AR-H039242, JTT-501, MCC-555, GW2331, GW409544, NN2344, KRP297, NP0110, DRF4158, NN622, GI262570, PNU182716, DRF552926, ácido 2-[(5,7-dipropil-3-trifluorometil-1,2-benzisoxazol-6-il)oxi]-2-metilpropiónico (desvelado en el documento USSN 09/782.856) y ácido 2(R)-7-(3-(2-cloro-4-(4-fluorofenoxi) fenoxi)propoxi)-2-etilcroman-2-carboxílico (desvelado en los documentos USSN 60/235.708 y 60/244.697), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0104]** Otra realización de la presente divulgación es el uso de los compuestos de la presente divulgación, combinados con terapia génica para el tratamiento del cáncer. Para consultar una descripción general de las estrategias genéticas para el tratamiento del cáncer, véase Hall et al., (*Am. J. Hum. Genet.* 61:785-789, 1997) y Kufe et al., (*Cancer Medicine*, 5.<sup>a</sup> Ed, págs. 876-889, BC Decker, Hamilton 2000). Se puede usar la terapia génica para administrar cualquier gen supresor tumoral. Algunos ejemplos de dichos genes incluyen, pero sin limitación, p53, que puede suministrarse mediante transferencia génica mediada por virus recombinante (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.069.134), un antagonista de uPA/uPAR ("Adenovirus-Mediated Delivery of a uPA/uPAR Antagonist Suppresses Angiogenesis-Dependent Tumor Growth and Dissemination in Mice", *Gene Therapy*, Agosto de 1998;5(8):1105-13), e interferón gamma (*J. Immunol.* 2000;164:217-222).

**[0105]** Los compuestos de la divulgación también pueden administrarse en combinación con un inhibidor de la resistencia multifármaco inherente (MDR), en particular MDR asociada con altos niveles de expresión de proteínas transportadoras. Dichos inhibidores de MDR incluyen inhibidores de la glucoproteína-p (P-gp), tales como LY335979, XR9576, OC144-093, R101922, VX853 y PSC833 (valsopodar), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0106]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden administrarse con un fármaco potenciador inmunológico, tal como levamisol, isoprinosina y Zadaxin, o una sal

farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0107]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden ser útiles para tratar o prevenir el cáncer, en combinación con inhibidores de P450 que incluyen: xenobióticos, quinidina, tiramina, ketoconazol, testosterona, quinina, metirapona, cafeína, fenelzina, doxorubicina, troleandomicina, ciclobenzaprina, eritromicina, cocaína, furafilina, cimetidina, dextrometorfano, ritonavir, indinavir, amprenavir, diltiazem, terfenadina, verapamilo, cortisol, itraconazol, mibefradilo, nefazodona y nelfinavir, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0108]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden ser útiles para tratar o prevenir el cáncer, en combinación con inhibidores de Pgp y/o BCRP que incluyen: ciclosporina A, PSC833, GF120918, cremophorEL, fumitremorgina C, Ko132, Ko134, Iressa, mesilato de imatinib, EKI-785, CI1033, novobiocina, dietilestilbestrol, tamoxifeno, resperpina, VX-710, triprostatina A, flavonoides, ritonavir, saquinavir, nelfinavir, omeprazol, quinidina, verapamilo, terfenadina, ketoconazol, nifedipina, FK506, amiodarona, XR9576, indinavir, amprenavir, cortisol, testosterona, LY335979, OC144-093, eritromicina, vincristina, digoxina y talinolol, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0109]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden ser útiles para tratar o prevenir el cáncer, incluyendo el cáncer óseo, en combinación con bisfosfonatos, que incluyen, pero sin limitación: etidronato (Didronel), pamidronato (Aredia), alendronato (Fosamax), risedronato (Actonel), zoledronato (Zometa), ibandronato (Boniva), incadronato o cimadronato, clodronato, EB-1053, minodronato, neridronato, piridronato y tiludronato, incluidas cualquiera y todas las sales farmacéuticamente aceptables, derivados, hidratos y mezclas de los mismos.

**[0110]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden ser útiles para tratar o prevenir el cáncer de mama, combinados con inhibidores de la aromatasa. Algunos ejemplos de inhibidores de la aromatasa incluyen, pero sin limitación: anastrozol, letrozol y exemestano, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0111]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden ser útiles para tratar o prevenir el cáncer, combinados con agentes terapéuticos de ARNpi.

**[0112]** Los compuestos de la presente divulgación también pueden administrarse en combinación con inhibidores de la  $\gamma$ -secretasa y/o inhibidores de la señalización de NOTCH. Dichos inhibidores incluyen los compuestos descritos en los documentos WO 01/90084, WO 02/30912, WO 01/70677, WO 03/013506, WO 02/36555, WO 03/093252, WO 03/093264, WO

03/093251, WO 03/093253, WO 2004/039800, WO 2004/039370, WO 2005/030731, WO 2005/014553, USSN 10/957251, WO 2004/089911, WO 02/081435, WO 02/081433, WO 03/018543, WO 2004/031137, WO 2004/031139, WO 2004/031138, WO 2004/101538, WO 2004/101539 y WO 02/47671 (incluido LY-450139), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0113]** En una realización, los agentes antineoplásicos específicos útiles en las presentes terapias combinadas incluyen, pero sin limitación: pembrolizumab (Keytruda®), abarelix (Plenaxis depot®); aldesleucina (Prokine®); aldesleucina (Proleukin®); alemtuzumab (Campath®); alitretinoína (Panretin®); alopurinol (Zyloprim®); altretamina (Hexalen®); amifostina (Ethyol®); anastrozol (Arimidex®); trióxido de arsénico (Trisenox®); asparaginasa (Elspar®); azacitidina (Vidaza®); bevacuzimab (Avastin®); cápsulas de bexaroteno (Targretin®); gel de bexaroteno (Targretin®); bleomicina (Blenoxane®); bortezomib (Velcade®); busulfán intravenoso (Busulfex®); busulfán oral (Myleran®); calusterona (Methosarb®); capecitabina (Xeloda®); carboplatino (Paraplatin®); carmustina (BCNU®, BiCNU®); carmustina (Gliadel®); carmustina con implante de Polifeprosan 20 (Gliadel Wafer®); celecoxib (Celebrex®); cetuximab (Erbix®); clorambucilo (Leukeran®); cisplatino (Platinol®); cladribina (Leustatin®, 2-CdA®); clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytosan®, Neosar®); ciclofosfamida (Cytosan Injection®); ciclofosfamida (Cytosan Tablet®); citarabina (Cytosar-U®); citarabina liposómica (DepoCyt®); dacarbazina (DTIC-Dome®); dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); darbepoetina alfa (Aranesp®); daunorrubicina liposómica (DanuoXome®); daunorrubicina, daunomicina (Daunorubicin®); daunorrubicina, daunomicina (Cerubidine®); denileucina diftitox (Ontak®); dexrazoxano (Zinecard®); docetaxel (Taxotere®); doxorubicina (Adriamycin PFS®); doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®); doxorubicina (Adriamycin PFS Injection®); doxorubicina liposómica (Doxil®); propionato de dromostanolona (Dromostanolone®); propionato de dromostanolona (Masterone injection®); solución B de Elliott (Elliott's B Solution®); epirubicina (Ellence®); epoetina alfa (epogen®); erlotinib (Tarceva®); estramustina (Emcyt®); fosfato de etopósido (Etopophos®); etopósido, VP-16 (Vepesid®); exemestano (Aromasin®); filgrastim (Neupogen®); floxuridina (intraarterial) (FUDR®); fludarabina (Fludara®); fluorouracilo, 5-FU (Adrucil®); fulvestrant

(Faslodex®); gefitinib (Iressa®); gemcitabina (Gemzar®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); acetato de goserelina (Zoladex Implant®); acetato de goserelina (Zoladex®); acetato de histrelina (Histrelin implant®); hidroxiaurea (Hydrea®); ibritumomab tiuxetano (Zevalin®); idarrubicina (Idamycin®); ifosfamida (IFEX®); mesilato de imatinib (Gleevec®); interferón alfa 2a (Roferon A®); interferón alfa-2b (Intron A®); irinotecán (Camptosar®); lenalidomida (Revlimid®); letrozol (Femara®); leucovorina (Wellcovorin®, Leucovorin®); acetato de leuprolida (Eligard®); levamisol (Ergamisol®); lomustina, CCNU (CeeBU®); mecloretamina, mostaza nitrogenada (Mustargen®); acetato de megestrol (Megace®); melfalán, L-PAM (Alkeran®); mercaptopurina, 6-MP (Purinethol®); mesna (Mesnex®); mesna (Mesnex tabs®); metotrexato (Methotrexate®); metoxsaleno (Uvadex®); mitomicina C (Mutamycin®); mitotano (Lysodren®); mitoxantrona (Novantrone®); fenpropionato de nandrolona (Durabolin-50®); nelarabina (Arranon®); nofetumomab (Verluma®); oprelvekina (Neumega®); oxaliplatino (Eloxatin®); paclitaxel (Paxene®); paclitaxel (Taxol®); partículas de paclitaxel unidas a proteínas (Abraxane®); palifermina (Kepivance®); pamidronato (Aredia®); pegademasa (Adagen (Pegademasa Bovina)®); pegaspargasa (Oncaspar®); Pegfilgrastim (Neulasta®); pemetrexed disódico (Alimta®); pentostatina (Nipent®); pipobromano (Vercyte®); plicamicina, mitramicina (Mithracin®); porfímero sódico (Photofrin®); procarbazona (Matulane®); quinacrina (Atabrine®); rasburicasa (Elitek®); rituximab (Rituxan®); ridaforolimus; sargramostim (Leukine®); sargramostim (Prokine®); sorafenib (Nexavar®); estreptozocina (Zanosar®); maleato de sunitinib (Sutent®); talco (Sclerosol®); tamoxifeno (Nolvadex®); temozolomida (Temodar®); tenipósido, VM-26 (Vumon®); testolactona (Teslac®); tioguanina, 6-TG (Tioguanine®); tiotepa (Tioplex®); topotecán (Hycamtin®); toremifeno (Fareston®); tositumomab (Bexxar®); tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar®); trastuzumab (Herceptin®); tretinoína, ATRA (Vesanoid®); mostaza de uracilo (Uracil Mustard Capsules®); valrubicina (Valstar®); vinblastina (Velban®); vincristina (Oncovin®); vinorelbina (Navelbine®); olaparib (Lynparza®), vorinostat (Zolinza®) y zoledronato (Zometa®), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0114]** Por tanto, el alcance de la presente divulgación abarca el uso de los compuestos de la presente divulgación, combinados con un segundo componente seleccionado entre: un modulador

del receptor de estrógenos, un modulador de los receptores de andrógenos, un modulador de receptores de retinoides, un agente citotóxico/citostático, un agente antiproliferativo, un inhibidor de la prenil-proteína transferasa, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un inhibidor de la proteasa del VIH, un inhibidor de la retrotranscriptasa, un inhibidor de la angiogénesis, agonistas de PPAR- $\gamma$ , agonistas de PPAR- $\delta$ , un inhibidor de la resistencia multifármaco inherente, un agente antiemético, un agente útil en el tratamiento de la anemia, un agente útil en el tratamiento de neutropenia, un fármaco potenciador inmunológico, un inhibidor de la señalización de la proliferación y supervivencia celular, un bisfosfonato, un inhibidor de aromatasa, un compuesto terapéutico de ARNpi, inhibidores de  $\gamma$ -secretasa y/o NOTCH, agentes que interfieren con las tirosina cinasas receptoras (RTK), un agente que interfiere con un punto de control del ciclo celular y cualquiera de los agentes terapéuticos enumerados anteriormente.

**[0115]** Otro ejemplo más de la divulgación es un método de tratamiento del cáncer que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación, combinado con paclitaxel o trastuzumab.

**[0116]** La combinación terapéutica divulgada en el presente documento puede usarse combinada con uno o más agentes activos adicionales, que incluyen, pero sin limitación, otros agentes antineoplásicos que se usan en la prevención, el tratamiento, el control, la mejora o la reducción del riesgo de una enfermedad o afección concreta (p. ej., trastornos de la proliferación celular). En una realización, un compuesto de la presente divulgación se combina con uno o más agentes antineoplásicos diferentes para su uso en la prevención, el tratamiento, el control, la mejora o la reducción del riesgo de una enfermedad o afección particular para la que son útiles los compuestos de la presente divulgación. Dichos otros agentes activos se pueden administrar, por una vía y en una cantidad usada habitualmente para ello, antes, de manera simultánea o secuencial con un compuesto de la presente divulgación.

**[0117]** La presente divulgación también incluye una composición farmacéutica útil para el tratamiento o la prevención del cáncer, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de la presente divulgación, y un segundo compuesto seleccionado entre: un modulador del receptor de estrógenos, un modulador de los receptores de andrógenos, un modulador de receptores de retinoides, un agente citotóxico/citostático, un agente antiproliferativo, un inhibidor de la prenil-proteína transferasa, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un inhibidor de la proteasa del VIH, un inhibidor de la retrotranscriptasa, un inhibidor de la angiogénesis, un agonista de PPAR- $\gamma$ , un agonista de PPAR- $\delta$ , un inhibidor de la

señalización de la proliferación y supervivencia celular, un bisfosfonato, un inhibidor de aromatasas, un compuesto terapéutico de ARNpi, inhibidores de  $\gamma$ -secretasa y/o NOTCH, agentes que interfieren con las tirosina cinasas receptoras (RTK), un agente que interfiere con un punto de control del ciclo celular y cualquiera de los agentes terapéuticos enumerados anteriormente.

**[0118]** La divulgación se refiere además a un método de tratamiento del cáncer en un paciente humano, que comprende la administración de un y un antagonista de PD-1 al paciente. El compuesto de la divulgación y el antagonista de PD-1 pueden administrarse simultánea o secuencialmente.

**[0119]** En realizaciones particulares, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En realizaciones alternativas, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-L1, o fragmentos de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti PD-1, seleccionado independientemente entre pembrolizumab, nivolumab, cemiplimab, sintilimab, tislelizumab, atezolizumab (MPDL3280A), camrelizumab y toripalimab. En otras realizaciones, el antagonista de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1 seleccionado independientemente entre atezolizumab, durvalumab y avelumab.

**[0120]** En una realización, el antagonista de PD-1 es pembrolizumab. En subrealizaciones particulares, el método comprende administrar 200 mg de pembrolizumab al paciente aproximadamente cada tres semanas. En otras subrealizaciones, el método comprende administrar 400 mg de pembrolizumab al paciente aproximadamente cada seis semanas.

**[0121]** En subrealizaciones adicionales, el método comprende administrar 2 mg/kg de pembrolizumab al paciente aproximadamente cada tres semanas. En subrealizaciones particulares, el paciente es un paciente pediátrico.

**[0122]** En algunas realizaciones, el antagonista de PD-1 es nivolumab. En subrealizaciones particulares, el método comprende administrar 240 mg de nivolumab al paciente aproximadamente cada dos semanas. En otras subrealizaciones, el método comprende administrar 480 mg de nivolumab al paciente aproximadamente cada cuatro semanas.

**[0123]** En algunas realizaciones, el antagonista de PD-1 es cemiplimab. En realizaciones particulares, el método comprende administrar 350 mg de cemiplimab al paciente aproximadamente cada 3 semanas.

**[0124]** En algunas realizaciones, el antagonista de PD-1 es atezolizumab. En subrealizaciones particulares, el método comprende administrar 1200 mg de atezolizumab al paciente

aproximadamente cada tres semanas.

**[0125]** En algunas realizaciones, el antagonista de PD-1 es durvalumab. En subrealizaciones particulares, el método comprende administrar 10 mg/kg de durvalumab al paciente aproximadamente cada dos semanas.

**[0126]** En algunas realizaciones, el antagonista de PD-1 es avelumab. En subrealizaciones particulares, el método comprende administrar 800 mg de avelumab al paciente aproximadamente cada dos semanas.

**[0127]** Cuando los compuestos de la presente divulgación se administran combinados con un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno de los mismos), el anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) puede administrarse simultáneamente con, o antes o después, los compuestos de la presente divulgación. Cualquiera del anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y/o un compuesto de la presente divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, puede administrarse por separado, por la misma vía de administración o una diferente, o juntos en la misma composición farmacéutica que los otros agentes. La relación en peso del anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) a un compuesto de la presente divulgación, puede variar y dependerá de la dosis terapéuticamente eficaz de cada agente. En general, se usará una dosis terapéuticamente eficaz de cada uno. Las combinaciones que incluyen al menos un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo), un compuesto de la presente divulgación y opcionalmente otros agentes activo incluirá generalmente una dosis terapéuticamente eficaz de cada agente activo. En dichas combinaciones, el anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo), los compuestos y otros agentes activos pueden administrarse por separado o juntos. Además, la administración de un elemento puede ser anterior, simultánea o posterior a la administración de otros agentes.

**[0128]** En una realización, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo), y/o un compuesto de la divulgación, y al menos otro agente activo como preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento del cáncer.

**[0129]** La divulgación también proporciona el uso de un compuesto de la presente divulgación, para el tratamiento del cáncer, cuando el paciente ha sido tratado previamente (p. ej., en un plazo de 24 horas) con un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo). La divulgación también proporciona el uso de un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un

fragmento de unión a antígeno del mismo) para el tratamiento de un trastorno proliferativo celular, cuando el paciente ha sido tratado previamente (p. ej., en un plazo de 24 horas) con un compuesto de anticuerpo-enlazador-carga útil (ADC) un compuesto de la presente divulgación.

**[0130]** La presente divulgación se refiere además a métodos de tratamiento del cáncer, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesite una terapia combinada que comprende (a) un compuesto de la presente divulgación y (b) un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo); en donde el anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se administra una vez cada 21 días.

**[0131]** Además, la presente divulgación se refiere a métodos de tratamiento del cáncer, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesite una terapia de combinación que comprende: (a) un compuesto de la presente divulgación y (b) un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo). En realizaciones específicas, el cáncer se produce en forma de uno o más tumores sólidos o linfomas. En realizaciones adicionales específicas, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en tumores sólidos y linfomas avanzados o metastásicos. En otras realizaciones específicas adicionales, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en melanoma maligno, carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, cáncer MSI-H, cáncer deficiente en MMR, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma urotelial, adenocarcinoma de la unión gástrica o gastroesofágica, adenocarcinoma de mama y linfomas. En realizaciones adicionales, el linfoma se selecciona entre el grupo que consiste en linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma linfocítico de células pequeñas, linfoma mediastinal de linfocitos B grandes, linfoma de linfocitos B de la zona marginal esplénica, linfoma de linfocitos B de la zona marginal extranodal de tejido linfoide asociado a mucosas (TLAM), el linfoma de linfocitos B de la zona marginal nodal, linfoma linfoplasmacítico, derrame linfomatoso primario, linfoma de Burkitt, linfoma anaplásico de células grandes (tipo cutáneo primario), linfoma de células grandes anaplásicas (de tipo sistémico), linfoma periférico de linfocitos T, linfoma angioinmunoblástico de linfocitos T, linfoma/leucemia de linfocitos T en adultos, linfoma de linfocitos NK/T extranodal de tipo nasal, linfoma de linfocitos T asociado a enteropatía, linfoma hepatoesplénico de linfocitos T gama/delta, linfoma subcutáneo de linfocitos T tipo paniculitis, micosis fungoide y linfoma de Hodgkin. En realizaciones particulares, el trastorno de la proliferación celular es un cáncer que ha metastatizado, por ejemplo, una metástasis hepática del cáncer colorrectal. En realizaciones adicionales, el trastorno de la proliferación celular es un cáncer clasificado como cáncer en

estadio III o cáncer en estadio IV. En los casos de estas realizaciones, el cáncer no se puede resear quirúrgicamente.

**[0132]** En realizaciones de los métodos divulgados en el presente documento, el anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) se administra mediante infusión intravenosa o inyección subcutánea.

**[0133]** En una realización, la presente divulgación proporciona composiciones que comprenden un compuesto de la divulgación, un portador farmacéuticamente aceptable y un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo).

**[0134]** En otra realización, la presente divulgación proporciona composiciones que comprenden un compuesto de la divulgación, un portador farmacéuticamente aceptable y pembrolizumab.

**[0135]** En una realización, la presente divulgación proporciona composiciones que comprenden un compuesto de la divulgación, un portador farmacéuticamente aceptable y dos agentes terapéuticos adicionales, uno de los cuales es un anticuerpo anti-PD-1 humano (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y el otro se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en agentes antineoplásicos.

**[0136]** Un compuesto de la presente invención puede emplearse junto con agentes antieméticos para tratar las náuseas o la emesis, incluida la emesis aguda, retardada, de fase tardía y anticipatoria, que puede resultar del uso de un compuesto de la presente divulgación, solo o con radioterapia. Para la prevención o el tratamiento de la emesis, puede usarse un compuesto de la presente divulgación junto con otros agentes antieméticos, especialmente, antagonistas de los receptores de la neurocinina-1, antagonistas de receptores de 5HT<sub>3</sub>, tales como ondansetrón, granisetron, tropisetron y zatisetrón, agonistas de receptores de GABAB, tales como baclofeno, un corticoesteroide, tal como Decadron (dexametasona), Kenalog, Aristocort, Nasalide, Preferid, Benecorten u otros divulgados en las patentes de EE. UU. n.º 2.789.118, 2.990.401, 3.048.581, 3.126.375, 3.929.768, 3.996.359, 3.928.326 y 3.749.712, un antidopaminérgico, tal como las fenotiazinas (por ejemplo, proclorperazina, flufenazina, tioridazina y mesoridazina), metoclopramida, aprepitant, fosaprepitant o dronabinol. En otro ejemplo, se divulga el tratamiento conjunto con un agente antiemético seleccionado entre un antagonista del receptor de la neurocinina-1, un antagonista del receptor de 5HT<sub>3</sub> y un corticoesteroide para el tratamiento o la prevención de la emesis que pueda dar como resultado tras la administración de los compuestos de la divulgación.

**[0137]** Los compuestos de la divulgación también pueden administrarse con un agente útil en el

tratamiento de la anemia. Dicho agente de tratamiento de la anemia es, por ejemplo, un activador continuo del receptor de la eritropoyesis (tal como epoetina alfa).

**[0138]** Los compuestos de la divulgación también pueden administrarse con un agente útil en el tratamiento de la neutropenia. Dicho agente de tratamiento de la neutropenia es, por ejemplo, un factor de crecimiento hematopoyético que regula la producción y función de los neutrófilos tales como el factor de estimulación de colonias de granulocitos humanos, (G-CSF). Ejemplos de un G-CSF incluyen filgrastim.

**[0139]** Los compuestos de la divulgación pueden ser útiles cuando se coadministran con otras modalidades de tratamiento, que incluyen, pero sin limitación, radioterapia, cirugía y terapia génica. Por consiguiente, en una realización, los métodos de tratamiento del cáncer descritos en el presente documento, a menos que se indique de otro modo, pueden incluir opcionalmente la administración de una cantidad eficaz de radioterapia. Para la radioterapia, se prefiere la radiación  $\gamma$ .

**[0140]** Los métodos de tratamiento de los cánceres descritos en el presente documento pueden incluir opcionalmente la administración de una cantidad eficaz de radiación (es decir, los métodos de tratamiento de los cánceres descritos en el presente documento incluyen opcionalmente la administración de radioterapia).

**[0141]** Los métodos de tratamiento del cáncer descritos en el presente documento incluyen métodos de tratamiento del cáncer que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula III, fórmula III' o fórmula III'' combinado con radioterapia y/o combinado con un segundo compuesto seleccionado entre: un modulador del receptor de estrógenos, un modulador de los receptores de andrógenos, un modulador de receptores de retinoides, un agente citotóxico/citostático, un agente antiproliferativo, un inhibidor de la prenil-proteína transferasa, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un inhibidor de la proteasa del VIH, un inhibidor de la retrotranscriptasa, un inhibidor de la angiogénesis, agonistas de PPAR- $\gamma$ , agonistas de PPAR- $\delta$ , un inhibidor de la resistencia multifármaco inherente, un agente antiemético, un agente útil en el tratamiento de la anemia, un agente útil en el tratamiento de neutropenia, un fármaco potenciador inmunológico, un inhibidor de la señalización de la proliferación y supervivencia celular, un bisfosfonato, un inhibidor de aromatasa, un compuesto terapéutico de ARNpi, inhibidores de  $\gamma$ -secretasa y/o NOTCH, agentes que interfieren con las tirosina cinasas receptoras (RTK), un agente que interfiere con un punto de control del ciclo celular y cualquiera de los agentes terapéuticos adicionales enumerados en el presente

documento.

**[0142]** Las realizaciones adicionales de la divulgación incluyen las composiciones farmacéuticas, combinaciones, usos y métodos expuestos anteriormente, en donde debe entenderse que cada realización puede combinarse con una o más de otras realizaciones, hasta tal punto que dicha combinación sea coherente con la descripción de las realizaciones. Debe entenderse además que las realizaciones proporcionadas anteriormente pretenden incluir todas las realizaciones, incluidas las realizaciones resultantes de las combinaciones de realizaciones.

#### *Kits*

**[0143]** En un aspecto, se proporciona un kit que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación o una sal, solvato o éster farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, y un portador, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

**[0144]** En otro aspecto, se proporciona un kit que comprende una cantidad de un compuesto de la presente divulgación, y una cantidad de al menos un agente terapéutico adicional enumerado anteriormente, en donde las cantidades de los dos o más principios activos dan como resultado un efecto terapéutico deseado. En una realización, el compuesto de la presente divulgación y los uno o más agentes terapéuticos adicionales se proporcionan en el mismo recipiente. En una realización, el compuesto de la presente divulgación y los uno o más agentes terapéuticos adicionales se proporcionan en recipientes separados.

**[0145]** El alcance de la presente divulgación incluye en su alcance profármacos de los compuestos de la presente divulgación. En general, dichos profármacos serán derivados funcionales de los compuestos de la presente divulgación, que pueden convertirse fácilmente *in vivo* en el compuesto deseado. Por tanto, en los métodos de tratamiento de la presente divulgación, las expresiones "administración de" o "administrar un" compuesto debe abarcar el tratamiento de las diversas afecciones descritas con el compuesto específicamente divulgado o con un compuesto que puede no divulgarse específicamente, pero que se convierte en el compuesto especificado *in vivo* tras la administración al paciente. Se describen procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados de profármaco adecuados, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985. Los metabolitos de estos compuestos incluyen especies activas producidas tras la introducción de compuestos de la presente divulgación en el medio biológico.

**[0146]** Los compuestos descritos en el presente documento o las sales y/o solvatos

farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden administrarse individualmente, en combinación con otros compuestos de la divulgación y/o en cócteles combinados con otros agentes terapéuticos. La elección de agentes terapéuticos que pueden administrarse conjuntamente con los compuestos de la divulgación dependerá, en parte, de la afección a tratar.

**[0147]** Los compuestos de la presente divulgación pueden administrarse por las vías de administración oral, parenteral (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, intracerebroventricular (ICV), inyección o infusión intracisternal, inyección subcutánea o implante), mediante un pulverizador de inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual, bucal o tópica y pueden formularse, solos o conjuntamente, en formulaciones de dosis unitaria adecuadas que contienen portadores, adyuvantes y vehículos no tóxicos convencionales farmacéuticamente aceptables adecuados para cada vía de administración. Además del tratamiento de animales de sangre caliente, los compuestos de la divulgación son eficaces para su uso en seres humanos.

**[0148]** Las composiciones farmacéuticas para la administración de los compuestos de la presente divulgación se pueden presentar de manera conveniente en formas de dosificación unitarias y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan poniendo en asociación de manera uniforme e íntima el principio activo con un portador líquido o un portador sólido finamente dividido o con ambos y después, en caso necesario, dando forma al producto en la formulación deseada. En la composición farmacéutica, el compuesto activo se incluye en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o estado de las enfermedades. Como se usan en el presente documento, el término "composición" pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que sea el resultado, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

**[0149]** Las composiciones farmacéuticas que contienen el principio activo pueden estar en forma adecuada para su uso oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, soluciones, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes

colorantes y agentes conservantes, para proporcionar preparaciones sabrosas y farmacéuticamente elegantes. Los comprimidos contienen el principio activo en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes granulantes y disgregantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no estar recubiertos, o recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y la absorción en el tubo digestivo y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También pueden recubrirse mediante las técnicas descritas en las patentes de EE. UU. 4.256.108; 4.166.452; y 4.265.874 para formar comprimidos osmóticos terapéuticos para una liberación controlada. Los comprimidos orales también pueden formularse para liberación inmediata, tales como comprimidos u obleas de fusión rápida, comprimidos de disolución rápida o películas de disolución rápida.

**[0150]** Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar en forma de cápsulas de gelatina dura en donde el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda, en donde el principio activo se mezcla con agua o con un medio oleaginoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

**[0151]** Las suspensiones acuosas contienen los principios activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carmelosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de sorbitol polioxietilenado, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán polietilenado. Las

suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

**[0152]** Pueden formularse suspensiones oleosas suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol acetílico. Para proporcionar una preparación oral con sabor agradable, se pueden añadir agentes edulcorantes tal como los expuestos anteriormente y agentes saborizantes. Estas composiciones pueden conservarse añadiendo un antioxidante tal como ácido ascórbico.

**[0153]** Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo en premezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes suspensoros se ilustran mediante los ya mencionados anteriormente. Los excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, agentes aromatizantes y colorantes, también pueden estar presentes.

**[0154]** Las composiciones farmacéuticas de la divulgación también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo, goma arábiga o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, por ejemplo soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de sorbitán polioxietilenado. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

**[0155]** Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden contener un demulcente, un agente conservante y agentes saborizantes y colorantes.

**[0156]** Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión oleosa o acuosa inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o

suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, normalmente se emplean aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Con este fin, puede usarse cualquier aceite no volátil suave incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico, son útiles en la preparación de los inyectables.

**[0157]** Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas convencionales pero líquido a la temperatura del recto y por lo tanto, se derretirán en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales son manteca de cacao y polietilenglicoles.

**[0158]** Para uso tópico, se emplean cremas, pomadas, gelatinas, soluciones o suspensiones y similares, que contienen los compuestos de la presente divulgación. De forma similar, también pueden utilizarse parches transdérmicos para administración tópica.

**[0159]** La composición farmacéutica y el método de la presente divulgación puede comprender además otros compuestos terapéuticamente activos como se indica en el presente documento, que normalmente se aplican en el tratamiento de las patologías anteriormente mencionadas.

**[0160]** En el tratamiento, la prevención, el control, la mejora o la reducción del riesgo de las afecciones divulgadas en el presente documento, un nivel de dosis adecuado de los compuestos de la presente divulgación será generalmente de aproximadamente 0,01 a 500 mg por kg de peso corporal del paciente por día, que puede administrarse en dosis únicas o múltiples. Un nivel de dosificación adecuado puede ser de aproximadamente 0,01 a 250 mg/kg al día, de aproximadamente 0,05 a 100 mg/kg al día o de aproximadamente 0,1 a 50 mg/kg al día. Dentro de este intervalo, la dosificación puede ser de 0,05 a 0,5, de 0,5 a 5 o de 5 a 50 mg/kg al día. Para administración oral, las composiciones se pueden proporcionar en forma de comprimidos que contienen de 1,0 a 1000 miligramos del principio activo, concretamente 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0 y 1000,0 miligramos del principio activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente a tratar. Los compuestos pueden administrarse en una pauta de 1 a 4 veces al día o pueden administrarse una o dos veces al día.

**[0161]** Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis y la frecuencia de dosificación

específicos para cualquier paciente particular puede variarse y dependerán de una diversidad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular y el hospedador que se somete a la terapia.

**[0162]** Los métodos para preparar los compuestos de la presente divulgación se ilustran en los siguientes esquemas y ejemplos. Los materiales de partida se preparan de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica o como se ilustra en el presente documento.

### **Ejemplos preparativos**

**[0163]** Los compuestos de la presente divulgación pueden prepararse de acuerdo con los siguientes esquemas y ejemplos específicos, o modificaciones de los mismos, usando materiales de partida fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales. También es posible emplear variantes que son en sí conocidas por los expertos habituales en la materia, pero que no se mencionan en detalle. Los procedimientos generales para producir los compuestos reivindicados en la divulgación pueden entenderse fácilmente por un experto en la materia a la vista de los siguientes esquemas y descripciones. Las abreviaturas utilizadas en los experimentos incluyen, pero sin limitación, las siguientes:

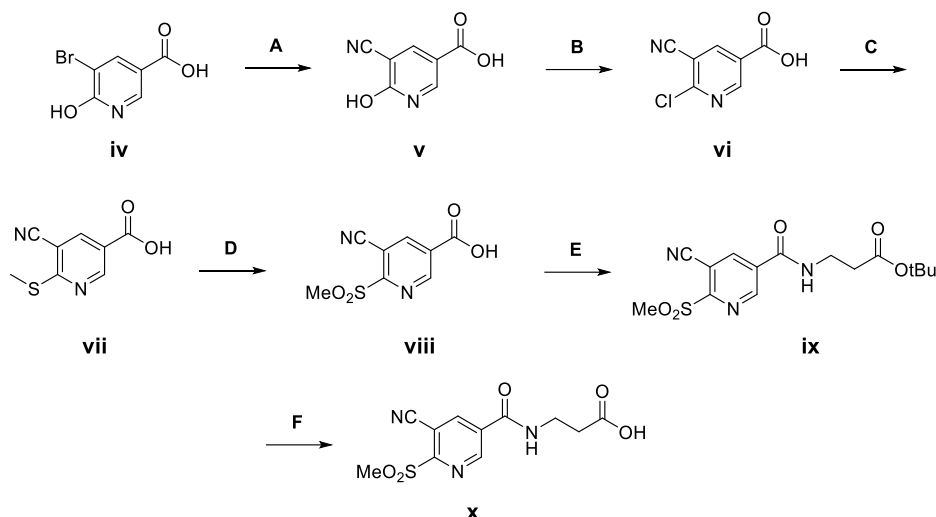
|                   |                                    |
|-------------------|------------------------------------|
| ACN               | Acetonitrilo                       |
| Ac                | Acuoso                             |
| DAR               | Relación fármaco-anticuerpo        |
| DCM               | Diclorometano                      |
| DIPEA             | N,N-diisopropiletilamina           |
| DMF               | Dimetilformamida                   |
| DMSO              | Dimetilsulfóxido                   |
| IEN               | Ionización por electronebulización |
| EtOAc             | Acetato de etilo                   |
| FBS               | Suero bovino fetal                 |
| Et <sub>3</sub> N | Trietilamina                       |
| H                 | Horas                              |
| HATU              | Hexafluorofosfato de 3-óxido de 1- |

|                    |                                                                   |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------|
|                    | [bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio      |
| RMN <sup>1</sup> H | Resonancia magnética nuclear de protón                            |
| HCl                | Ácido clorhídrico                                                 |
| HOBt               | Hidroxibenzotriazol                                               |
| HPLC               | Cromatografía de líquidos de alta resolución                      |
| IPA                | Alcohol isopropílico                                              |
| CLEM               | Cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas      |
| <i>m</i> -CPBA     | Ácido meta-cloroperoxibenzoico                                    |
| MeCN               | Acetonitrilo                                                      |
| MeOH               | Metanol                                                           |
| MMAE               | Monometil auristatina E                                           |
| EM                 | Espectrometría de masas                                           |
| MTBE               | Terc-butil éter de metilo                                         |
| m/z                | Relación de masa a carga                                          |
| NMP                | N-Metil-2-pirrolidona                                             |
| PBS                | Solución salina tamponada con fosfato                             |
| PyBOP              | Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino fosfonio |
| TA                 | Temperatura ambiente                                              |
| TFA                | Ácido trifluoroacético                                            |
| THF                | Tetrahidrofurano                                                  |
| TLC                | Cromatografía de capa fina                                        |
| t <sub>R</sub>     | Tiempo de retención                                               |
| TEA                | Trietilamina                                                      |
| Celite             | Marca comercial de tierra de diatomeas                            |
| DIEA               | Diisopropil etil amina                                            |

### *Preparación de compuestos intermedios*

**[0164]** Los siguientes ejemplos preparativos 1-3 describen la síntesis de los compuestos intermedios útiles para producir los compuestos ilustrativos de la presente divulgación.





#### Etapa A – síntesis del compuesto v

**[0169]** Una solución de ácido 5-bromo-6-hidroxipiridin-3-carboxílico (**iv**, 42,8 g, 196 mmol) y cianuro cuproso (35,2 g, 393 mmol) en NMP (430 ml) se agitó durante 2 horas a 165 °C en una atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla se concentró y se purificó, y el producto en bruto se purificó utilizando cromatografía ultrarrápida en fase inversa (AQ C18 gel de sílice, gradiente del 0 % al 20 % de ACN en agua (con NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O al 0,5 % como modificador)), obteniéndose el producto en bruto. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtro se lavó con H<sub>2</sub>O. EL filtrado se concentró al vacío, obteniéndose ácido 5-ciano-6-hidroxipiridin-3-carboxílico (**v**). CLEM: (IEN, *m/z*): [M-H]<sup>-</sup> = 163.

#### Etapa B – síntesis del compuesto vi

**[0170]** Una solución de ácido 5-ciano-6-hidroxipiridin-3-carboxílico (**v**) (25,7 g, 157 mmol) y oxiclорuro fosforoso (130 ml) se agitó durante 2 horas a 110 °C. La reacción se supervisó mediante CLEM y después se concentró al vacío. Se añadieron agua y EtOAc enfriados a 10 °C y el sólido se eliminó por filtración. La mezcla se extrajo con acetato de etilo, se secó y se concentró al vacío. El residuo se purificó utilizando cromatografía ultrarrápida en fase inversa (columna AQ de gel de sílice, acetonitrilo del 0 % al 15 %/bicarbonato de sodio (ac.)). Se ajustó el valor de pH de la capa acuosa a 2-3 con HCl 1 M y después se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (3x), se secó y se concentró al vacío, obteniéndose ácido 6-cloro-5-cianopiridin-3-carboxílico (**vi**). CLEM: (IEN, *m/z*): [M-H]<sup>-</sup> = 181.

#### Etapa C – síntesis del compuesto vii

**[0171]** En un matraz de tres bocas de 500 ml con atmósfera de nitrógeno se añadió dimetilformamida (115 ml) y ácido 6-cloro-5-cianopiridin-3-carboxílico (**vi**) (7,7 g, 42 mmol) a 25 °C. A la mezcla anterior se le añadió (metilsulfanil)sodio (7,39 g, 105 mmol) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 8 horas a 25 °C. La reacción se supervisó mediante CLEM. Esta solución se transfirió lentamente a H<sub>2</sub>O (1200 ml), y a continuación se extrajo con acetato de etilo (1 × 700 ml). El valor de pH de la capa acuosa se ajustó a 2-3 con HCl 1 M. El sólido se recogió por filtración, obteniéndose ácido 5-ciano-6-(metilsulfanil)piridin-3-carboxílico (**vii**). CLEM: (IEN, *m/z*): [M-H]<sup>-</sup> = 193.

*Etapa D – síntesis del compuesto viii*

**[0172]** Una solución de ácido 5-ciano-6-(metilsulfanil)piridin-3-carboxílico (**vii**) (7,4 g, 38 mmol) en DCM (185 ml) se trató con *m*-CPBA (26,3 g, 152 mmol) durante 24 horas a 45 °C en atmósfera de nitrógeno. La reacción se supervisó mediante CLEM y a continuación, se inactivó con bisulfito de sodio saturado a 0 °C y se concentró al vacío. Al residuo se le añadió 2-metiltetrahidrofurano y a continuación, la mezcla se filtró y se concentró al vacío, obteniéndose el producto en bruto. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con DCM/MeOH, obteniéndose ácido 5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotínico (**viii**). CLEM: (IEN, *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> = 227,05.

*Etapa E – síntesis del compuesto ix*

**[0173]** Se disolvieron ácido 5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotínico (**viii**) (0,57 g, 2,5 mmol) y HATU (1,0 g, 2,7 mmol) en 10 ml de DMF y se agitó durante 30 minutos a 25 °C. A continuación, se añadió 3-aminopropanoato de *terc*-butilo (0,42 g, 2,8 mmol) y la mezcla se enfrió a 10 °C. Se añadió DIPEA (0,873 ml, 5,00 mmol) gota a gota a la mezcla de reacción a 10 °C. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 2 horas y a continuación, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3x). La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con hexanos:EtOAc de 2:1 a 1:1, obteniéndose 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotinamido)propanoato de *terc*-butilo (**ix**). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,49 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,07 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 4,12 (s, 3H), 2,92 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 0,74 (s, 9H).

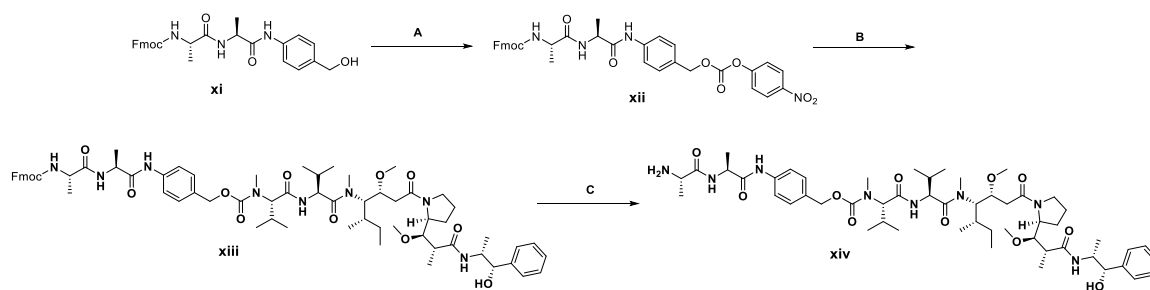
*Etapa F – síntesis del compuesto x*

**[0174]** Se disolvió 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotinamido)propanoato de *terc*-butilo (**ix**) (0,10 g, 0,28 mmol) en 10 ml de 1,4-dioxano. A continuación, se añadió a la mezcla HCl 4 M en 1,4-dioxano (10 ml). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 16 horas, y se filtró la mezcla

de reacción. El sólido se lavó con *n*-heptano y se secó en atmósfera de nitrógeno durante 5 horas, obteniéndose ácido 3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)nicotinamido)propanoico (**x**). RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9,22 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H), 8,80 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H), 3,66 (t,  $J = 5,8$  Hz, 2H), 3,44 (s, 3H), 2,67 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H).

### Ejemplo de preparación 3

**[0175]** Preparación del compuesto intermedio ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-aminopropanamido)propanamido)bencilo (**xiv**)



#### *Etapas A – síntesis del compuesto xii*

**[0176]** Una solución de ((S)-1-(((S)-1-((4-(hidroximetil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (**xi**) (13 g, 27 mmol, 1 eq) en DMF (130 ml), se añadió a un matraz de 4 bocas de 500 ml de fondo redondo purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno. A continuación, se añadieron DIEA al 2 % en moles (0,534 mmol) y carbonato de bis(4-nitrofenilo) (16,3 g, 53,6 mmol, 2 eq) a la mezcla de reacción a 20 °C. Se calentó la mezcla de reacción a 45 °C y se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se purificó utilizando cromatografía ultrarrápida en fase inversa (MeCN del 30 % al 60 %/agua con TFA al 0,05 % como modificador), obteniéndose ((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (**xii**). CLEM: (IEN,  $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 653,2$ .

#### *Etapas B – síntesis del compuesto xiii*

**[0177]** Una solución de ((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (**xii**) (8,30 g, 12,7 mmol) en DMF (83 ml) se añadió a un matraz de 4 bocas de 250 ml de fondo redondo purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno. A continuación, se añadió HOBt

(340 mg, 2,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se añadió MMAE (9 g, 12,7 mmol) a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción bruta se purificó utilizando cromatografía ultrarrápida en columna en fase inversa (MeCN del 20 % al 50 %/agua con TFA al 0,05 % como modificador), obteniéndose 4-((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de ((S)-2-((S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanamido)propanamido)bencilo (**xiii**). CLEM: (IEN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 1231,7$ .

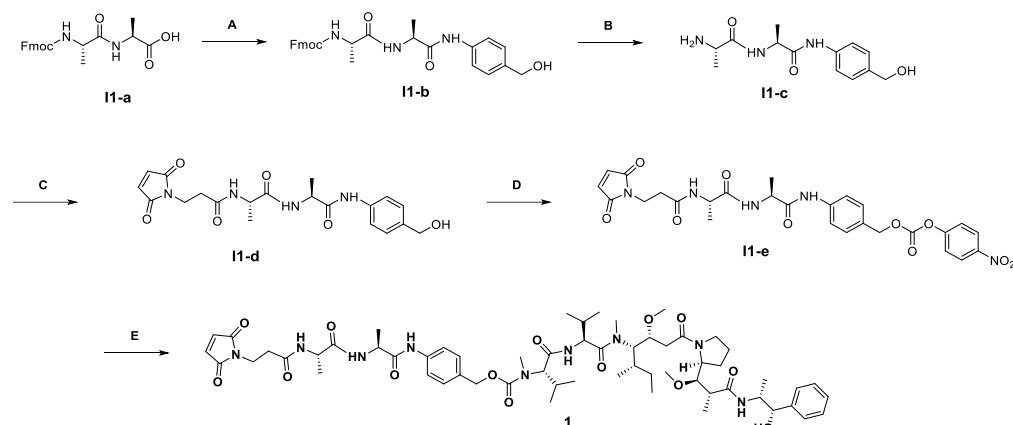
#### *Etapas C – síntesis del compuesto xiv*

**[0178]** Se disolvió ((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)propanamido)propanamido)bencilo (**xiii**) (0,092 g, 0,075 mmol) en DCM (0,5 ml) y se añadió TEA (0,5 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 40 °C. La mezcla de reacción que contenía ((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-aminopropanamido)propanamido)bencilo (**xiv**) se usó directamente sin purificación o concentración adicional. CL-EM: (IEN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 1009,8$ .

#### *Preparación de los compuestos ilustrativos*

**[0179]** Los ejemplos 1-3 a continuación describen la síntesis de los compuestos ilustrativos de la presente divulgación.

Ejemplo 1: ((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (1).



#### Etapa A – síntesis del compuesto **I1-b**

**[0180]** Se añadió alcohol P-aminobencílico (154 g, 125 mmol) a una mezcla en agitación de 2-etoxi-2H-quinolin-1-carboxilato de etilo (103 g, 418 mmol) y ácido (2S)-2-[(2S)-2-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}propanamido]propanoico **I1-a** (100 g, 261 mmol) en DCM:MeOH (2:1) (3000 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se supervisó mediante CLEM. Se evaporó el disolvente al vacío y el residuo se diluyó con TBME (2000 ml) y se agitó durante 30 minutos. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con TBME (1000 ml) y se secaron al vacío, obteniéndose N-[(1S)-1-[(1S)-1-[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil}etil]-carbamoil}etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (**I1-b**). CLEM: (EN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 488$ .

#### Etapa B – síntesis del compuesto **I1-c**

**[0181]** Se añadió dietilamina (756 g, 10,3 mol) a una mezcla en agitación de N-[(1S)-1-[(1S)-1-[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil}etil]-carbamoil}etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (**I1-b**) (140 g, 287 mmol) en DMF (1,4 l) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se controló mediante CLEM. Se evaporó el disolvente y el residuo se diluyó con EtOAc (500 ml) y se agitó durante 30 minutos. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con EtOAc (300 ml), y se secaron al vacío, obteniéndose (2S)-2-[(2S)-2-aminopropanamido]-N-[4-(hidroximetil)fenil]propanamida (**I1-c**). CLEM: (EN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 266$ .

#### Etapa C – síntesis del compuesto **I1-d**

**[0182]** Una mezcla de 3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (55,2 g, 207 mmol), **I1-c** (55,0 g, 207 mmol) Y DIPEA (40,2 g, 311 mmol) en DMF (550 ml) a temperatura ambiente se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se añadió a H<sub>2</sub>O (600 ml)

con agitación. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua (500 ml), y se secaron al vacío, obteniéndose (2S)-2-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propanamido]-N-[(1S)-1-{[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil}etil]propanamida (**I1-d**) que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

#### *Etapa D – síntesis del compuesto I1-e*

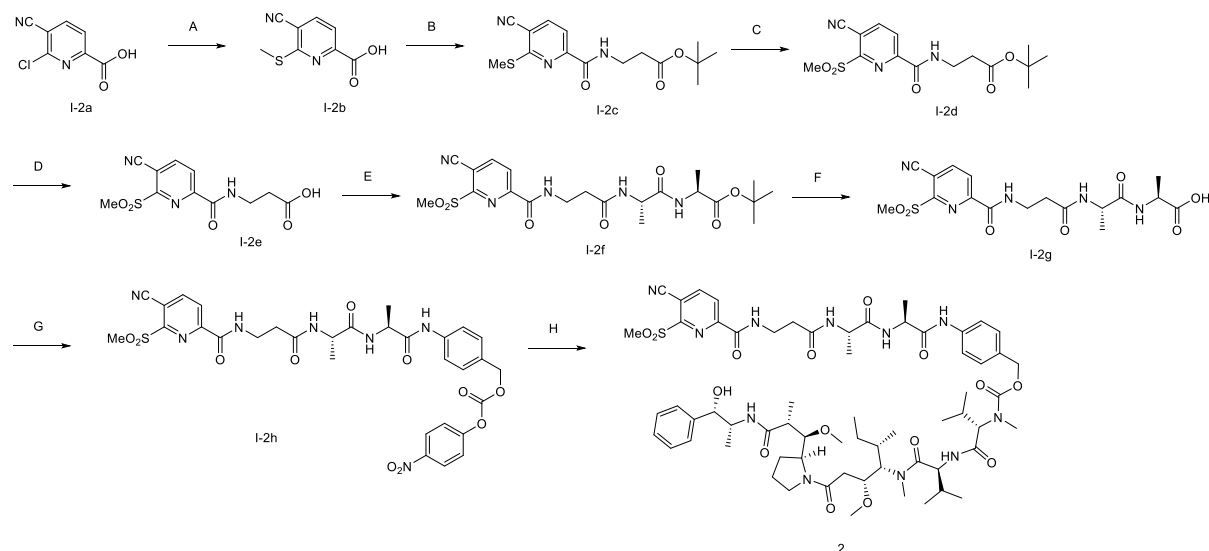
**[0183]** Se añadió DIPEA (30,7 g, 237 mmol) a una mezcla en agitación de carbonato de bis(4-nitrofenilo) (60,3 g, 198 mmol) y (2S)-2-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propanamido]-N-[(1S)-1-{[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil}etil]propanamida (**I1-d**) (55 g, 32 mmol) en DMF (550 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 16 horas y se supervisó mediante CLEM. La solución de reacción se añadió a H<sub>2</sub>O (400 ml) con agitación. La mezcla se filtró y la torta de filtro se lavó con agua (1 × 100 ml). Los sólidos se recogieron por filtración y se purificaron mediante cromatografía en fase inversa (columna de cromatografía axial dinámica C-18, eluyendo con ACN del 15 % al 65 %/agua (con acetato de amonio al 0,1 % (NH<sub>4</sub>OAc) como modificador)). La mezcla resultante se concentró al vacío y los sólidos se secaron al vacío a 45 °C, obteniéndose carbonato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propanamido]propanamido]propanamido]fenil}metil-4-nitrofenilo (**I1-e**). CL-EM: (EN, *m/z*): [M+H]<sup>+</sup> = 582.

#### *Etapa E – Síntesis de 1*

**[0184]** A un matraz de fondo redondo de 60 ml en atmósfera de nitrógeno N<sub>2</sub> se le añadió carbonato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[3-(2,5-dioxopirrol-1-il)propanamido]propanamido]propanamido]fenil}metil-4-nitrofenilo (**I1-e**) (3,00 g, 5,15 mmol) y DMF (45 ml), seguido de HOBt (140 mg, 1,03 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 10 minutos, tras lo cual se añadió MMAE (4,00 g, 5,57 mmol) a 25 °C. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 16 horas. A continuación, la reacción se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa (AQ C18, MeCN del 30 % al 60 %/agua con acetato de amonio al 0,1 % como modificador). El MeCN se concentró al vacío, el resto de la mezcla acuosa se extrajo con acetato de etilo (300 ml × 3) y los residuos orgánicos combinados se concentraron al vacío. Se analizaron tres lotes en paralelo, se combinaron y se disolvieron en 200 ml de MeCN. Se añadieron 400 ml de agua y la solución se congeló y liofilizó a continuación, obteniéndose ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-

il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**1**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 1160$ . RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  7,53 (d a,  $J=8,19$  Hz, 2H), 7,03-7,32 (m, 7H), 6,67 (s, 2H), 5,21-5,29 (m, 2H), 4,90-5,14 (m, 2H), 4,28-4,66 (m, 4H), 4,04-4,22 (m, 4H), 3,52-3,81 (m, 4H), 3,24-3,46 (m, 6H), 3,17 (s, 2H), 2,97-3,09 (m, 2H), 2,73-2,90 (m, 4H), 2,28-2,47 (m, 4H), 1,43-2,20 (m, 8H), 1,16-1,38 (m, 10H), 1,00-1,12 (m, 6H), 0,61-0,94 (m, 18H) No se notifican todos los protones intercambiables.

Ejemplo 2: ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)picolinamido)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**2**).



#### Etapa A – síntesis del compuesto **I-2b**

**[0185]** Se disolvió ácido 6-cloro-5-cianopicolínico (**I-2a**) (80 g, 0,44 mol) en DMF (5000 ml), y se añadió tiolato de metano y sodio (77 g, 1,1 mol) a la mezcla en lotes. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 16 horas. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se añadió a agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo y la fase acuosa se ajustó a pH 5 con ácido cítrico al 10 %. La mezcla se extrajo 3 veces con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío, obteniéndose ácido 5-ciano-6-(metiltio)picolínico (**I-2b**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 195$ .

#### Etapa B – síntesis del compuesto **I-2c**

**[0186]** A ácido 5-ciano-6-(metiltio)picolínico (**I-2b**) (66 g, 0,34 mol) disuelto en THF (3000 ml) se le añadió HATU (155 g, 0,41 mol). La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos a 25 °C. Se añadió sal de HCl de 3-aminopropanoato de *terc*-butilo (67,7 g, 0,37 mol) a la mezcla y a continuación se enfrió a 10 °C. Se añadió DIEA (175 g, 1,35 mol) gota a gota a lo largo de 1 hora a 10 °C. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 16 horas, se concentró al vacío y se diluyó con acetato de etilo. La solución resultante se lavó con agua 3 veces y los compuestos orgánicos combinados se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo:éter de petróleo 1:2), obteniéndose 3-(5-ciano-6-(metiltio)picolinamido)propanoato de *terc*-butilo (**I-2c**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ): $[M+Na]^+$  = 344

*Etapa C – síntesis del compuesto I-2d*

**[0187]** Se disolvió 3-(5-ciano-6-(metiltio)picolinamido)propanoato de *terc*-butilo (**I-2c**) (96 g, 0,30 mol) en DCM (1500 ml) y se añadió gota a gota una solución de *m*-CPBA (206 g, 1,19 mol) en DCM (1500 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción resultante se diluyó con DCM y se vertió sobre agua helada. La fase orgánica se lavó con bicarbonato de sodio al 10 % en agua 4 veces y los extractos orgánicos combinados se secaron y concentraron al vacío, obteniéndose 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)picolinamido)propanoato de *terc*-butilo (**I-2d**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ): $[M+Na]^+$  = 376

*Etapa D – síntesis del compuesto I-2e*

**[0188]** A 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)picolinamido)propanoato de *terc*-butilo (**I-2d**) (90 g, 0,25 mol) disuelto en 1,4-dioxano (1000 ml) se le añadió HCl 4 M en 1,4-dioxano (2500 ml). La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 16 horas y después se filtró. El sólido se lavó con *n*-heptano y se secó en atmósfera de nitrógeno, obteniéndose ácido 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)picolinamido)propanoico (**I-2e**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ): $[M+Na]^+$  = 320

*Etapa E – síntesis del compuesto I-2f*

**[0189]** Se disolvió L-alanil-L-alaninato de *terc*-butilo (**iii**) (50 g, 0,23 mol) en THF (2300 ml). A esta mezcla se le añadió ácido 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)picolinamido)propanoico (**I-2e**) (69 g, 0,23 mol) y HATU (106 g, 0,28 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y a continuación, se enfrió a 10 °C. A continuación, se añadió DIEA (90 g) gota a gota a lo largo de 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante una noche a 20 °C. A continuación, se concentró la mezcla de reacción al vacío y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua 3 veces, se secaron y se concentraron al

vacío. El residuo resultante se purificó utilizando cromatografía sobre gel de sílice con DCM: MeOH (2:1), obteniéndose (3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)picolinamido)propanoilo)-L-alanil-L-alaninato de terc-butilo (**I-2f**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ): $[M+Na]^+ = 518$

*Etapa F – síntesis del compuesto I-2g*

**[0190]** Se añadió HCl 4 M en 1,4-dioxano (1800 ml) a (3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)picolinamido)propanoilo)-L-alanil-L-alaninato de terc-butilo (**I-2f**) (90 g, 0,18 mol) disuelto en MeCN (2000 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 25 °C durante 16 horas, después se concentró al vacío. El sólido resultante se lavó con MTBE y se filtró. El sólido se secó al aire durante una noche, obteniéndose (3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)picolinamido)propanoilo)-L-alanil-L-alanina (**I-2g**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ): $[M+Na]^+ = 462$

*Etapa G – síntesis del compuesto I-2h*

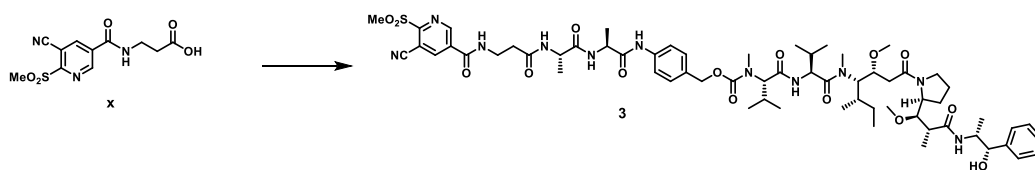
**[0191]** En un matraz de fondo redondo de 4 bocas de 500 ml purgado y mantenido con una atmósfera inerte de nitrógeno, se añadió (3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)picolinamido)propanoilo)-L-alanil-L-alanina (**I-2g**) (30 g, 0,65 mol), DMF (300 ml), y HATU (31,2 g, 0,780 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se añadió (4-aminofenil)metanol (9,0 g, 0,068 mmol) a 20 °C, y la mezcla de reacción se enfrió a 10 °C. Se añadió DIEA (90 g, 0,19 mmol) gota a gota a la mezcla de reacción durante 30 minutos a 10 °C, y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 5 horas. A continuación, se añadió carbonato de bis(4-nitrofenilo) (42 g, 0,13 mmol) a la mezcla de reacción a 25 °C, y se agitó a 25 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se purificó usando cromatografía ultrarrápida en columna C-18 (ACN del 30 % al 60 %/agua (con TEA al 0,05 % como modificador)), obteniéndose (4-nitrofenil)carbonato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)picolinamido)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**I-2h**). CL-EM: (EN,  $m/z$ ): $[M+Na]^+ = 732$

*Etapa H – síntesis del compuesto 2*

**[0192]** A (4-nitrofenil) carbonato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(5-ciano-6-(metilsulfonyl)picolinamido)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**I-2h**) (5,6 g, 7,9 mmol) y 1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-ol (0,213 g, 1,58 mmol) se le añadió DMF (56,0 ml). Se añadió MMAE (5,67 g, 7,89 mmol) a la reacción a 20 °C y la mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 16 horas. La mezcla resultante se purificó usando HPLC preparativa (MeCN al 10-95 %/agua, TFA al 0,05 %), obteniéndose ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-

metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)picolinamido)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**2**). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  9,86 (s, 1H), 9,14 (t,  $J$  = 6,0 Hz, 1H), 8,79 (d,  $J$  = 8,1 Hz, 1H), 8,38 (d,  $J$  = 8,1 Hz, 1H), 8,33 – 7,97 (m, 3H), 7,96 – 7,51 (m, 3H), 7,41 – 6,87 (m, 7H), 6,09 (s, 1H), 5,37 (dd,  $J$  = 26,2, 5,0 Hz, 1H), 5,04 (tt,  $J$  = 25,6, 12,6 Hz, 2H), 4,69 (d,  $J$  = 44,2 Hz, 1H), 4,59 – 4,16 (m, 5H), 4,15 – 3,90 (m, 2H), 3,80 – 3,43 (m, 8H), 3,36 – 2,95 (m, 9H), 2,94 – 2,58 (m, 2H), 2,50 – 2,20 (m, 3H), 2,19 – 1,79 (m, 3H), 1,65 – 1,37 (m, 3H), 1,32 – 1,18 (m, 9H), 1,06 – 0,96 (m, 7H), 0,89 – 0,59 (m, 20H).

Ejemplo 3: ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotinamido)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**3**)



Se disolvieron ácido 3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotinamido)propanoico (**x**) (0,027 g, 0,090 mmol) y HATU (0,037 g, 0,097 mmol) en 0,4 ml de DMF y se agitó durante 10 minutos. A continuación, se añadió **xiv** gota a gota, seguido de DIEA (0,034 ml, 0,19 mmol). La reacción se agitó durante 1,5 horas y a continuación, se purificó utilizando cromatografía en fase inversa (columna Waters CSH-C18, 19 × 250 mm × 5  $\mu$ m, acetonitrilo al 35-70 % en agua (con ácido fórmico al 0,1 % como modificador), obteniéndose ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(3-(5-ciano-6-(metilsulfonil)nicotinamido)propanamido)propanamido)propanamido)bencilo (**3**). CL-EM: (IEN,  $m/z$ ):  $[M+H]^+$  = 1288,665. **RMN <sup>1</sup>H** (600 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  9,12 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 7,66 (d,  $J$  = 8,4Hz, 2H), 7,4-7,06 (m, 9H), 6,66 (d,  $J$  = 8,5Hz, 1H), 6,55 (d,  $J$  = 7,75Hz, 1H), 5,18 (d,  $J$  = 12,18Hz, 1H), 5,04 (d,  $J$  = 12,18Hz, 1H), 4,71 (d,  $J$  = 4,16Hz, 1H), , 4,63 (m, 1H), 4,45 (c,  $J$  = 7,3Hz, 1H), 4,32-4,00 (m, 4H), 3,9-3,73 (m, 3H), 3,67 (m, 2H), 3,58-3,38 (m, 3H),

3,36 (s, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,28 (3, 3H), 3,18 (m, 1H), 3,01 (s, 3H) 2,86 (a, 3H), 2,63 (m, 1H), 2,52 (m, 1H), 2,46 (a, 2H), 2,17 (a, 2H) 1,99 (m, 1H) 1,9-1,6 (m, 4H), 1,59 (a, 1H), 1,48 (d,  $J=7,38\text{Hz}$ , 3H) 1,36 (m, 4H), 1,12 (d,  $J = 6,81\text{Hz}$ , 3H), 1,02 (d,  $J = 6,95\text{Hz}$ , 3H), 0,98 (m, 4H) 0,92-0,67 (m, 15H).

#### **Ejemplo 4 - Protocolos de conjugación**

**[0193] Protocolo 1:** Se desprotegió sacituzumab con un resto de Cys de cadena pesada modificado (S375C-dos cadenas pesadas) empleando un procedimiento de la bibliografía (documento WO2017072662, incorporado al presente documento por referencia) y se diluyó a 5 mg/ml con PBS. Se añadió DMSO a la solución de anticuerpo monoclonal (mAb), obteniéndose una solución de 90 % tampón y 10 % (v/v) de DMSO. Se añadió una solución 10 mM del ejemplo 1 (3,1 eq) en DMSO y la solución se mezcló a ta durante 2 h. El ADC resultante se purificó mediante AKTA™ (columna de desalado, tampón de histidina a pH 6,5, supervisión a 280 nm) y se caracterizó mediante CLEM (columna Agilent PLRP-S, 1000 Å, 5 µm, MeCN al 15-90 %/H<sub>2</sub>O con ácido fórmico al 0,1 %, temperatura de la columna de 80 °C) y SEC (Acquity UPLC Protein BEH SEC, 200 Å, 1,7 µm, fosfato de sodio 100 mM, NaCl 200 mM, azida al 0,02 %, IPA al 5 % añadido a la fase móvil para los ADC hidrófobos).

**[0194] Protocolo 2:** Se desprotegió sacituzumab con resto de Cys de la cadena pesada modificado (S375C) utilizando un procedimiento de la bibliografía (documento WO2017072662) y se diluyó hasta 5 mg/ml con PBS. El anticuerpo (20 mg) se intercambió con Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM, pH 8,3. El mAb se diluyó a ~10 mg/ml en un 90 % de tampón/10 % de DMF. Se añadió una solución 10 mM del ejemplo 3 (5,5 Eq) en DMF y la solución se mezcló a TA durante una noche. El ADC se purificó mediante AKTA™ (columna de desalado, tampón de histidina a pH 6,5, supervisión a 280 nm) y se caracterizó mediante CLEM (columna Agilent PLRP-S, 1000 Å, 5 µm, MeCN al 15-90 %/H<sub>2</sub>O con ácido fórmico al 0,1 %, temperatura de la columna de 80 °C) y SEC (Acquity UPLC Protein BEH SEC, 200 Å, 1,7 µm, fosfato de sodio 100 mM, NaCl 200 mM, azida al 0,02 %, IPA al 5 % añadido a la fase móvil para los ADC hidrófobos).

#### **Datos de ADC**

**[0195]** La tabla 1 a continuación demuestra la relación fármaco-anticuerpo (DAR) promedio y el porcentaje de agregación para los ADC utilizando los compuestos ilustrativos de la presente invención y el protocolo de conjugación anteriormente mencionado.

**Tabla 1**

| <b>Ejemplo de ADC</b> | <b>Ejemplo de enlazador-carga útil</b> | <b>Procedimiento de conjugación</b> | <b>DAR prom.</b> | <b>% de agregación*</b> |
|-----------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|------------------|-------------------------|
| <b>4</b>              | <b>1</b>                               | 1                                   | 1,9              | 0,70                    |
| <b>5</b>              | <b>2</b>                               | 1                                   | 1,8              | 0,98                    |
| <b>6</b>              | <b>3</b>                               | 2                                   | 1,8              | 1,3                     |

*Protocolo de ensayo de citotoxicidad del ADC N87*

**[0196]** Los ADC ilustrativos de la presente divulgación se sometieron a un ensayo de citotoxicidad basado en células (células NCI-N87) utilizando el siguiente protocolo:

Etapas 1: Siembra de las placas de 384 pocillos para el ensayo (45 ul por pocillo) el día 0

Las células (NCI-N87) se descongelaron rápidamente en un criovial incubándolas en un baño de agua a 37 °C durante <1 min hasta que sólo quedara un poco de hielo en el vial. El vial se retiró rápidamente y se limpió con etanol al 70 %. Las células se transfirieron del vial a un tubo de centrífuga estéril que contenía 8 ml de medio de cultivo celular precalentado (RPMI-1640 (n.º de cat. 30-2001) + FBS al 10 % + P/S al 1 %). El vial se descargó con 1 ml adicional de medio para asegurar la transferencia completa de células al tubo de centrífuga. A continuación, las células se centrifugaron a 150 g durante 5 minutos. Se aspiró el sobrenadante y se resuspendió el sedimento celular en 10-20 ml de medio de cultivo celular (RPMI-1640 (n.º de cat. 30-2001) + FBS al 10 % + P/S al 1 %). Se contaron las células utilizando Vi-cell y se prepararon 1.500 células/45 ul por pocillo. A continuación, se añaden 45 ul/pocillo de células en microplacas de 384 pocillos de poliestireno de perfil bajo y fondo plano tratadas con TC Corning® (Corning, n.º de cat. 3570) utilizando Standard Cassette Combi (si es necesario, dispensar 1 placa simulada a 20 ul para ayudar a normalizar Combi, a velocidad media). Las placas se centrifugaron a 150 g durante 30 segundos.

Etapas 2: Añadir los ADC el día 1. Los viales de los ADC y la solución madre de referencia y se extrajeron y dejaron descongelar a TA. Los tubos se centrifugaron a 2000 g durante 30 segundos. Las placas de ensayo de intermedio 10X (placa Waters, n.º de cat. 186002632) se prepararon empleando un manipulador de líquidos Bravo. Se realizaron diluciones seriadas utilizando un tampón a pH 6,5 de sacarosa al 9 % e histidina 10 mM. Se usó medio (sin células) para Max\_E.

A continuación, se añadieron 5 ul de solución madre 10X de la placa intermedia a la placa de ensayo utilizando un manipulador de líquidos Bravo empleando una velocidad muy baja, de modo que no se alterase la monocapa de células. Las placas se centrifugaron a 150 g durante 30 segundos.

Etapa 3: Ensayo CellTiter-Glo 2.0 (Promega, n.º de cat. G9242) en el día 7 (kit de CellTiter-Glo almacenado a -70 °C) Se descongeló el reactivo CellTiter-Glo® 2.0 a 4 °C durante una noche (el reactivo no se expuso a temperaturas superiores a 25 °C). El kit se equilibró a TA durante aproximadamente 30 minutos. Se añadió reactivo CellTiter-Glo® 2.0 (20 ul) a 50 ul de medio que contenía células utilizando Standard Cassette Combi. Los contenidos se mezclaron durante 2-3 minutos en un agitador orbital para inducir la lisis celular. Las placas se centrifugaron a 150 g durante 30 segundos. Las placas se dejaron en incubación a TA durante 5 minutos para estabilizar la señal luminiscente. La luminiscencia se registró para calcular un valor de  $CE_{50}$ , empleando como orientación un tiempo de integración de 0,25-1 segundos por pocillo.

Los ADC ilustrativos de la presente divulgación se analizaron en el ensayo de citotoxicidad de NCI-N87 anterior y los resultados se proporcionan en la tabla 2 a continuación:

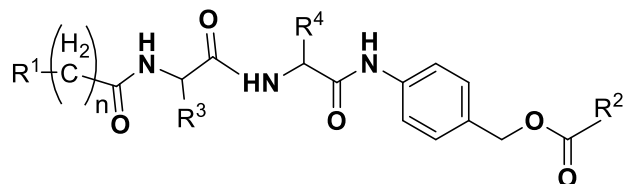
Tabla 2

| <b>Ejemplo de ADC</b> | <b><math>CE_{50}</math> (nM)</b> |
|-----------------------|----------------------------------|
| <b>4</b>              | 0,28                             |
| <b>5</b>              | 0,40                             |
| <b>6</b>              | 0,44                             |

**[0197]** Se apreciará que varias de las características anteriormente analizadas y otras características y funciones, o alternativas de las mismas, pueden combinarse deseablemente en muchos sistemas o aplicaciones diferentes. Se pretende que las siguientes reivindicaciones abarquen varias alternativas, modificaciones o mejoras actualmente no revistas o anticipadas de las mismas que pueden realizar los expertos en la materia.

## REIVINDICACIONES

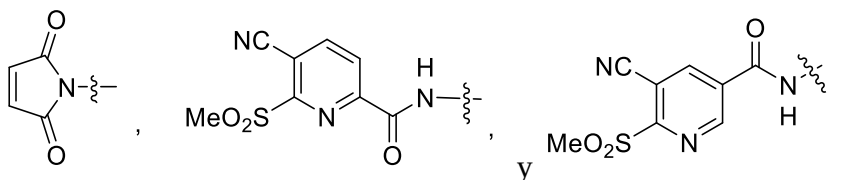
1. Un compuesto de fórmula I o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:



I

en donde:

R<sup>1</sup> se selecciona entre:



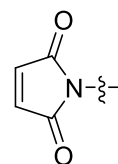
~~~~ la línea ondulada indica el sitio de unión covalente;

R² es un fármaco citotóxico;

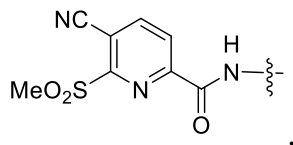
R³ y R⁴ representan independientemente alquilo C₁₋₃ o una cadena lateral de aminoácido de origen natural o no natural; y

n es un número entero de 1 a 4.

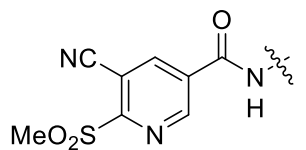
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R¹ es



3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R¹ es



4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R¹ es



5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R^2 es un fármaco citotóxico seleccionado entre antraciclinas, auristatinas, camptotecinas, duocarmicinas, etopósidos, maitansinoides, dímeros de pirrolobenzodiazepina, compuestos de unión al surco menor del ADN, taxanos, alcaloides de la vinca, enediínas, antitubulinas y alcaloides de la vinca.

6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde R^2 se selecciona entre auristatina T, auristatina E, auristatina F, fenilenodiamina, benzoil éster de auristatina E, éster de ácido 5-benzoilvalérico-AE, monometil auristatina F, monometil auristatina F lipófila, monometil auristatina E, lexitropsinas, duocarmicinas, paclitaxel y docetaxel, T67 (Tularik), vincristina, vinblastina, vindesina, vinorelbina, inhibidores de nicotinamida fosforibosiltransferasa (NAMPTi), tubulisina M, doxorubicina, morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, melfalán, metotrexato, mitomicina C, etopósido, análogo de CC-1065, calicheamicina, maitansina, un análogo de dolastatina 10, rizoxina, palitoxina, derivados de bacatina, análogos de taxanos (por ejemplo, epotilona A y B), nocodazol, colchicina y colcimida, estramustina, criptofisinas, cemadotina, maitansinoides, combretastatinas, discodermoida, tesirina y eleuterobina.

7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde R^2 es un fármaco de auristatina.

8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde R^2 es un fármaco de auristatina seleccionado entre auristatina E, auristatina F, fenilenodiamina, benzoil éster de auristatina E, éster de ácido 5-benzoilvalérico-auristatina E, monometil auristatina F, y monometil auristatina E.

9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde

R^2 es monometil auristatina E.

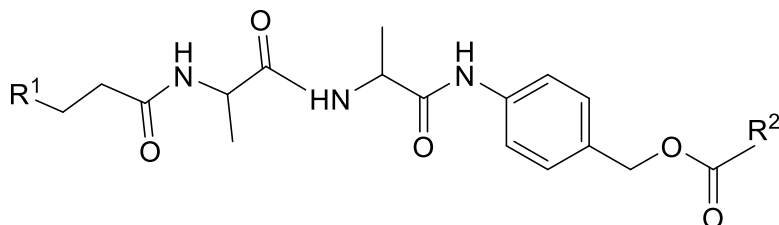
10. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde R^2 es un dímero de pirrolobenzodiazepina.

11. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde R^3 y R^4 se seleccionan independientemente entre alquilo C_{1-3} .

12. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde R^3 y R^4 son ambos CH_3 .

13. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde R^3 y R^4 son independientemente un resto de aminoácido de origen natural o no natural.

14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y sales, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende una estructura de fórmula II:

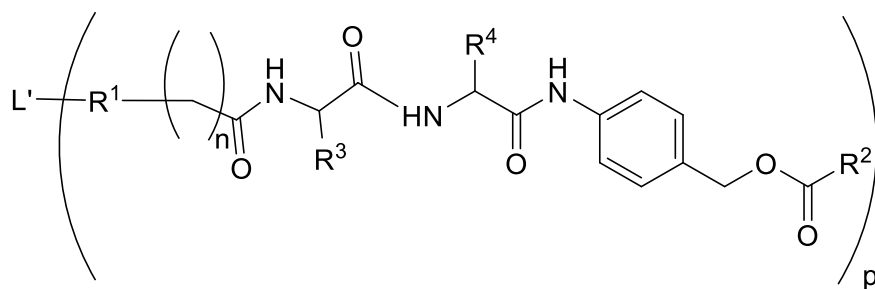


II

en donde R^1 y R^2 son como se describen en el presente documento.

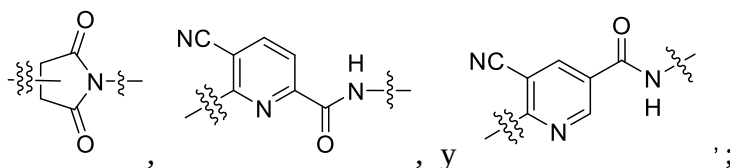
15. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, en donde R^2 es un fármaco de auristatina seleccionado entre auristatina E, auristatina F, fenilenodiamina, benzoil éster de auristatina E, éster de ácido 5-benzoilvalérico-AE, monometil auristatina F, monometil auristatina E o un dímero de pirrolobenzodiazepina.

16. Un compuesto de fórmula III o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo:



Fórmula III

en donde



R¹ se selecciona entre:

~~~~ una sola línea ondulada indica el sitio de unión covalente a  $-(CH_2)_n$ ;

~~~~ una línea ondulada doble indica el sitio de unión covalente a un azufre de un resto de cisteína de L'

R² es un fármaco citotóxico;

R³ y R⁴ representan independientemente alquilo C₁₋₃ o una cadena lateral de aminoácido de origen natural o no natural;

n es un número entero de 1 a 4;

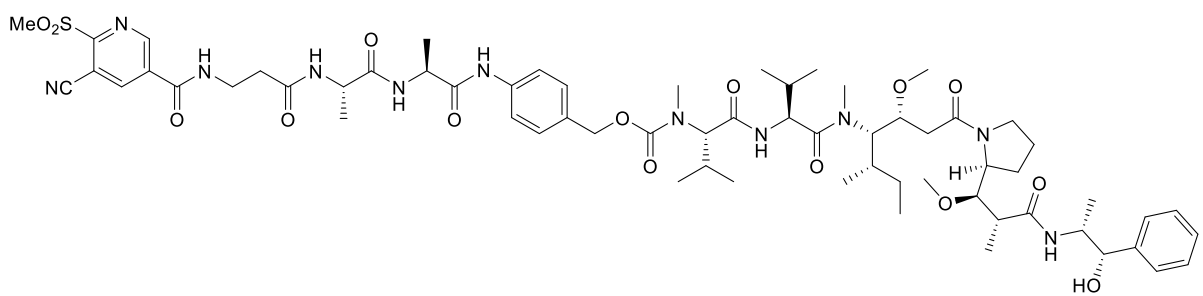
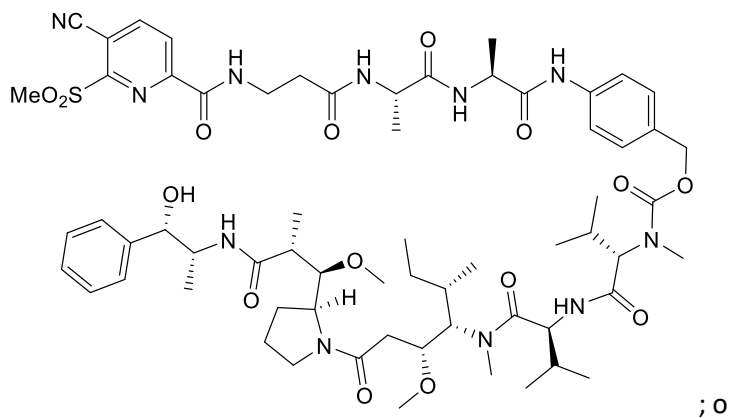
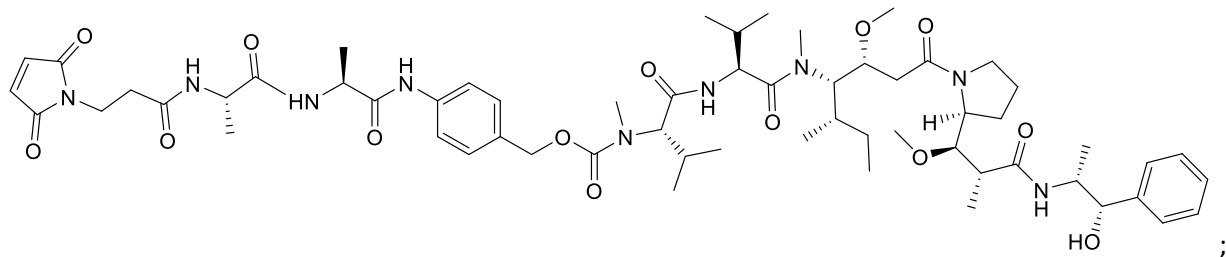
L' es un ligando que es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo; y

p es un número racional positivo de 1 a 24, incluidas fracciones y decimales.

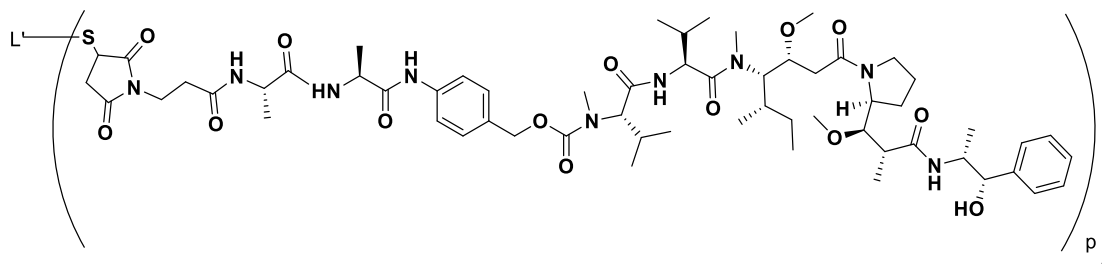
17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16, en donde R² es un fármaco de auristatina seleccionado entre auristatina E, auristatina F, fenilenodiamina, benzoil éster de auristatina E, éster de ácido 5-benzoilvalérico-AE, monometil auristatina F, monometil auristatina E o un dímero de pirrolobenzodiazepina, y R³ y R⁴ son ambos CH₃.

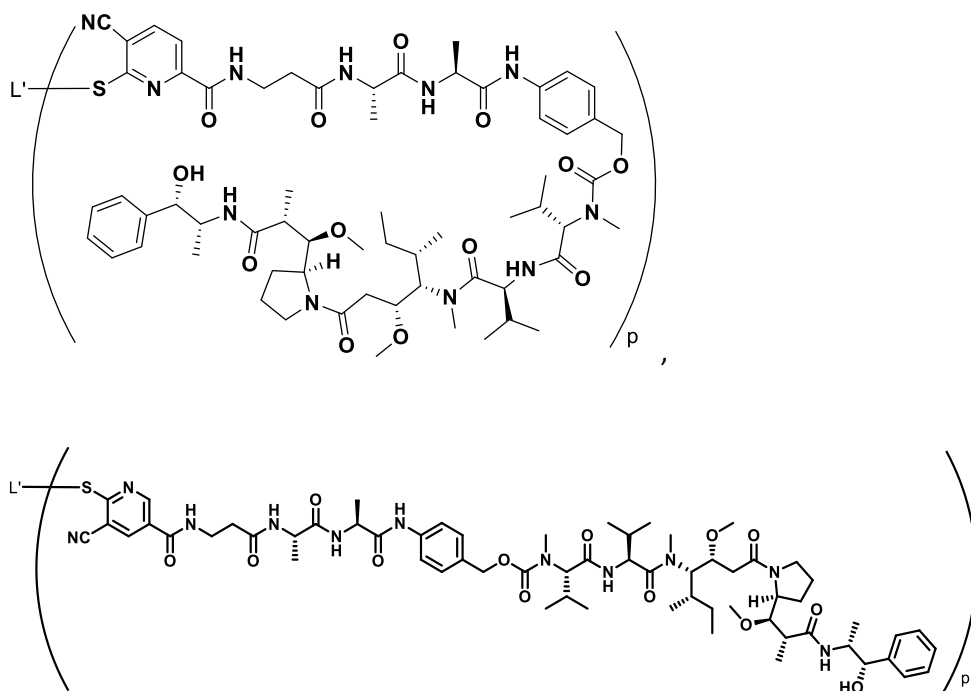
18. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16 y 17, en donde R² es monometil auristatina E.

19. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es



20. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 16 o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, seleccionados entre:





en donde L' es un anticuerpo y p es un número entero de 1 a 8.

21. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 19 o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde p es un número entero de 1 a 2.

22. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable.

23. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o de la composición farmacéutica de la reivindicación 22, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de cánceres o tumores.

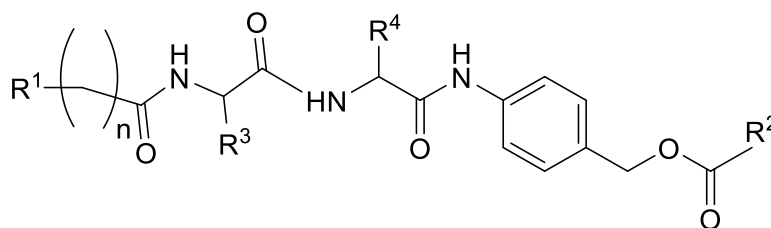
24. Un método de tratamiento o prevención de un cáncer seleccionado entre cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, cáncer de útero, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de uretra, cáncer de vejiga, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de endometrio, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de esófago, melanoma, glioma, neuroblastoma, sarcoma, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico y cáncer

de pulmón no microcítico), cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, leucemia, leucemia promielocítica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica), cáncer óseo, melanoma maligno, cáncer de tiroides, cáncer de páncreas y linfoma (por ejemplo, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin o linfoma anaplásico recurrente de células grandes) en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de las reivindicaciones 1-21 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto, sal o solvato del mismo.

25. Un método para tratar y/o prevenir un tumor, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz del compuesto o la composición farmacéutica que comprende el compuesto de las reivindicaciones 1-21 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o la composición farmacéutica de la reivindicación 22.

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

La presente divulgación se refiere a enlazadores-cargas útiles y a sales, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, que comprenden una estructura de fórmula I:



I

La divulgación también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y al uso de estos compuestos, intermedios de los mismos y composiciones en la prevención o el tratamiento de cánceres y/o tumores.