CONECTORES, CONECTORES-FÁRMACO, CONJUGADOS DE LOS MISMOS Y MÉTODOS PARA SU USO

REFERENCIA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[1] Esta solicitud invoca prioridad de la Solicitud de Patente Internacional Nº: PCT/CN2023/071778, presentada el 11 de enero de 2023, cuyo contenido se incorpora por completo en la presente a modo de referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[2] El uso de anticuerpos monoclonales (mAb) ha suscitado un gran interés para una administración dirigida de agentes citotóxicos a las células asociadas con enfermedades, tales como células cancerosas y otras células, en la forma de conjugados anticuerpo-fármaco (o ADC). El diseño de los conjugados anticuerpo-fármaco, que incluye la unión de un agente citotóxico, un agente inmunomodulador u otro agente (denominado en su conjunto “fármaco”) a un anticuerpo, típicamente por medio de un conector, conlleva considerar diversos factores. Estos factores incluyen la identidad y ubicación del grupo químico para la unión del fármaco, el mecanismo de liberación del fármaco, los elementos estructurales (si hubiera alguno) que provee liberación del fármaco, y la modificación estructural del fármaco libre liberado, si hubiera alguno. Si el fármaco es liberado hacia el entorno extracelular, la forma liberada del fármaco debe poder alcanzar su diana. Si el fármaco será liberado después de la internalización del anticuerpo, los elementos estructurales y el mecanismo de liberación del fármaco deben ser coherentes con el tránsito intracelular del conjugado.

[3] Otro factor importante para el diseño de conjugados anticuerpo-fármaco es la cantidad de fármaco que puede ser administrada por grupo de direccionamiento (es decir, el número de fármacos unido a cada grupo de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo), denominado carga del fármaco o nivel del fármaco). Históricamente, se suponía que las cargas de fármacos más altas eran superiores a las cargas de fármaco más bajas (por ejemplo, cargas de 8 versus 4 cargas). El fundamento era que los conjugados con cargas más altas proporcionarían más fármaco (por ejemplo, de agente citotóxico) a las células diana. Este fundamento contaba con suporte en las observaciones que los conjugados con un mayor nivel del fármacos eran más activos contra líneas celulares *in vitro*. Sin embargo, algunos estudios posteriores revelaron que esta suposición no se pudo confirmar en modelos en animales. Se observó que los conjugados con cargas de fármaco de 4 u 8 de determinadas auristatinas presentaban actividades similares en modelos en ratón. Véase, por ejemplo, Hamblett et al., *Clinical Cancer Res*., 10: 7063-70 (2004). Hamblett et al., informaron además que los ADC con mayores cargas eran depuradas más rápidamente de la circulación en modelos en animales. Esta depuración más rápida sugería una desventaja PK de las especies de mayor carga en comparación con las especies de menor carga. Véase Hamblett et al. Además, los conjugados de mayor carga tenían dosis máximas toleradas (MTD) en ratones, y como resultado de ello tenían índices terapéuticos informados más estrechos. Id. Por el contrario, se informó que los ADC con un nivel del

fármaco de 2 en sitios manipulados de un anticuerpo monoclonal tenían una PK e índices terapéuticos iguales o mejores en comparación con determinados ADC con un nivel de carga de 4. Por ejemplo, véase Junutula et al., *Clinical Cancer Res.*, 16: 4769 (2010). Por lo tanto, la tendencia más reciente comprende desarrollar ADC con niveles de fármacos bajos.

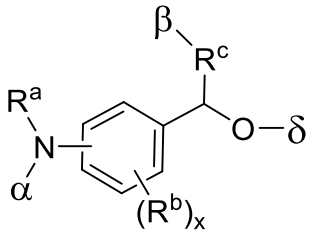
[4] Por ello, persiste la necesidad de formatos de conjugados anticuerpos-fármaco (y más generalmente de formatos de otros conjugados), que permitan un nivel del fármaco más alto, pero que conservan las demás características de conjugados con cargas menores, tales como propiedades PK favorables. Sorprendentemente, la presente invención aborda estas necesidades.

SÍNTESIS DE LA INVENCIÓN

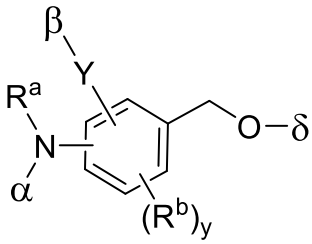
[5] En la presente se proveen Conectores que presentan las características hidrofílicas que mantienen las propiedades intrínsecas de los anticuerpos conjugados con los conectores y fármacos. En particular, los conectores ayudan a mantener las propiedades hidrofílicas de los anticuerpos cuando se conjugan con cargas de fármaco mayores y/o con fármacos hidrofóbicas y otros agentes. También se proveen fármaco-conectores y conjugados que comprenden los conectores, así como métodos para usar dichos conjugados en el tratamiento de cáncer y otras enfermedades.

[6] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores, o estereoisómeros o sales de los mismos, que comprenden:

(a) una unidad conectora que tiene entre 1 y 4 sitios de unión a una unidad de fármaco y que presenta una de las siguiente estructuras (i) o (ii):



(i)



(ii) ;

(b) por lo menos un grupo polar que comprende una unidad de polímero, opcionalmente una unidad sacárido, opcionalmente una unidad carboxilo y combinaciones de las mismas; y

(c) opcionalmente, un grupo extensor que tiene un sitio de unión a un grupo de direccionamiento;

en donde:

α— es un sitio de unión a un grupo enzimáticamente escindible;

β— βes un sitio de unión a dicho por lo menos un grupo polar;

δ— es H, un sitio de unión a por lo menos uno entre las unidades de fármaco, o un sitio de unión a un grupo conector unido a dicha por lo menos una de las unidades de fármaco;

la unidad de polímero comprende una poliamida, un poliéter o una combinación de los

mismos, en donde el poliéter comprende un grupo hidroxilo, un grupo polihidroxilo, un grupo sacárido, un grupo carboxilo o combinaciones de los mismos;

cada R^a es de manera independiente H o C_1-C_6 alquilo;

cada R^b es de manera independiente halo, C_{1-6} alquilo, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a por lo menos uno de los grupos polares;

x es 0, 1, 2, 3 o 4;

y es 0, 1, 2 o 3;

R^c es un enlace, -C(O)-, -S(O)-, $-SO_2$-, C_{1-6} alquileno, C_{1-6} alquinileno, triazolilo o combinaciones de los mismos; y

Y es un enlace, -O-, -S-, $-N(R^a)$-, -C(O)-, -S(O)-, $-SO_2$-C_1-C_6 alquileno, C_1-C_6 alquenileno, C_1-C_6 alquinileno, triazolilo, un grupo que contiene triazolilo o combinaciones de los mismos.

[7] En algunas formas de realización, se proveen compuestos de fármaco-conector, que comprenden un compuesto conector descrito en la presente donde por lo menos una unidad de fármaco está unida por medio del sitio de unión.

[8] En algunas formas de realización, se proveen conjugados que comprenden un grupo de direccionamiento unido a un compuesto de fármaco-conector descrito en la presente.

[9] En algunas formas de realización, se proveen composiciones farmacéuticas que comprenden un conjugado descrito en la presente y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[10] En algunas formas de realización, se proveen métodos para tratar a un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto un conjugado descrito en la presente o una composición farmacéutica descrita en la presente, en donde el sujeto padece un cáncer o una enfermedad autoinmune y el conjugado se une a un antígeno diana asociado con el cáncer o con la enfermedad autoinmune.

[11] Estos y otros aspectos de la presente invención se comprenderán más acabadamente con referencia a la siguiente descripción detallada, a los ejemplos no limitantes de formas de realización específicas y las figuras adjuntas.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

[12] La Figura 1 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra OVCAR-3;

[13] La Figura 2 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra PA-1;

[14] La Figura 3 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra NCI-H292;

[15] La Figura 4 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra MDA-MB-4688;

[16] La Figura 5 es un gráfico donde se compara la intensidad de fluorescencia promedio versus la concentración para la unión *in vitro* de mAb y ADC a células OVCAR-3;

[17] La Figura 6 es un gráfico donde se compara la viabilidad celular versus la concentración para los ADC sobre células OVCAR-3;

[18] La Figura 7 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra NCI-H441;

[19] La Figura 8 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra HCC4006;

[20] La Figura 9 es un gráfico donde se compara intensidad de fluorescencia promedio versus concentración para la unión *in vitro* de mAb y ADC a células CFPAC-1;

[21] La Figura 10 es un gráfico donde se compara intensidad de fluorescencia promedio versus concentración para la unión *in vitro* de mAb y ADC a células PC-3;

[22] La Figura 11 es un gráfico donde se compara la viabilidad versus la concentración para los ADC sobre CFPAC-1;

[23] La Figura 12 es un gráfico donde se compara la viabilidad versus la concentración para los ADC sobre PC-3;

[24] La Figura 13 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra CFPAC-1; y

[25] La Figura 14 es un gráfico donde se compara el volumen tumoral versus tiempo de tratamiento en pruebas *in vivo* de agentes antitumorales contra PC-3;

DEFINICIONES

[26] Para mayor conveniencia, a continuación se definen algunos términos utilizados en la Descripción, los ejemplos y las reivindicaciones. A menos que se indique de otra manera, o que implícito a partir del contexto, los siguientes términos y frases tienen el significado provisto a continuación. Las definiciones se proveen a fin de ayudar a describir formas de realización particulares, y no pretenden limitar la invención reivindicada, porque el alcance de la invención solamente está limitado por las reivindicaciones. A menos que se definan de otra manera, todos los términos científicos y técnicos usados en la presente tienen el mismo significado que le dan los especialistas en el arte al que concierne esta invención.

[27] Tal como se usa en la presente y a menos que se indique de otra manera, los términos "un" y "una" significan "uno", "por lo menos uno" o "uno o más". A menos que el contexto lo requiera de otro modo, los términos en singular utilizados en la presente incluirán las formas en plural y los términos en plural incluirán las formas en singular.

[28] A menos que el contexto requiera lo contrario, en toda la Descripción y en las reivindicaciones, las palabras ‘comprenden’, ‘que comprenden’ y semejantes se deben considerar en un sentido inclusivo a diferencia de un sentido exclusivo o exhaustivo; es decir, en el sentido de “que incluye, pero no se limita a”.

[29] Los términos “disminuido”, “reducir”, “reducido”, “reducción”, “disminución” e “inhibición” se utilizan todos en la presente para hacer referencia en general a una disminución en una cantidad estadísticamente significativa con relación a una referencia.

[30] Los términos "aumentado", "aumentar" o "mejorar" o "activar" se utilizan todos en la presente para hacer referencia en general a un aumento en una cantidad estadísticamente significativa con relación a una referencia.

[31] Tal como se usa en la presente, los términos "proteína" y "polipéptido" se utilizan indistintamente en la presente para designar una serie de residuos de aminoácidos unidos cada uno entre sí mediante enlaces peptídicos entre los grupos alfa-amino y carboxilo de residuos adyacentes. Los términos "proteína" y "polipéptido" también hacen referencia a un polímero de aminoácidos, inclusive aminoácidos modificados (por ejemplo, fosforilados, glicados, glucosilados, etc.) y análogos de aminoácidos, de manera independiente de su tamaño o función. Los términos "proteína" y "polipéptido" a menudo se usan co referencia a polipéptidos relativamente grandes, en tanto el término "péptido" a menudo se usa con referencia a polipéptidos pequeños, pero la utilización de estos términos se superponen en el arte. Los términos "proteína" y "polipéptido" se utilizan indistintamente en la presente cuando hacen referencia a un producto genético codificado y fragmentos del mismo. Por lo tanto, los ejemplos de polipéptidos o proteínas incluyen productos genéticos, proteínas naturales, homólogos, ortólogos, parálogos, fragmentos y otros equivalentes, variantes, fragmentos y análogos de todos los precedentes.

[32] Tal como se usa en la presente, un "epitope" se refiere a los aminoácidos que de manera convencional se unen de manera convencional por medio de un par de VH/VL de inmunoglobulina, tales como anticuerpos, porciones de unión a antígeno de los mismos y otros agentes de unión descritos en la presente. Otros agentes de unión comprenden andamiajes que no son de anticuerpos. Un epitope se puede formar sobre un polipéptido a partir de aminoácidos contiguos o aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por plegamiento terciario de una proteína. Los epitopes que están formados por aminoácidos contiguos típicamente se conservan con la exposición a solventes desnaturalizantes, mientras que los epitopes que se forman debido a pliegues terciarios típicamente se pierden con el tratamiento con solventes desnaturalizantes. Un epitope típicamente incluye por lo menos 3, y más habitualmente por lo menos 5, aproximadamente 9 o aproximadamente 8-10 aminoácidos, que presentan una conformación espacial única. Un epitope define el sitio de unión mínimo de un anticuerpo, porciones de unión a antígeno del mismo y otro agente de unión, y por consiguiente representa la diana de la especificidad de un anticuerpo, de una porción de unión a antígeno del mismo o de otro agente de unión basado en inmunoglobulina. En el caso de un anticuerpo de dominio único, el epitope representa la unidad de estructura que se une a un dominio variable aislado.

[33] Tal como se usa en la presente, la frase "se une específicamente" se refiere a la capacidad de un agente de unión (por ejemplo, un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo) descrito en la presente para unirse a una diana con un valor KD de 10^{-5} M (10000 nM) o menos, por ejemplo, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M o menos. La frase "se une específicamente" como se usa en la presente también se refiere a la capacidad de una

molécula (por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o un andamiaje que no es de anticuerpo) descrito en la presente para unirse a una diana con un valor KD de 10^{-5} M (10000 nM) o menos, por ejemplo, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M o menos. Una unión específica puede ser afectada, por ejemplo, por la afinidad y avidez del anticuerpo, una porción de unión a antígeno u otro agente de unión y la concentración del polipéptido diana. Una persona especialista en el arte can puede determinar la condiciones apropiadas bajo las cuales los anticuerpos, porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión que se describen en la presente se unen de manera selectiva a una molécula diana usando cualquier método adecuado, tal como titulación de un anticuerpo o un agente de unión en un ensayo de unión celular adecuado. Un agente de unión que se une de manera específica a una molécula diana no será desplazado por un competidor que no es similar. En determinadas formas de realización, se considera que un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo u otro agente de unión se une de manera específica a una molécula diana cuando reconoce de manera preferencial a su molécula diana en una mezcla compleja de proteínas y/o de macromoléculas. Una unión específica puede ser afectada, por ejemplo, por la afinidad y avidez del anticuerpo, una porción de unión a antígeno un andamiaje que no es de anticuerpo y por la concentración del polipéptido diana. A persona especialista en el arte puede determinar las condiciones apropiadas bajos las cuales los anticuerpos, porciones de unión a antígeno y los andamiajes que no son de anticuerpo descritos en la presente se unen de manera selectiva a una molécula diana usando cualquier método adecuado, tal como titulación de un anticuerpo o de un andamiaje que no es de anticuerpo en un ensayo de unión celular adecuado. Una molécula que se une de manera específica a una molécula diana no será desplazada por un competidor que no es similar. En determinadas formas de realización, se considera que un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o un andamiaje que no es de anticuerpo se une de manera específica a una molécula diana cuando reconoce de manera preferencial a su molécula diana en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas.

[34] A menos que se indique de otra manera, el término "alquilo", por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, saturado, sustituido o no sustituido que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ejemplo, "-C_1-C_5 alquilo", "-C_1-C_8 alquilo" o "-C_1-C_{10}" alquilo se refieren a un grupo alquilo que tiene entre 1 y 5, entre 1 y 8 o entre 1 y 10 átomos de carbono, respectivamente). Los ejemplos incluyen metilo (Me, -CH_3), etilo (Et, -CH_2CH_3), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, -$CH_2CH_2CH_3$), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, -$CH(CH_3)_2$), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, -$CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-metil-1-propilo (i-Bu, i-butilo, -$CH_2CH(CH_3)_2$), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, -$CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-metil-2-propilo (t-Bu, t-butilo, -$C(CH_3)_3$), 1-pentilo (n-pentilo, -$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-pentilo (-$CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$), 3-pentilo (-$CH(CH_2CH_3)_2$), 2-metil-2-butilo (-$C(CH_3)_2CH_2CH_3$), 3-metil-2-butilo (-$CH(CH_3)CH(CH_3)_2$), 3-metil-1-butilo (-$CH_2CH_2CH(CH_3)_2$), 2-metil-1-butilo (-$CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$), 1-hexilo (-

$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2-hexilo (-$CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$), 3-hexilo (-$CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$), 2-metil-2-pentilo (-$C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$), 3-metil-2-pentilo (-$CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$), 4-metil-2-pentilo (-$CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$), 3-metil-3-pentilo (-$C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$), 2-metil-3-pentilo (-$CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$), 2,3-dimetil-2-butilo (-$C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$) y 3,3-dimetil-2-butilo (-$CH(CH_3)C(CH_3)_3$.

[35] A menos que se indique de otra manera, el término "alquenilo", por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un hidrocarburo de C_2-C_8 de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido, con por lo menos un sitio de insaturación (es decir, un doble enlace sp^2 carbono-carbono). Los ejemplos incluyen, pero en un sentido no taxativo: etileno o vinilo (-$CH=CH_2$), alilo (-$CH_2CH=CH_2$), ciclopentenilo (-C_5H_7), y 5-hexenilo (-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$).

[36] A menos que se indique de otra manera, el término “alquinilo”, por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un hidrocarburo de C_2-C_8, de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido, con por lo menos un sitio de insaturación (es decir, un triple enlace sp carbono-carbono). Los ejemplos incluyen, pero en un sentido no taxativo: acetileno y propargilo.

[37] A menos que se indique de otra manera, el término "alquileno" se refiere a un radical hidrocarburo de 1-8 átomos de carbono saturado, de cadena lineal o ramificada, y que tiene dos centro de radicales monovalentes derivado mediante la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo átomo de carbono o de dos átomos diferentes, de un alcano parental. Los radicales alquileno típicos incluyen, pero en un sentido no taxativo: metileno (-CH_2-), 1,2-etilo (-CH_2CH_2-), 1,3-propilo (-$CH_2CH_2CH_2$-), 1,4-butilo (-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-) y semejantes.

[38] A menos que se indique de otra manera, el término “alquenileno" se refiere a un radical hidrocarburo de 2-8 átomos de carbono insaturado, de cadena lineal o ramificada, y que tiene dos centros de radicales monovalentes derivados mediante la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo átomo de carbono o de dos átomos de carbono diferentes de un alqueno parental. Los radicales alquenileno típicos incluyen, pero en un sentido no taxativo: 1,2-etileno (-CH=CH-).

[39] A menos que se indique de otra manera, el término “alquinileno" se refiere a un radical hidrocarburo de 2-8 átomos de carbono insaturado, de cadena lineal o ramificada o cíclica, y que tiene dos centros de radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo átomo de carbono o de dos átomos de carbono diferentes de un alquino parental. Los radicales alquinileno típicos incluyen, pero en un sentido no taxativo: acetileno, propargilo y 4-pentinilo.

[40] A menos que se indique de otra manera, el término "heteroalquilo”, por sí solo o en combinación con otro término, se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, sustituido o no sustituido, o combinaciones del mismo, saturado y de uno a diez, preferiblemente uno a tres, heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N, Si y S, y en donde los átomos de nitrógeno y azufre opcionalmente pueden estar oxidados y el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede estar cuaternizado. El/los heteroátomo/s de O,

N y S se pueden ubicar en cualquier posición interna del grupo heteroalquilo (es decir, como parte de la cadena principal) o en la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. El heteroátomo de Si se puede ubicar en cualquier posición del grupo heteroalquilo, incluida la posición en la cual el grupo alquilo se une al resto de la molécula. Los ejemplos de heteroalquilo incluyen los siguientes:-$CH_2CH_2OCH_3$, -$CH_2CH_2NHCH_3$, -$CH_2CH_2N(CH_3)CH_3$, -$CH_2SCH_2CH_3$, $CH_2CH_2S(O)CH_3$, -$CH_2CH_2S(O)_2CH_3$ y -$Si(CH_3)_3$. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tales como, por ejemplo, -CH_2NHOCH_3 y $CH_2OSi(CH_3)_3$. En algunas formas de realización, un C_1 a C_4 heteroalquilo tiene entre 1 y 4 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos y un C_1 a C_3 heteroalquilo tiene entre 1 y 3 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos.

[41] A menos que se indique de otra manera, los términos "heteroalquenilo" y "heteroalquinilo" por sí mismos o en combinación con otro término, se refieren a un alquenilo o alquinilo de cadena lineal o ramificada estable, sustituido o no sustituido, que tiene entre uno y diez, preferiblemente entre uno y tres, heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N, Si y S, y en donde los átomos de nitrógeno y azufre opcionalmente pueden estar oxidados y el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede estar cuaternizado. El/los heteroátomo/s de O, N y S se pueden ubicar en cualquier posición interna del grupo heteroalquenilo o heteroalquinilo (es decir, como parte de la cadena principal) o en la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. El heteroátomo de Si se puede ubicar en cualquier posición de un grupo heteroalquenilo o heteroalquinilo, incluida la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula.

[42] A menos que se indique de otra manera, el término "heteroalquileno", por sí solo o como parte de otro sustituyente se refiere a un grupo divalente sustituido o no sustituido derivado de un heteroalquilo (como se describió precedentemente), ejemplificado por -$CH_2CH_2SCH_2CH_2$- y -$CH_2SCH_2CH_2NHCH_2$-. En algunas formas de realización, un C_1 a C_4 heteroalquileno tiene entre 1 y 4 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos y un C_1 a C_3 heteroalquileno tiene entre 1 y 3 átomos de carbono y 1 o 2 heteroátomos. En los grupos heteroalquileno, los heteroátomos también pueden ocupar cualquiera o ambos extremos terminales de la cadena. Adicionalmente, en los grupos conectores de alquileno y heteroalquileno, ninguna orientación del grupo conector está implicada.

[43] A menos que se indique de otra manera, los términos "heteroalquenileno" y "heteroalquinileno" por sí mismos o como parte de otro sustituyente, se refieren un a grupo divalente sustituido o no sustituido derivado de un heteroalquenilo o heteroalquinilo (como se describió precedentemente). En algunas formas de realización, un C_2 a C_4 heteroalquenileno o heteroalquinileno tiene entre 1 y 4 átomos de carbono. En los grupos heteroalquenileno y heteroalquinileno, los heteroátomos también pueden ocupar cualquiera o ambos extremos terminales de la cadena. Adicionalmente, en los grupos conectores alquileno y heteroalquenileno y heteroalquinileno, ninguna orientación del grupo conector está implicada.

[44] A menos que se indique de otra manera, el término "C_3-C_8 carbociclo", por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un anillo carbocíclico monocíclico o bicíclico saturado o insaturado no aromático sustituido o no sustituido, monovalente de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros, sustituido o no sustituido, derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo del anillo de un sistema de anillos parental. Los -C_3-C_8 carbociclos representativos incluyen, pero en un sentido no taxativo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, 1,4-ciclohexadienilo, cicloheptilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, ciclooctilo y ciclooctadienilo.

[45] A menos que se indique de otra manera, el término "C_3-C_8 carbociclo", por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un grupo C_3-C_8 carbociclo sustituido o no sustituido definido precedentemente, en donde otro de los átomos de hidrógeno de los grupos carbociclo es reemplazado por un enlace (es decir, es divalente).

[46] A menos que se indique de otra manera, el término "C_3-C10 carbociclo", por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un anillo carbocíclico monocíclico, bicíclico o tricíclico saturado o insaturado no aromático sustituido o no sustituido, monovalente de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 miembros, sustituido o no sustituido, derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo del anillo de un sistema de anillos parental. Los -C_3-C10 carbociclos representativos incluyen, pero en un sentido no taxativo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, 1,4-ciclohexadienilo, cicloheptilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, ciclooctilo y ciclooctadienilo. Los -C_3-C_{10} carbociclos pueden incluir además carbociclos de ciclooctino fusionados, tales como los compuestos de ciclooctino fusionados que se divulgan en la Publicación Internacional N° WO 2011/136645 (cuya divulgación se incorpora en la presente a modo de referencia), incluyendo BCN (biciclo[6.1.0]nonino) y DBCO (dibenzociclooctino).

[47] A menos que se indique de otra manera, el término "C_3-C_8 heterociclo", por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un sistema de anillos monocíclico o bicíclico sustituido o no sustituido, aromático o no aromático sustituido o no sustituido que tiene entre 3 y 8 átomos de carbono (también denominados miembros del anillo) y uno a cuatro miembros de heteroátomos del anillo que se seleccionan de manera independiente entre N, O, P o S, y derivado por eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo del anillo de un sistema de anillos parental. Uno o más de los átomos de N, C o S en el heterociclo pueden estar oxidados. El anillo que incluye al heteroátomo puede ser aromático o no aromático. A menos que se especifique de otra manera, el heterociclo se une a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que resulte en una estructura estable. Los ejemplos representativos de un C_3-C_8 heterociclo incluyen, pero en un sentido no taxativo, pirrolidinilo, azetidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, benzofuranilo, benzotiofeno, indolilo, benzopirazolilo, pirrolilo, tiofenilo (tiofeno), furanilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, pirimidinilo, piridinilo, pirazinilo, piridazinilo, isotiazolilo e isoxazolilo. A menos que se indique de otra

manera, el término “heterocarbociclo” es sinónimo del término “heterociclo”, que se describe en la presente.

[48] A menos que se indique de otra manera, el término “C_3-C_8 heterociclo”, por sí solo o como parte de otro término, se refiere a un grupo C_3-C_8 heterociclo sustituido o no sustituido definido precedentemente, en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo heterociclo está reemplazado por un enlace (es decir, es divalente).

[49] A menos que se indique de otra manera, el término “arilo”, por sí solo o como parte de otro término, significa un radical hidrocarburo carbocíclico monovalente aromático sustituido o no sustituido (preferiblemente de 6-14 carbono) de 6-20 átomos de carbono derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillos aromático parental. Algunos grupos arilo están representados en los ejemplos de estructuras como “Ar”. Los grupos arilo típicos incluyen, pero en un sentido no taxativo, radicales derivados de benceno, benceno sustituido, naftaleno, antraceno, bifenilo y semejantes. Un ejemplo del grupo arilo es un grupo fenilo.

[50] A menos que se indique de otra manera, el término "arileno”, por sí solo o como parte de otro término, es un grupo arilo no sustituido o sustituido definido precedentemente en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo arilo está reemplazado por un enlace (es decir, es divalente) y puede ser en las orientaciones orto, meta o para.

[51] A menos que se indique de otra manera, los términos “heteroarilo” y "heterociclo" se refieren a un sistema de anillos en el cual uno o más átomos del anillo es un heteroátomo, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre. Un radical heterociclo comprende entre 1 y 20 átomos de carbono y entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados entre N, O, P y S. Un heterociclo puede ser un monociclo que tiene entre 3 y 7 miembros del anillo (entre 2 y 6 átomos de carbono y entre 1 y 3 heteroátomos que se seleccionan entre N, O, P y S) o un biciclo que tiene entre 7 y 10 miembros del anillo (entre 4 y 9 átomos de carbono y entre 1 y 3 heteroátomos que se seleccionan entre N, O, P y S), por ejemplo: un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6] .

[52] A menos que se indique de otra manera, el término "heteroarileno”, por sí solo o como parte de otro término, es un grupo heteroarilo no sustituido o sustituido definido precedentemente, en donde uno de los átomos de hidrógeno del grupo heteroarilo está reemplazado por un enlace (es decir, es divalente).

[53] A menos que se indique de otra manera, el término “carboxilo” se refiere a COOH o COO^-M^+, donde M^+ es un catión.

[54] A menos que se indique de otra manera, el término “oxo” se refiere a (C=O).

[55] A menos que se indique de otra manera, los términos “alquilo sustituido" y "arilo sustituido” se refieren a un alquilo y arilo, respectivamente, en el cual uno o más átomos de hidrógeno se han reemplazado de manera independiente por un sustituyente. Los sustituyentes típicos incluyen, pero en un sentido no taxativo, -X, $-R^{10}$, $-O^-$, $-OR^{10}$, $-SR^{10}$, $-S^-$, $-NR^{10}_2$, $-NR^{10}_3$, $=NR^{10}$, $-CX_3$, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-NR^{10}C(=O)R^{10}$, -

$C(=O)R^{10}$, $-C(=O)NR^{10}{}_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R^{10}$, $-OS(=O)_2OR^{10}$, $-S(=O)_2NR^{10}$, $-S(=O)R^{10}$, $-OP(=O)(OR^{10})_2$, $-P(=O)(OR^{10})_2$, $-PO^-{}_3$, $-PO_3H_2$, $-AsO_2H_2$, $-C(=O)R^{10}$, -C(=O)X, $-C(=S)R^{10}$, $-CO_2R^{10}$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR^{10}$, $C(=O)SR^{10}$, $C(=S)SR^{10}$, $C(=O)NR^{10}{}_2$, $C(=S)NR^{10}{}_2$ o $C(=NR^{10})NR^{10}{}_2$, donde cada X es de manera independiente un halógeno:-F, -Cl, -Br o -I; y cada R^{10} es de manera independiente -H, $-C_1$-C_{20} alquilo, $-C_6$-C_{20} arilo, $-C_3$-C_{14} heterociclo, un grupo protector o una unidad de un profármaco. Los sustituyentes típicos también incluyen (=O). Los grupos alquileno, carbociclo, arileno, heteroalquilo, heteroalquileno y heterociclo que se describieron precedentemente también pueden estar similarmente sustituido.

[56] A menos que se indique de otra manera, el término “grupo polihidroxilo” se refiere a un grupo alquilo, alquileno o carbociclo que incluye dos o más, o tres o más, sustituciones de grupos hidroxilo por hidrógeno en los átomos de carbono de la cadena de carbono. En algunas formas de realización, un grupo polihidroxilo comprende por lo menos tres grupos hidroxilo. En algunas formas de realización, un grupo polihidroxilo comprende átomos de carbono que contiene un solo grupo hidroxilo por átomo de carbono. Un grupo polihidroxilo puede contener uno o más átomos de carbono que no están sustituidos con hidroxilo. Un grupo polihidroxilo puede incluir sustituciones en cada átomo de carbono con un grupo hidroxilo. Los ejemplos de grupo polihidroxilo incluye formas lineales (acíclicas) o cíclicas de monosacáridos tales como sacáridoes de C6 o C5, tales como glucosa, ribosa, galactosa, manosa, arabinosa, 2-desoxiglucosa, gliceraldehído, eritrosa, treosa, xilosa, lixosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, aldosa y cetosa, ácidos de sacáridoes tales como ácido glucónico, ácido aldónico, ácido uronico o ácido ulosónico, y sacáridoes de aminas, tales como glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina y N-acetilgalactosamina. En algunas formas de realización, el grupo polihidroxilo incluye formas de disacáridos y polisacáridos lineales o cíclicos.

[57] A menos que se indique de otra manera debido al contexto, "opcionalmente sustituido" se refiere a un alquilo, alquenilo, alquinilo, alquilarilo, arilalquilo heterociclo, arilo, heteroarilo, alquilheteroarilo, heteroarilalquilo u otros sustituyente, unidades o grupos definidos o divulgados en la presente, en donde uno o más átomos de hidrógeno de dicho sustituyente, unidad o grupo ha sido reemplazado opcionalmente por diferentes unidades o grupos, o en donde una cadena de carbonos alicíclicas que comprenden uno de estos sustituyentes, unidades o grupos está interrumpida por el reemplazo de uno o más átomos de carbono de dicha cadena con diferentes unidades o grupos. En algunos aspectos, un grupo funcional alqueno reemplaza dos átomos de carbono sp3 contiguos de un sustituyente alquilo, siempre que el radical carbono de la unidad alquilo no está reemplazado, de modo que el alquilo opcionalmente sustituido es un sustituyente alquilo insaturado.

[58] Un sustituyente opcional que reemplaza uno o más hidrógenos en cualquiera de los sustituyentes, unidades o grupos anteriores que se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en arilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, ciano, halógeno, nitro, fluoroalcoxi y amino, incluyendo grupos amino mono, di y trisustituidos, y derivados protegidos

de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en -X, -O', -SR' , $-NH_2$, -N(R')(R"), $-N(R")_3$, =NR, $-CX_3$, -CN, $-NO_2$, - NR'C(=O)H, -NR'C(=O)R, -NR'C(=O)R", -C(=O)R', $-C(=O)NH_2$, -C(=O)N(R')R", $-S(=O)_2R"$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R"$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R"$, $-S(=O)_2OR'$, -S(=O)R", -OP(=O)(O')(O"), $-OP(OH)_3$, -P(=O)(O')(O"), $-PO_3H_2$, -C(=O)R', -C(=S)R", $-CO_2R'$, -C(=S)O", -C(=O)SR', -C(=S)SR', $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)N(R')(R")_2$, $-C(=NR')NH_2$, -C(=NR')N(R')R" y sales de los mismos, en donde cada X se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en un halógeno: -F, -Cl, -Br e -I; y en donde cada R" se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en C_1-C_{20} alquilo, C_2-C_{20} alquenilo, C_2-C_{20} alquinilo, C_6-C_{24} arilo, C_3-C_{24} heterociclilo (inclusive C_5-C_{24} heteroarilo), un grupo protector y una unidad de un profármaco o dos R" definen junto con el heteroátomo al cual están unidos, un heterociclilo; y R' es hidrógeno o R", en donde R" se selecciona del grupo que consiste en C_1-C_{20} alquilo, C_6-C_{24} arilo, C_3-C_{24} heterociclilo (inclusive C_5-C_{24} heteroarilo) y un grupo protector.

[59] Típicamente, los sustituyentes opcionales se seleccionan del grupo que consiste en -X, -OH, -O", -SH, -SR", $-NH_2$, -NH(R"), $-NR'(R")_2$, $-N(R")_3$, =NH, =NR", $-CX_3$, -CN, $-NO_2$, - NR'C(=O)H, NR'C(=O)R", $-CO_2H$, -C(=O)H, -C(=O)R", $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NR'R"- $-S(=O)_2R"$, - $S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R"$, $-S(=O)_2NH_2$, - $S(=O)_2N(R')(R")$, $-S(=O)_2OR'$, -S(=O)R", -C(=S)R", - $C(=S)NH_2$, -C(=S)N(R')R", $-C(=NR')N(R")_2$ y sales de los mismos, en donde cada X se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en –F y -Cl, R" típicamente se selecciona del grupo que consiste en C_1-C_6 alquilo, C_6-C_{10} arilo, C_3-C_{10} heterociclilo (inclusive C_5-C_{10} heteroarilo), y un grupo protector; y R' es de manera independiente hidrógeno, C_1-C_6 alquilo, C_6-C_{10} arilo, C_3-C_{10} heterociclilo (inclusive C_5-C_{10} heteroarilo) y un grupo protector, que se seleccionan de manera independiente entre R". Más típicamente, los sustituyentes se seleccionan del grupo que consiste en -X, -R", -OH, -O", $-NH_2$, -NH(R"), $-N(R")_2$, $-N(R")_3$, $-CX_3$, - NO_2, -NHC(=O)H, -NHC(=O)R", $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NHR", $-C(=O)N(R")_2$, $-CO_2H$, $-CO_2R"$, - C(=O)H, -C(=O)R", $-C(=O)NH_2$, -C(=O)NH(R"), $-C(=O)N(R")_2$, $-C(=NR')NH_2$, -C(=NR')NH(R"), - $C(=NR')N(R")_2$, un grupo protector y sales de los mismos, en donde cada X es -F, R" se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en C_1-C_6 alquilo, C_6-C_{10} arilo, C_5-C_{10} heteroarilo y un grupo protector; y R' se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, C_1-C_6 alquilo y un grupo protector, que se seleccionan de manera independiente entre R".

[60] Los compuestos de la invención, o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden contener uno o más centros de asimetría y por lo tanto pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que se definen, en términos de estereoquímica absoluta, como (*R*)- o (*S*)- o, como (D)- o (L)- para los aminoácidos. La presente invención abarcará todos estos isómeros posibles, así como sus formas racémicas y ópticamente puras. Los isómeros ópticamente activos (+) y (-), (*R*) y (*S*), o (D) y (L) se pueden preparar usando sintones quirales o reactivos quirales o se pueden resolver usando técnicas convencionales, por ejemplo, cromatografía y cristalización fraccionada. Las técnicas

convencionales para la preparación/el aislamiento de los enantiómeros individuales incluyen síntesis quiral a partir de un precursor ópticamente puro apropiado o la resolución del racemato (o el racemato de una sal o derivado) usando, por ejemplo, una cromatografía líquida de alta presión quiral (HPLC). Cuando los compuestos que se describen en la presente contienen dobles enlaces olefínicos, u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique de otra manera, se tiene la intención de incluir a los compuestos tanto como isómeros geométricos E y Z. Asimismo, se incluyen también todas las formas tautoméricas.

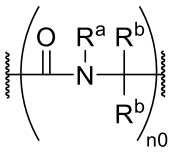
[61] Un “estereoisómero” hace referencia a un compuesto formado por los mismos átomos unidos a los mismos enlaces, pero que tiene una estructura tridimensional diferente, que no es intercambiable. La presente invención abarca diversos estereoisómeros y mezclas de los mismos e incluye los “enantiómeros”, término que hace referencia a dos estereoisómeros cuyas moléculas son imágenes especulares que no se superponen entre sí. La presente invención también incluye “diastereómeros”, que se refiere a dos o más estereoisómeros de un compuesto que tienen diferentes configuraciones en uno o más de los estereocentros equivalentes y no son imágenes especulares entre sí.

[62] Aunque las estructuras que se muestran en toda la descripción se muestran con estereocentros específicos, se considera que la descripción incluirá variaciones en dichos estereocentros. Por ejemplo, la estructura de exatecano se puede mostrar en la configuración (S,S), pero también se prevé que el diastereómero (R,S) de exatecano puede encontrarse en una forma de realización separada de un conjugado descrito en la presente.

[63] A menos que se indique de otra manera, el término “unidad de fármaco” o fármaco se refiere a agentes citotóxicos (tales como agentes o fármacos quimioterapéuticos), agentes inmunomoduladores, ácidos nucleicos (inclusive ARNip), agentes inhibidores del crecimiento, toxinas (por ejemplo, toxinas proteicas, toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de los mismos), isótopos radioactivos, PROTAC y otros compuestos que son activos contra las células diana cuando se administran a dichas células.

[64] A menos que se indique de otra manera, el término “unidad de polímero” se refiere a una unidad polimérica compuesta por subunidades repetitivas. Los ejemplos de unidades de polímeros incluyen poliamidas y poliéteres. En algunas formas de realización, la unidad de polímero se selecciona entre una poliamida opcionalmente sustituida, un poliéter sustituido o combinaciones de los mismos. En formas de realización adicionales, la unidad de polímero se selecciona entre

(i) una poliamida opcionalmente sustituida que comprende la siguiente fórmula

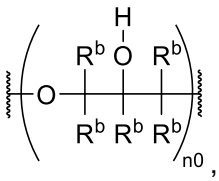


,

o un estereoisómero de la misma, en donde cada R^a es de manera

independiente H o C_{1-6} alquilo y cada R^b es de manera independiente H o C_{1-6} alquilo, y n^0 es de manera independiente 2-26;

(ii) un poliéter sustituido que comprende la siguiente fórmula



o un estereoisómero del mismo, en donde cada R^b es de manera independiente H o C_{1-6} alquilo, y n^0 es de manera independiente 2-26; o

(iii) combinaciones de los mismos.

[65] A menos que se indique de otra manera, el término “unidad sacárido” o “grupo sacárido” se refiere a un grupo carbohidrato. Los ejemplos de unidades de sacárido incluyen glucósidos.

[66] A menos que se indique de otra manera, el término “unidad carboxilo” o “grupo carboxilo” se refiere a un grupo que incluye un grupo carbonilo [-C(O)-], un grupo carboxilo [-CO_2H] y/o un grupo carboxilato [-CO_2M, M se refiere a un contraión catiónico].

[67] A menos que se indique de otra manera, el término “grupo extensor” se refiere a una unidad conectora que conecta el grupo de direccionamiento con el grupo enzimáticamente escindible.

[68] A menos que se indique de otra manera, el término “poliamida” se refiere a grupos poliméricos compuestos por subunidades repetitivas que contienen enlaces amida.

[69] A menos que se indique de otra manera, el término “poliéter” se refiere a grupos poliméricos compuestos por subunidades repetitivas que contienen enlaces éter.

- A menos que se indique de otra manera, el término “grupo enzimáticamente escindible” se refiere a un grupo que es escindible por la acción de un proceso o reacción metabólico dentro de una célula o en el entorno extracelular, con lo cual se rompe la unión covalente entre una unidad de fármaco (por ejemplo, un agente citotóxico) y la unidad conectora o una porción de la misma, dando como resultado una unidad de fármaco libre, o un metabolito de la unidad de conector-fármaco, disociada del resto de la unidad conectora.

[70] A menos que se indique de otra manera, el término “grupo de direccionamiento” se refiere a una macromolécula, tal como una proteína, polipéptido o péptido, que se une específicamente a una molécula diana. Los ejemplos de grupos de direccionamiento incluyen anticuerpos.

[71] La frase "sal farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en la presente, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto (por ejemplo, un conector, un fármaco-conector o un conjugado). El compuesto típicamente contiene por lo menos un grupo amino, y por lo tanto se pueden formar sales de adición ácida con este grupo amino. Los ejemplos de sales incluyen, pero en un sentido no taxativo, sulfatos, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, ioduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato,

salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tannato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, linoleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metansulfonato, etansulfonato, bencensulfonato, p-toluensulfonato y pamoato (es decir, sales 1,1′ metilen-bis-(2-hidroxi -3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede comprender la inclusión de otra molécula, tal como un ion acetato, un ion succinato u otro contraíón. El contraíón puede ser cualquier porción orgánica o inorgánica que estabiliza la carga sobre el compuesto parental. Además, una sal farmacéuticamente aceptable puede comprender más de un átomo cargado en su estructura. En los casos donde múltiples átomos cargados forman parte de la sal farmacéuticamente aceptable, puede comprender múltiples contraiones. Por ende, una sal farmacéuticamente aceptable puede comprender uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

[72] Tal como se usa en la presente, el término "que consiste esencialmente en" se refiere a los elementos requeridos por una forma de realización dada. El término permite la presencia de elementos que no afectan materialmente las características básicas y novedosas o funcionales de dicha forma de realización.

[73] Tal como se usa en la presente, el término "que consiste en" se refiere a composiciones, métodos y componentes respectivos de los mismos que se describen en la presente, que son exclusivos de cualquier elemento no mencionado en la descripción de la forma de realización.

[74] Además de su uso en los ejemplos, o donde se indicara de otra manera, todos los números que expresan cantidades de ingredientes o condiciones de reacción usados en la presente se interpretan como modificadas en todos los casos por el término “aproximadamente”. El término “aproximadamente” cuando se usa con referencia a porcentajes significa +/- 1%.

[75] Los términos "estadísticamente significativo" o "significativamente" se refieren a la significancia estadística y en general se refiere a una diferencia de dos desviaciones estándar (2SD), por encima o por debajo de un valor de referencia.

[76] En la presente se definen otros términos en la descripción de los diversos aspectos de la invención.

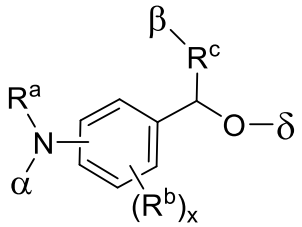
DESCRIPCIÓN DETALLADA

[77] En la presente se proveen compuestos conectores que comprenden una unidad conectora, por lo menos un grupo polar y, opcionalmente, por lo menos uno entre un grupo enzimáticamente escindible y un grupo extensor. Dichos compuestos conectores pueden presentar características hidrofílicas que conservan las propiedades intrínsecas de los anticuerpos conjugados con los conectores y fármacos. En particular, los conectores ayudan a mantener las propiedades hidrofílicas de los anticuerpos cuando se conjugan con cargas de fármaco mayores y/o con fármacos hidrofóbicas y otros agentes.

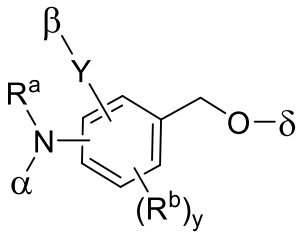
[0078] En algunas formas de realización, se provee un compuesto conector, o un

estereoisómero o sal del mismo, que comprende:

(a) una unidad conectora que tiene entre 1 y 4 sitios de unión para una unidad de fármaco y que tiene una de las siguientes estructuras (i) o (ii):



(i)



(ii) ;

(b) por lo menos un grupo polar que comprende una unidad Polímero, opcionalmente una unidad sacárido, opcionalmente una unidad carboxilo, y combinaciones de las mismas; y

(c) opcionalmente un grupo extensor que tiene un sitio de unión para un grupo de direccionamiento;

donde:

α— es un sitio de unión a un grupo enzimáticamente escindible;

β— es un sitio de unión al por lo menos un grupo polar;

δ— es H, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a un grupo conector unido a por lo menos una de las unidades de fármaco;

la unidad Polímero comprende una poliamida, un poliéter, o una combinación de los mismos, donde el poliéter comprende un grupo hidroxilo, un grupo polihidroxilo, un grupo sacárido, un grupo carboxilo, o combinaciones de los mismos;

cada R^a es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

cada R^b es independientemente halo, C_{1-6} alquilo, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a por lo menos uno de los grupos polares;

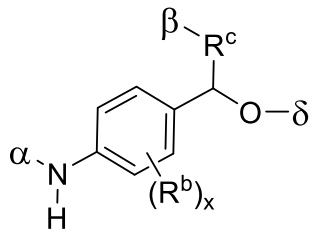
x es 0, 1, 2, 3 o 4;

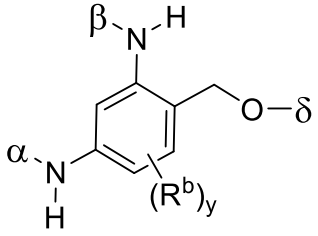
y es 0, 1, 2 o 3;

R^c es un enlace, -C(O)-, -S(O)-, $-SO_2$-, C_{1-6} alquileno, C_{1-6} alquinileno, triazolilo o combinaciones de los mismos; y

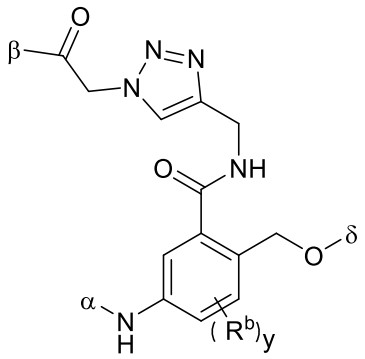
Y es un enlace, -O-, -S-, -N(R^a)-, -C(O)-, -S(O)-, $-SO_2$-C_1-C_6 alquileno, C_1-C_6 alquenileno, C_1-C_6 alquinileno, un grupo que contiene triazolilo, o combinaciones de los mismos.

[0079] En algunas formas de realización, la unidad conectora tiene una de las siguientes estructuras (i-a), o (ii-a) , o (iii-a):





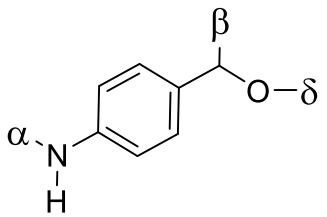
(i-a) (ii-a) ,



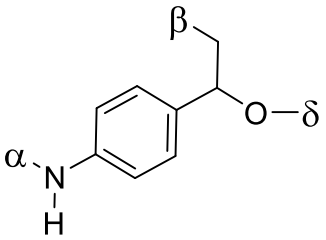
(iii-a),

o un estereoisómero o sal de las mismas.

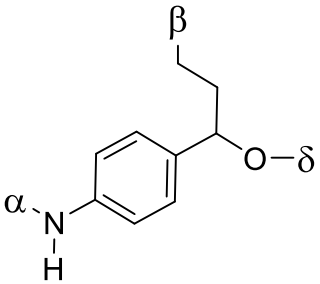
[0080] En algunas formas de realización, la unidad conectora tiene una de las siguientes estructuras (i-b), (i-c), (i-d), (i-e) o (i-f):



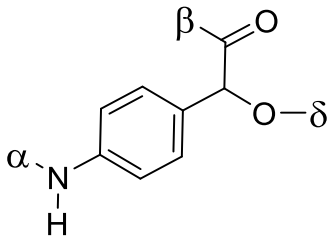
(i-b)



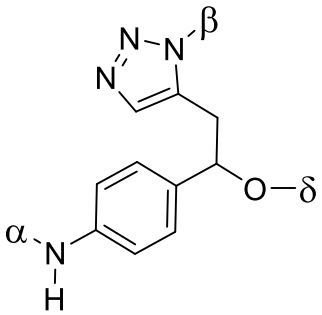
(i-c) ,



(i-d)



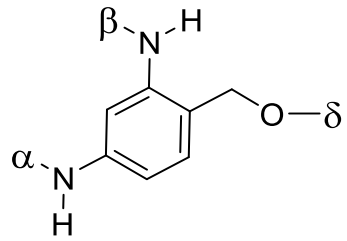
(i-e) ,



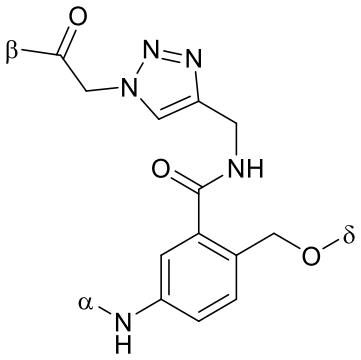
(i-f)

o un estereoisómero o sal de las mismas.

[0081] En algunas formas de realización, la unidad conectora tiene la siguiente estructura (ii-b) o (iii-b):



(ii-b),



(iii-b),

o un estereoisómero o sal de las mismas.

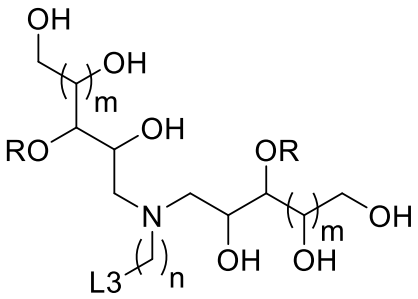
Grupos polares

[0082] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores como se describe precedentemente, o estereoisómeros o sales de los mismos, donde el por lo menos un grupo polar comprende por lo menos una unidad sacárido que tiene la siguiente fórmula:

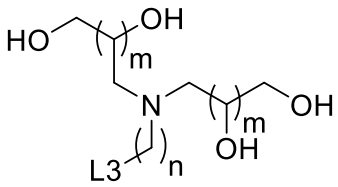
$$L3–N(CH_2 – (CH(XR))_k – X_1(X_2))_2 \qquad (X)$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: cada X se selecciona independientemente entre NH y O; cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, acetilo, un monosacárido, un disacárido, y un polisacárido; cada X_1 se selecciona independientemente entre CH_2 y C(O); cada X_2 se selecciona independientemente entre H, OH y OR; k es entre 1 y 10; y L3 es un punto de unión al resto del grupo polar.

[0083] En algunas formas de realización, la por lo menos una unidad sacárido descrita precedentemente tiene una de las siguientes estructuras (XII) o (XIII):



(XII) o



(XIII) ,

o un estereoisómero o sal de las mismas, donde: cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, un monosacárido, un disacárido y un polisacárido; m es entre 1 y 8; y n es entre 0 y 4.

[0084] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores como se describe precedentemente, o estereoisómeros o sales de los mismos, que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:

(a) $$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25} \qquad (XX)$$

o un estereoisómero una sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o

C_1-C_3 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y n20 es entre 2 y 26; o

(b) $$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25} \quad \text{(XXI)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno; uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} es un polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; y n20 es entre 2 y 26; o

(c) $$\sim R^{20}\text{-}[\text{-}R^{26}\text{-}[R^{29}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}R^{29}]_{n21}\text{-}R^{27}\text{-}NR^{24}R^{25}]_{n27} \quad \text{(XXII)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{26} y R^{27} se seleccionan en forma opcional e independiente entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C_1-C_{12} alquileno-$N(CH_3)$-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)- y -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-; uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada R^{29} se selecciona en forma opcional e independiente entre -C(O)-, -NH-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno-, -NH-C_1-C_6 alquileno-, -C_1-C_6 alquileno-NH-, -C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -NH(CO)-C_1-C_6alquileno-, -$N(CH_3)$-(CO)-C_1-C_6alquileno-, -NH(CO)NH-, y triazol; n20 es entre 2 y 26; n21 es entre 1 y 4; y n27 es

entre 1 y 4, o

(d) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[\text{-}C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^{b}, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} es un enlace, C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-; R^{22} es C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{N} es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y cada n20 es independientemente entre 2 y 26, o

(e) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[\text{-}C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}CO_2R^{26}$ (XXIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^{b}, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, o -C_1-C_3alquileno[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{N} es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; R^{26} es H o C_1-C_4 alquilo; y cada n20 es independientemente entre 2 y 26, con la condición de que por lo menos un R^{α} o R^{N} es -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; o

(f) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N\text{-}(R^{23}\text{-}NR^{24}R^{25})_2$ (XXV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^{b}, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{N} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; cada R^{23} es independientemente C_1-C_6 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28},

donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o $-NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y cada n20 es independientemente entre 2 y 26.

[0085] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores como se describe precedentemente, que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:

(a) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XX)

o un estereoisómero o una sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII), con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y n20 es entre 2 y 26; o

(b) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno; uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} es un polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; y n20 es entre 2 y 26;

(c) $\sim R^{20}\text{-}[\text{-}R^{26}\text{-}[R^{29}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}R^{29}]_{n21}\text{-}R^{27}\text{-}NR^{24}R^{25}]_{n27}$ (XXII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{26} y R^{27} se seleccionan en forma opcional e independiente entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C_1-C_{12} alquileno-N(CH_3)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)- y -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-; uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada R^{29} se selecciona en forma opcional e independiente entre -C(O)-, -NH-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno-, -NH-C_1-C_6 alquileno-, -C_1-C_6 alquileno-NH-, -C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -NH(CO)-C_1-C_6alquileno-, -N(CH_3)-(CO)-C_1-C_6alquileno-, -NH(CO)NH-, y triazol; n20 es entre 2 y 26; n21 es entre 1 y 4; y n27 es entre 1 y 4, o

(d) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[\text{-}C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^{b}, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} es un enlace, C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-; R^{22} es C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{N} es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII), con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y cada n20 es independientemente entre 2 y 26, o

(e) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[\text{-}C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}CO_2R^{26}$ (XXIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^{b}, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, o -C_1-C_3alquileno[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{N} es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII), con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; R^{26} es H o C_1-C_4 alquilo; y cada n20 es independientemente entre 2 y 26, con la condición de que por lo menos un R^{α} o R^{N} es -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; o

(f) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N\text{-}(R^{23}\text{-}NR^{24}R^{25})_2$ (XXV)

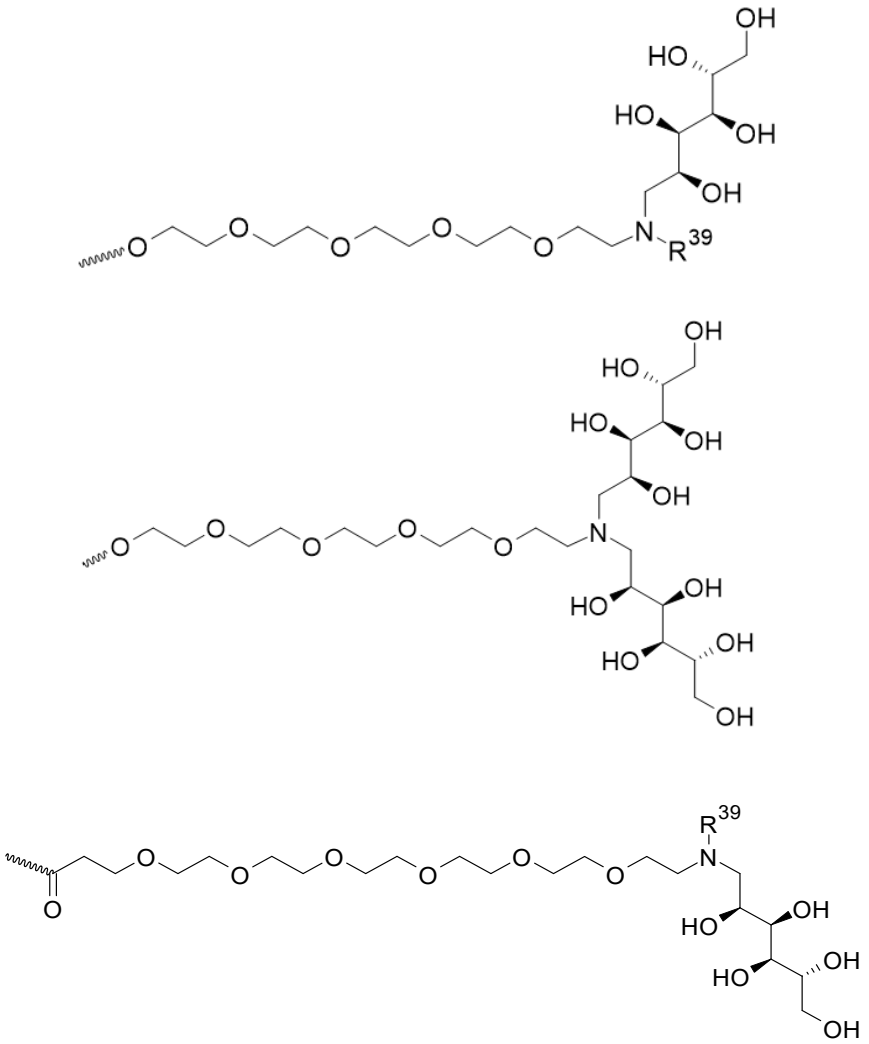
o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^{b}, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{N} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; cada R^{23} es independientemente C_1-C_6 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII), con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y cada n20 es independientemente entre 2 y 26.

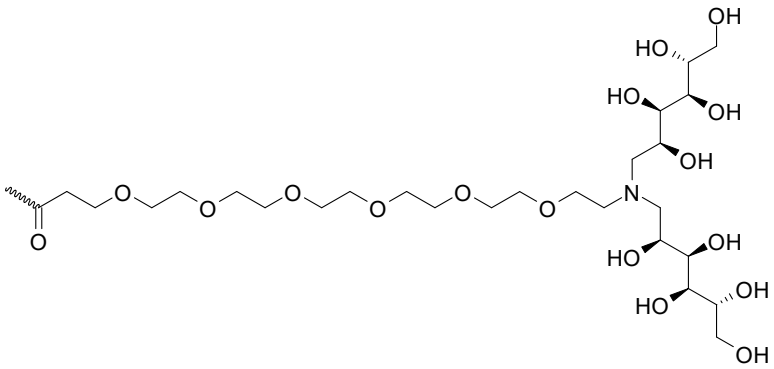
[0086] En algunas formas de realización, el compuesto conector comprende un grupo polar donde R^{24} y R^{25} no son ambos H. Por ejemplo, en algunas formas de realización R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H y un grupo polihidroxilo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H.

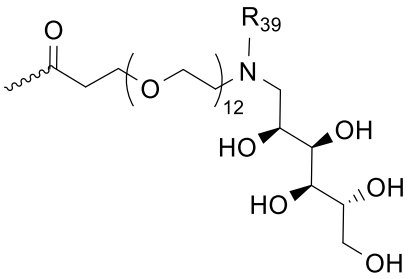
[0087] En algunas formas de realización, el grupo polihidroxilo descrito precedentemente es un

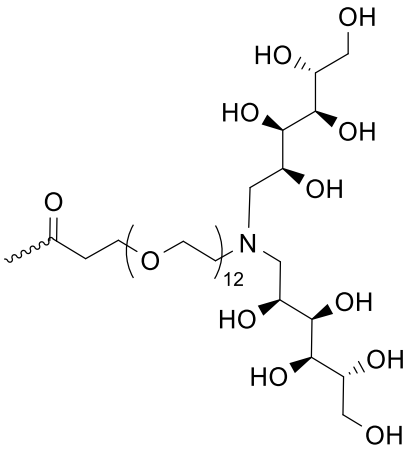
monosacárido lineal, opcionalmente seleccionado entre un sacárido C6 o C5, un sacárido ácido y un sacárido amino. En formas de realización más específicas, el grupo polihidroxilo es un sacárido C6 o C5 seleccionado entre glucosa, ribosa, galactosa, manosa, arabinosa, 2-desoxiglucosa, gliceraldehído, eritrosa, treosa, xilosa, lixosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, aldosa, y cetosa; o el grupo polihidroxilo es un sacárido ácido seleccionado entre ácido glucónico, ácido aldónico, ácido urónico y ácido ulosónico; o el grupo polihidroxilo es un sacárido amino seleccionado entre glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina.

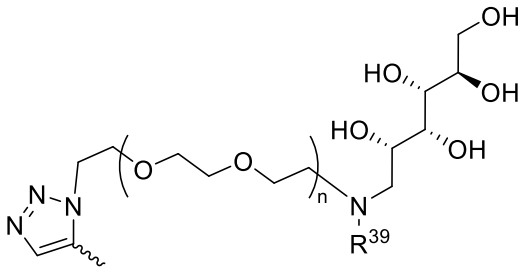
[0088] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

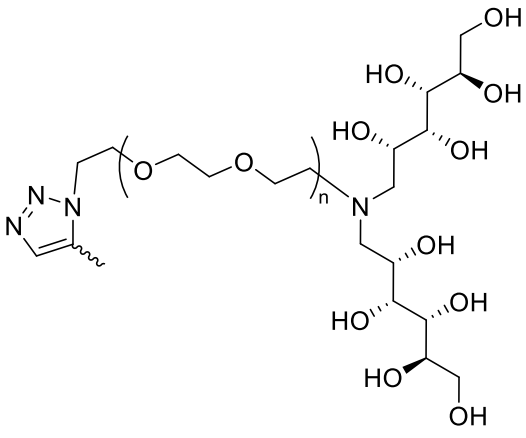


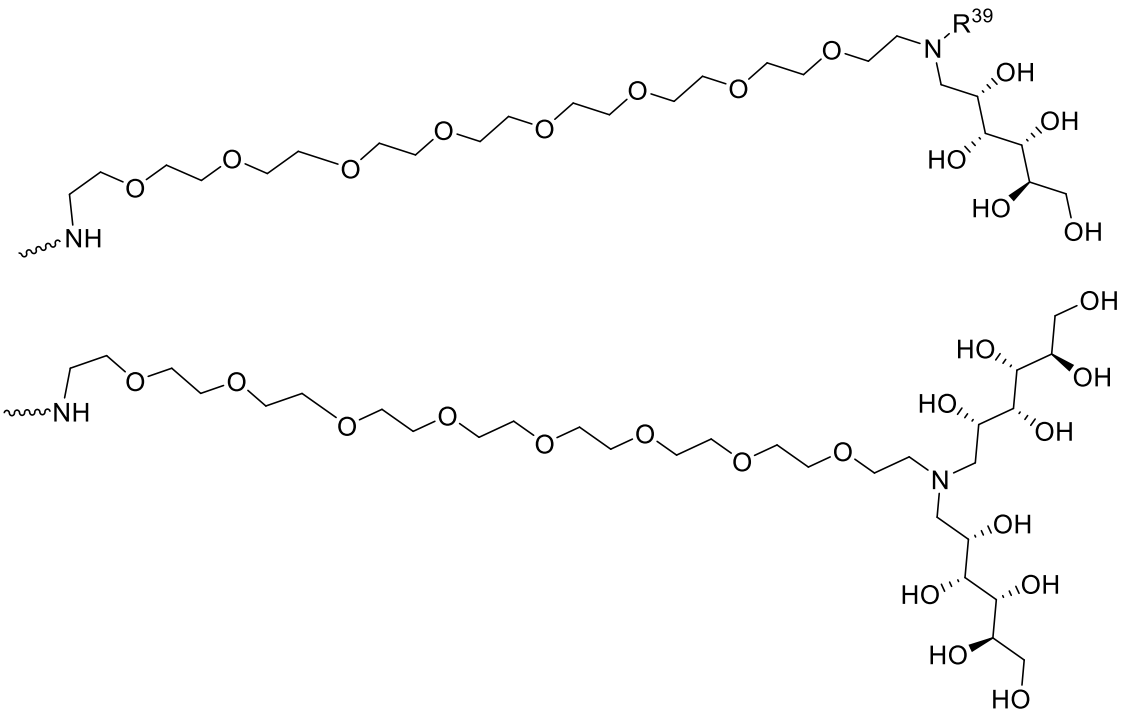


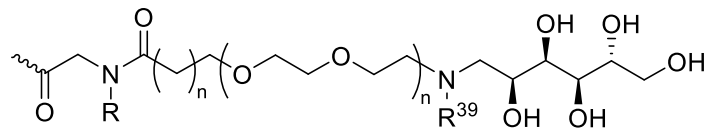


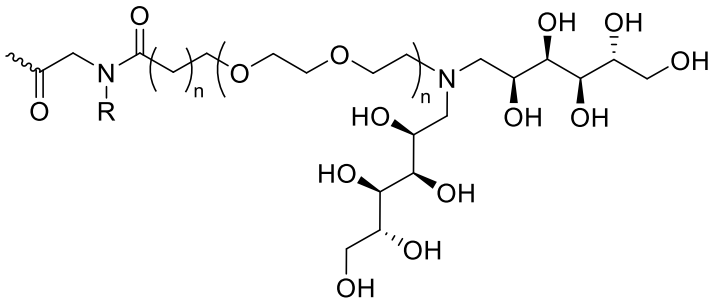


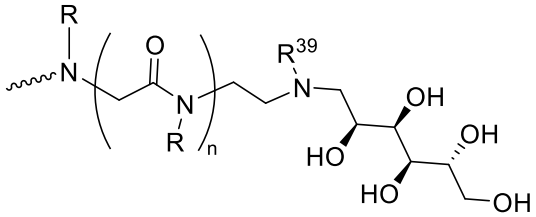


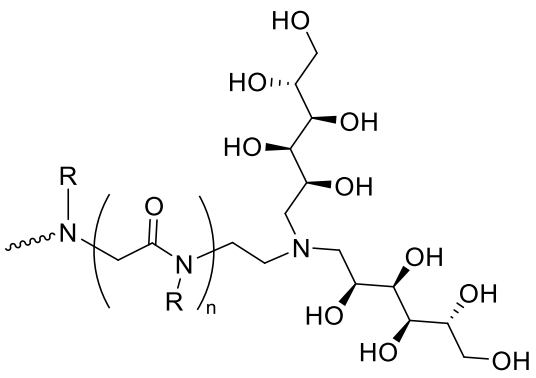


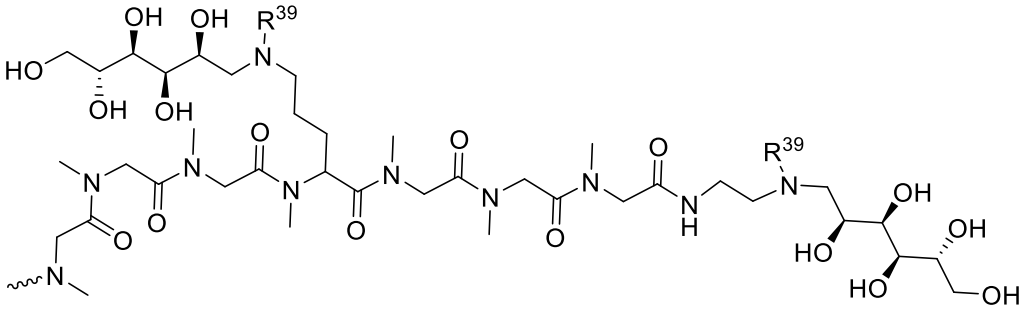


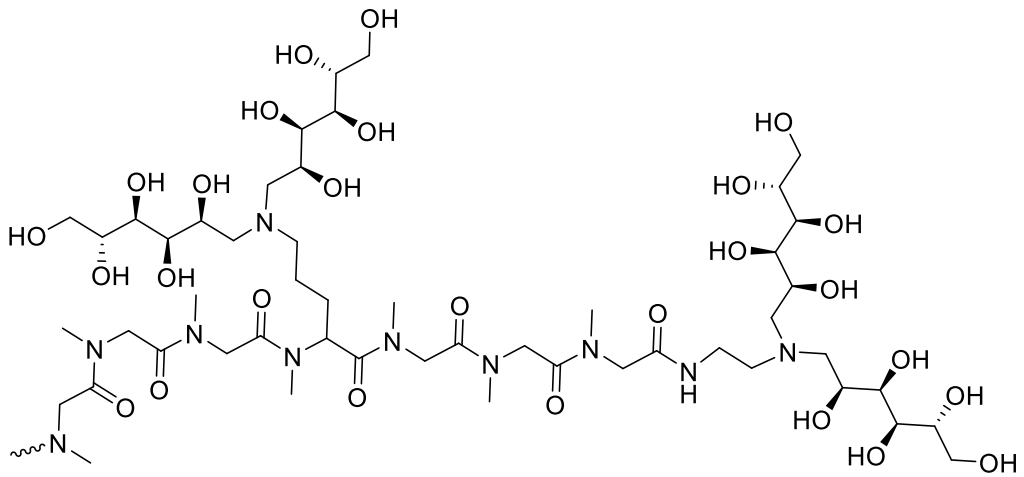


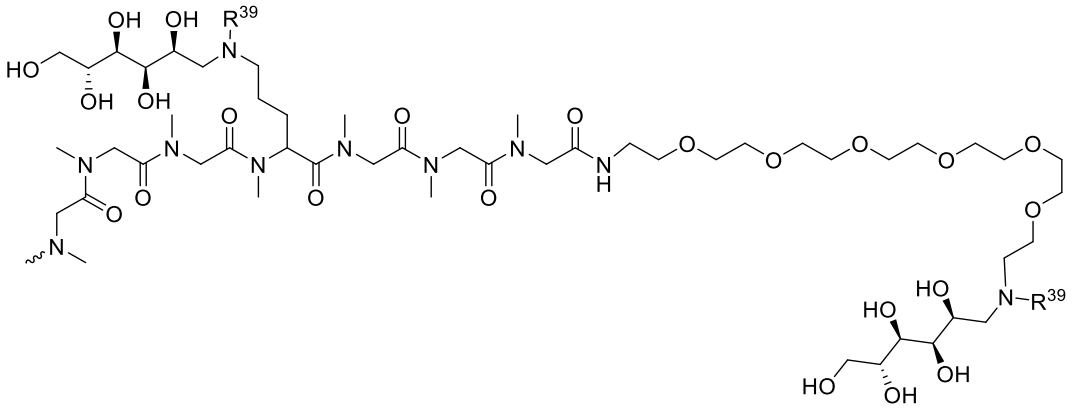


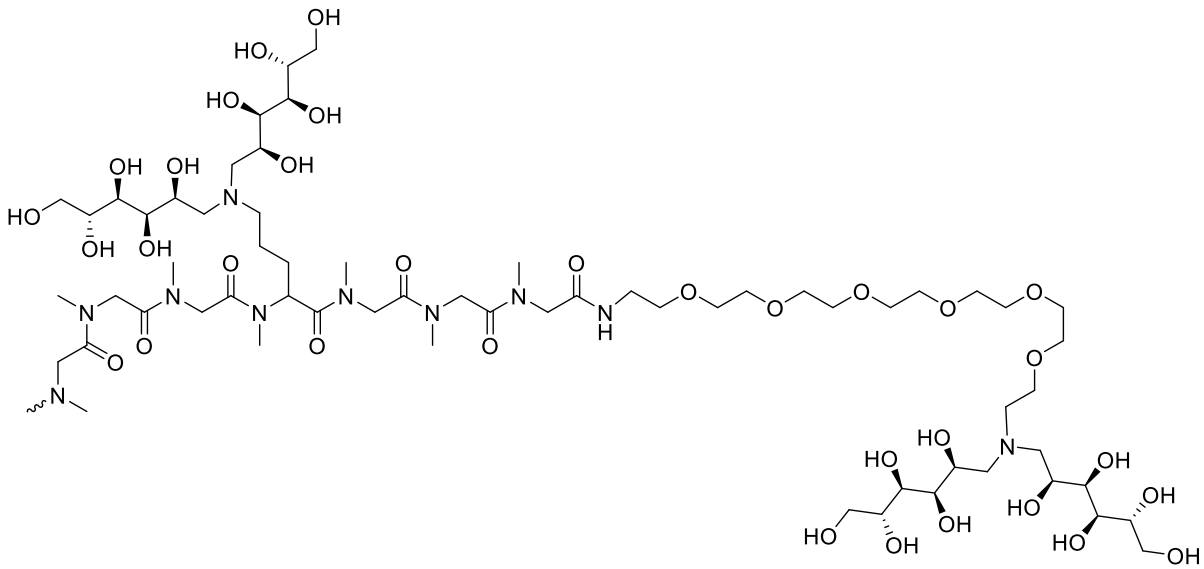


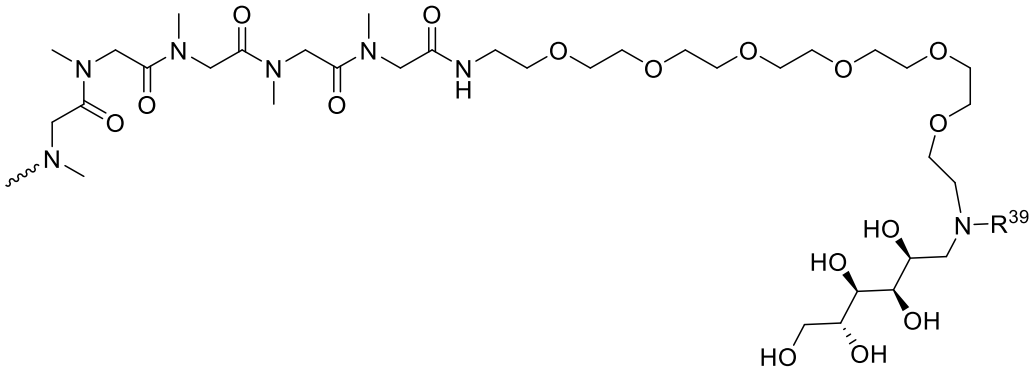


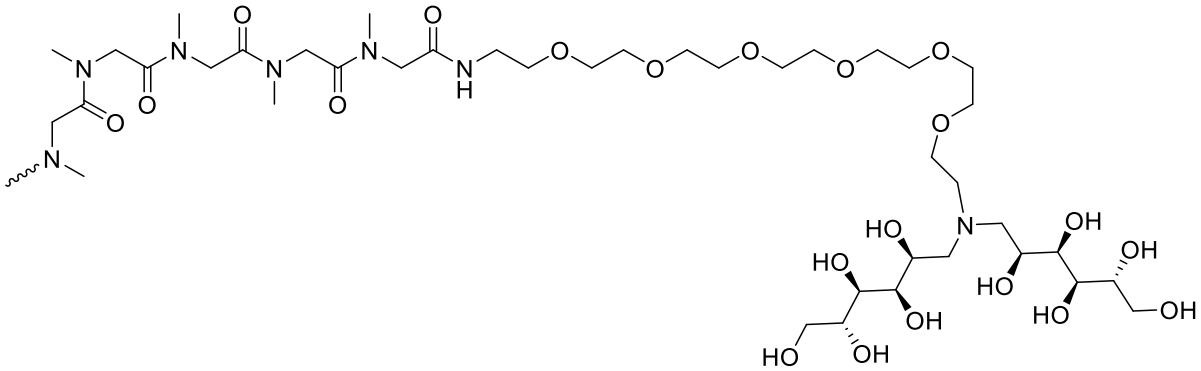


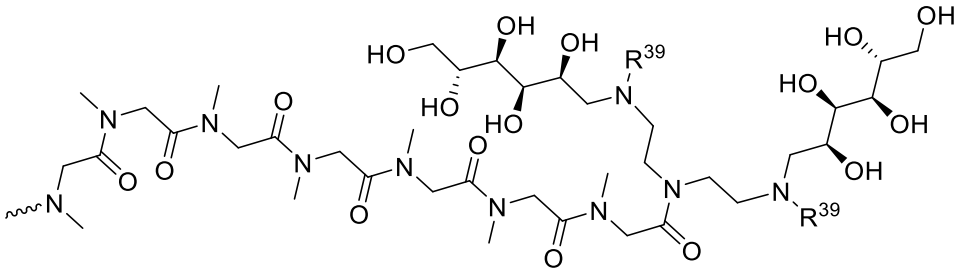


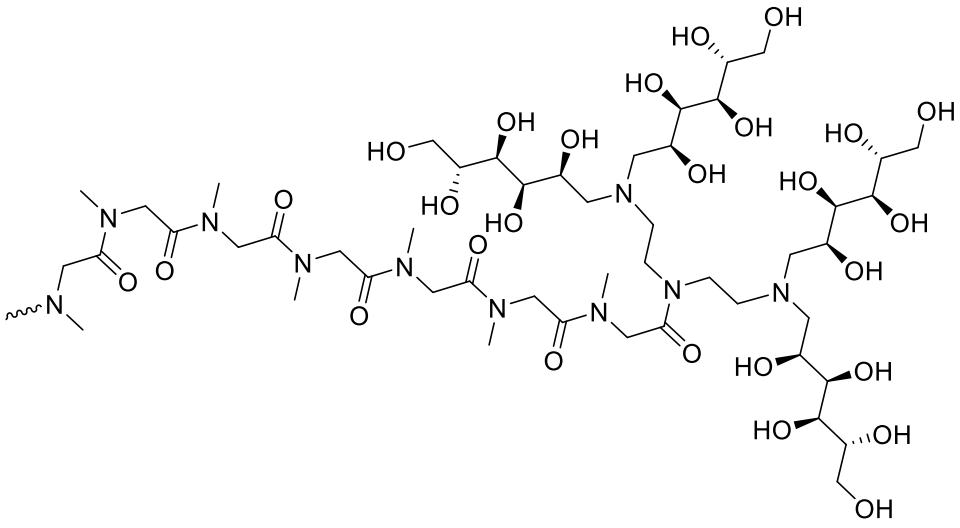


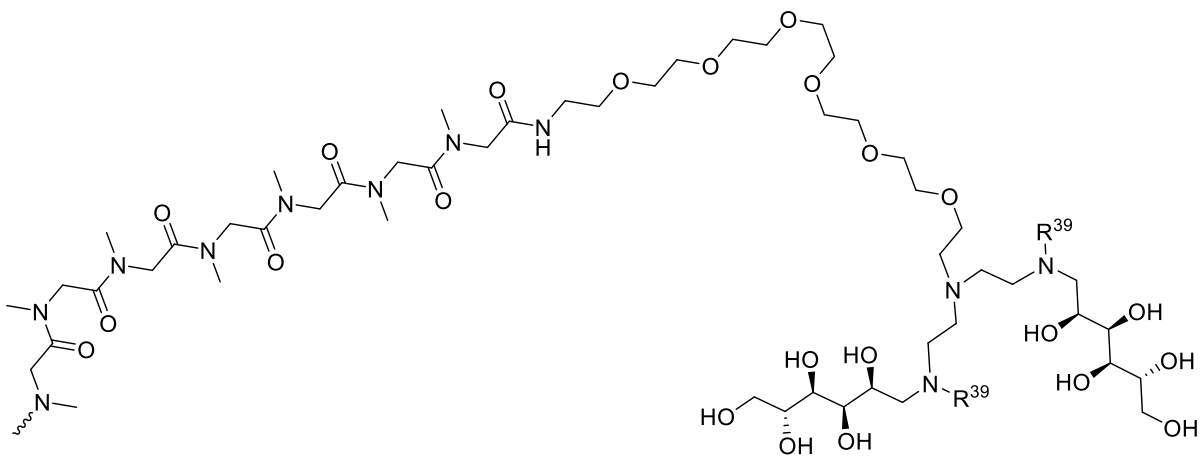


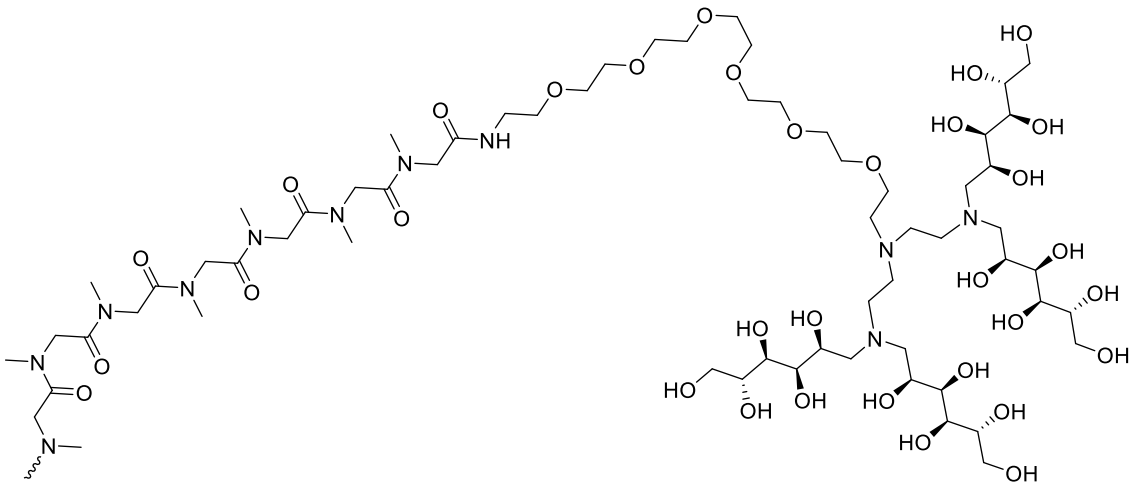


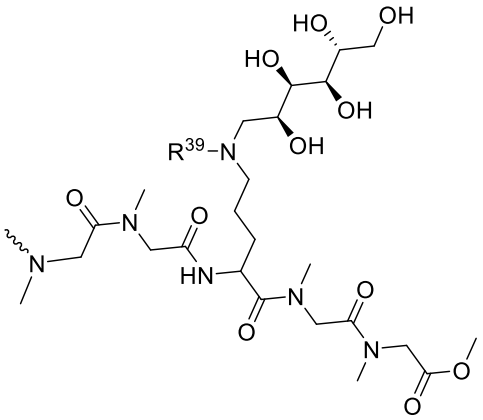


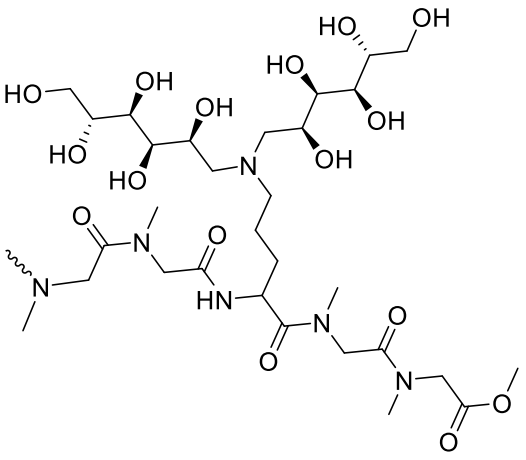


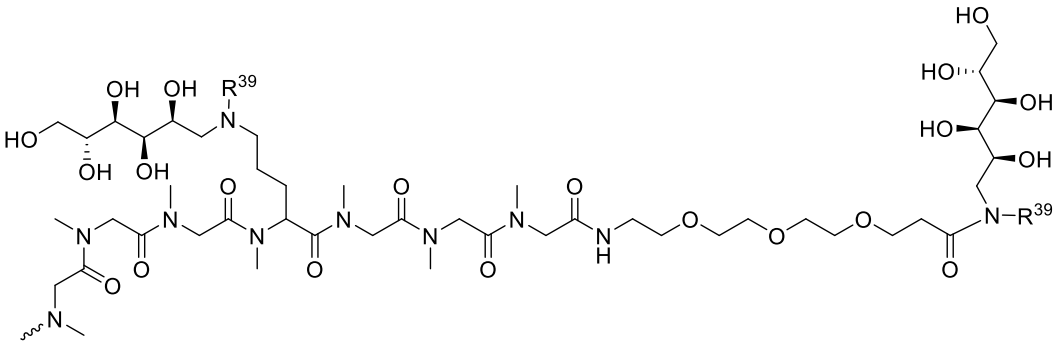


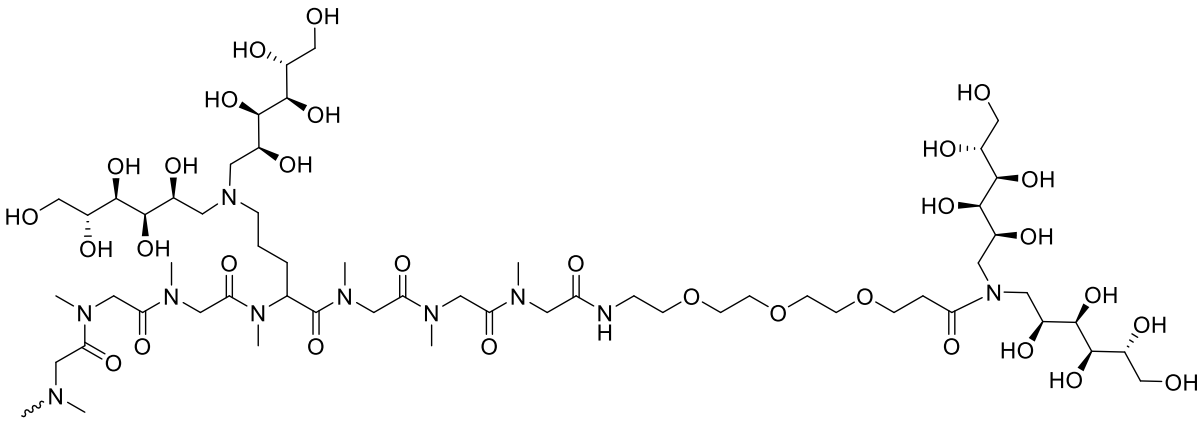


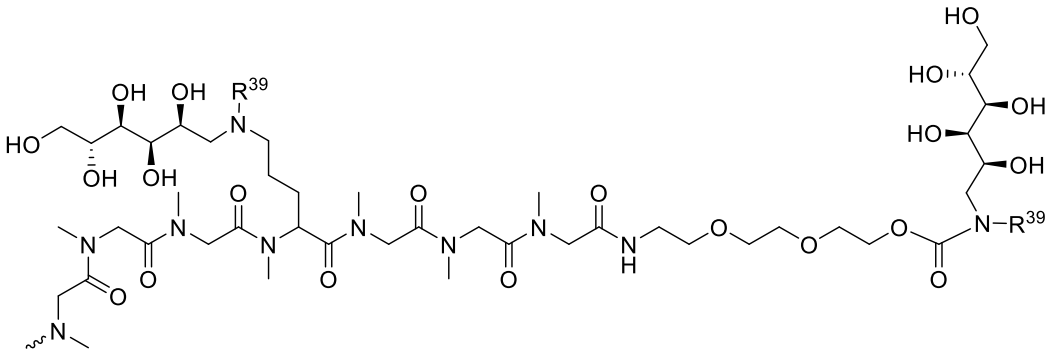


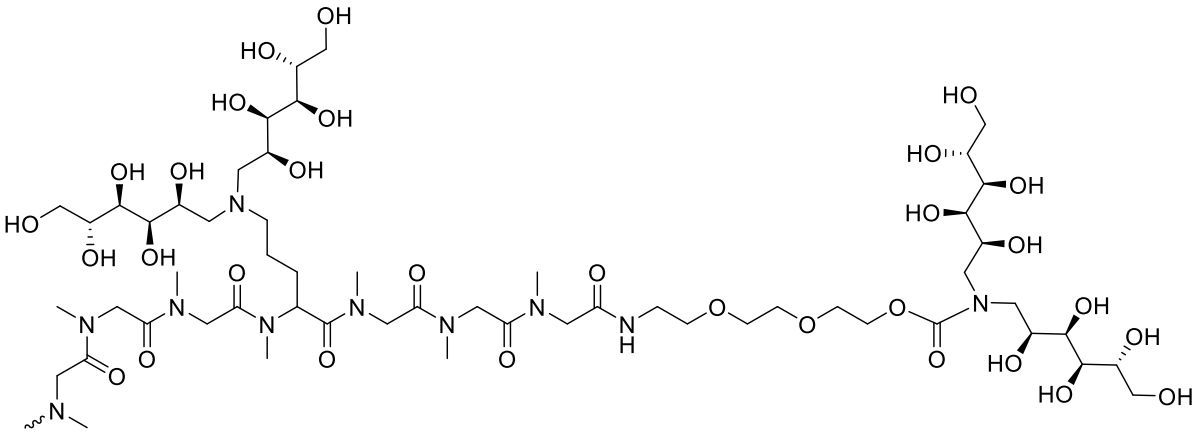


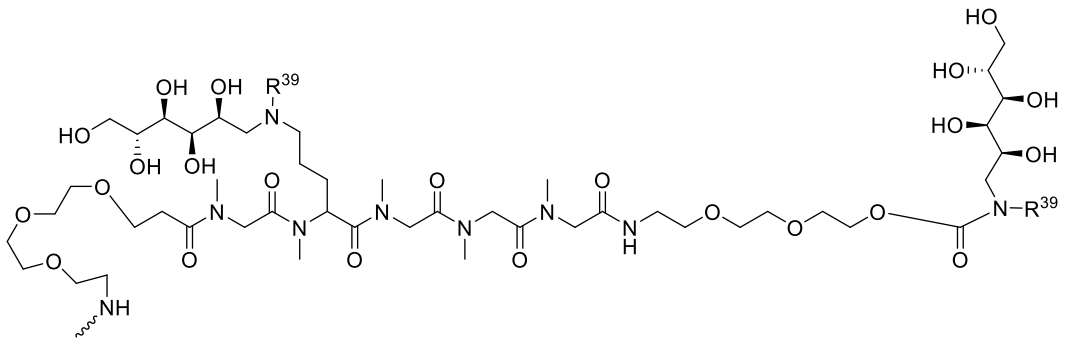


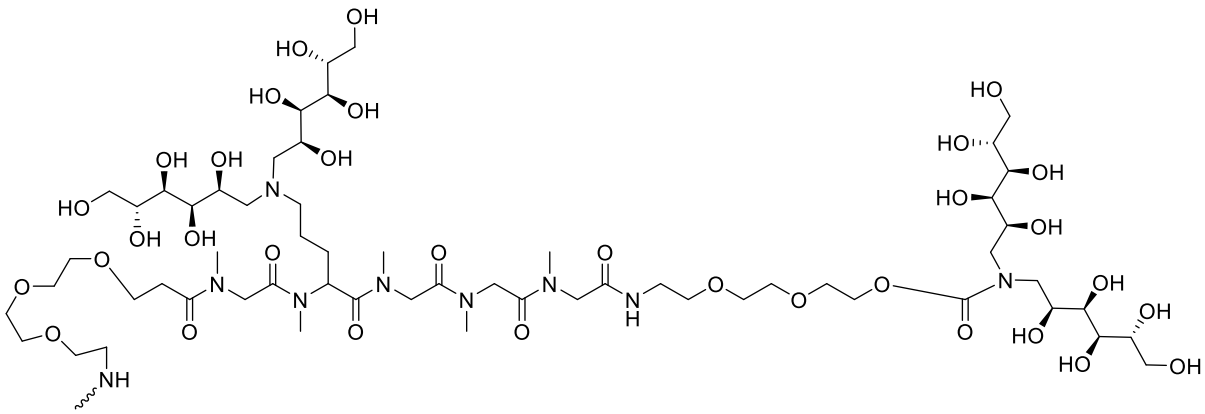


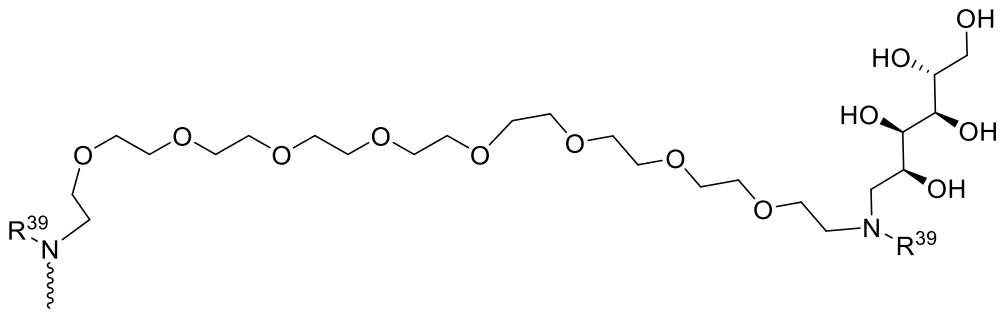


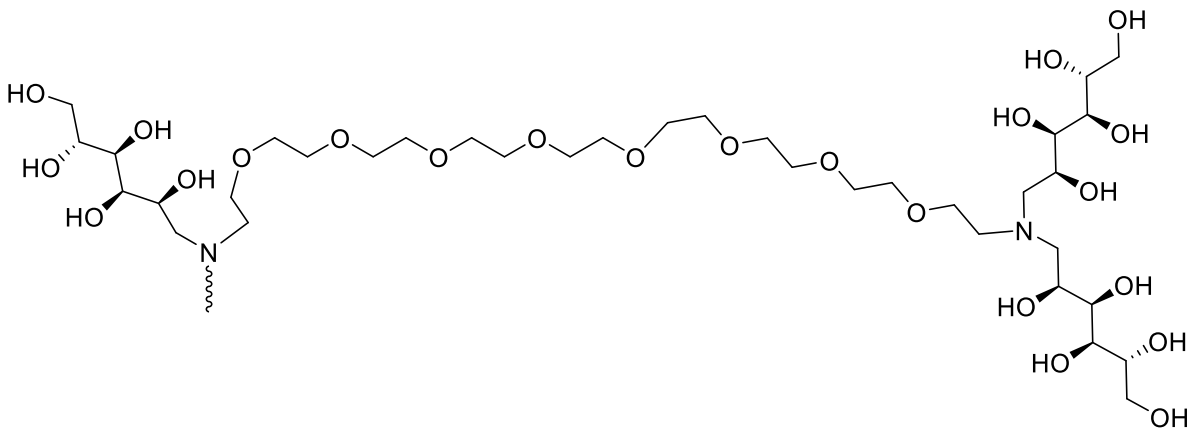


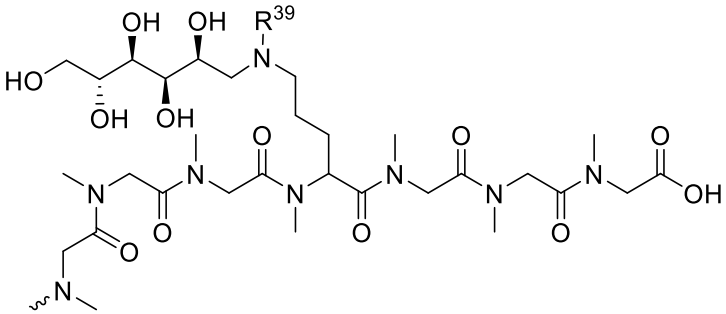




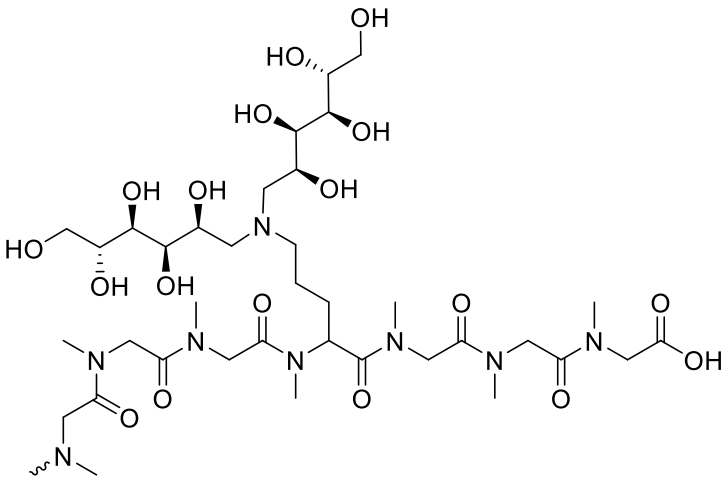








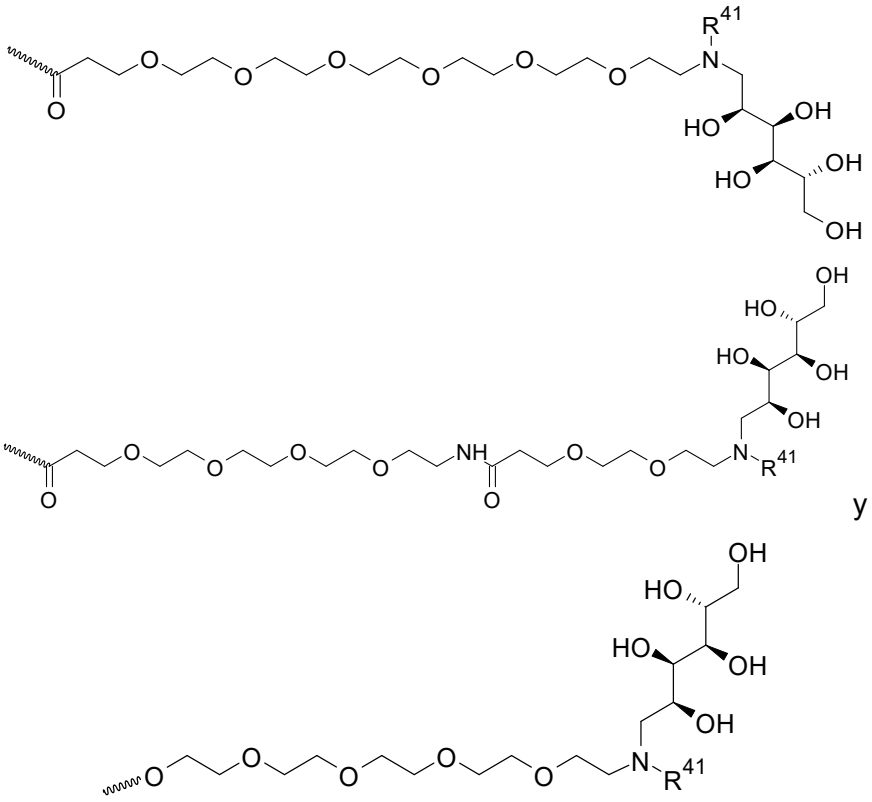
y



donde cada R es independientemente H o alquilo; cada R^{39} se selecciona independientemente entre H, un monosacárido lineal y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; cada n es independientemente 1-12; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0089] En algunas formas de realización, uno de R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente es un monosacárido lineal y el otro es un monosacárido cíclico.

[0090] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

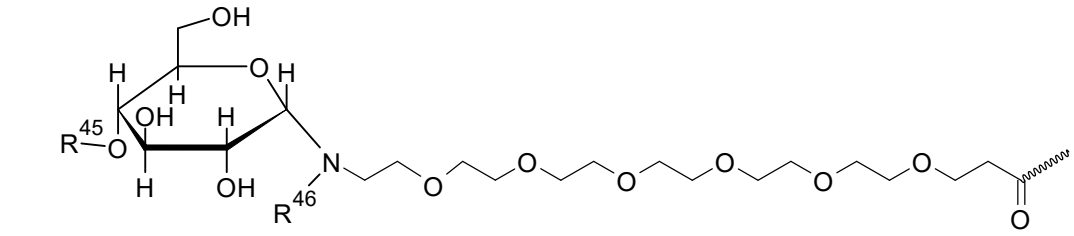


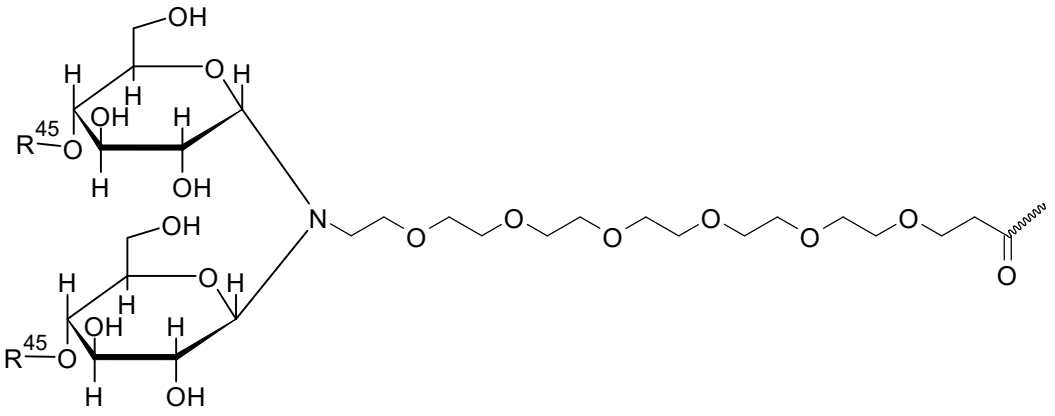
donde R^{41} es un monosacárido cíclico; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

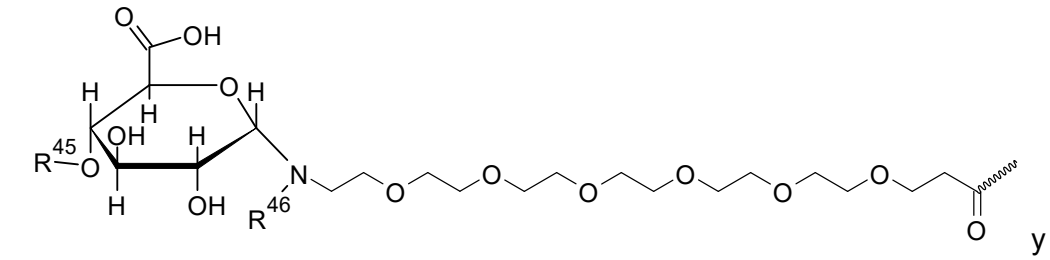
[0091] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente son

independientemente un polihidroxilo seleccionado entre un monosacárido, disacárido y polisacárido cíclicos.

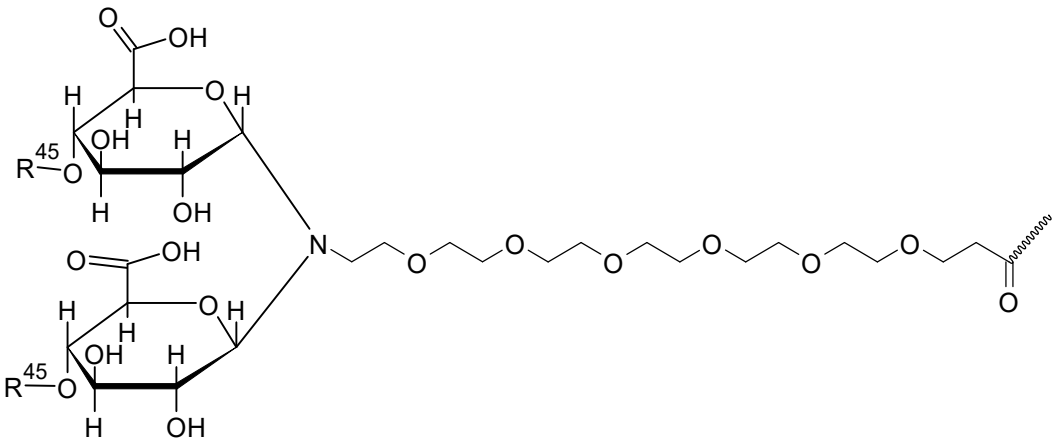
[0092] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:







y

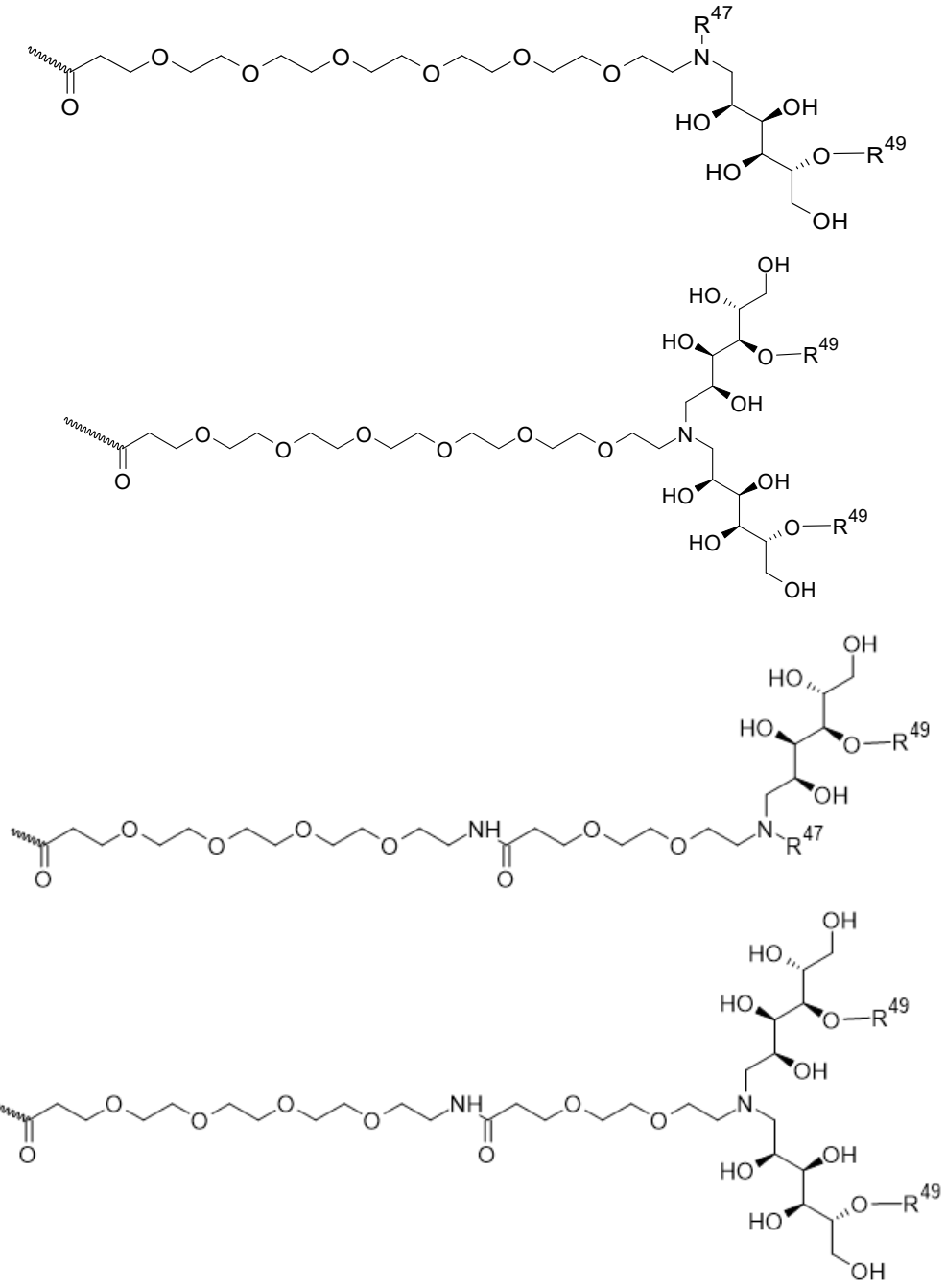


donde cada R^{45} se selecciona entre H y un monosacárido, un disacárido, o un polisacárido; y R^{46} se selecciona entre un monosacárido, disacárido, o polisacárido cíclico; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0093] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se seleccionan independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido lineal

sustituido, donde el monosacárido lineal sustituido está sustituido con un monosacárido, un disacárido o un polisacárido.

[0094] En algunas formas de realización, en la presente se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



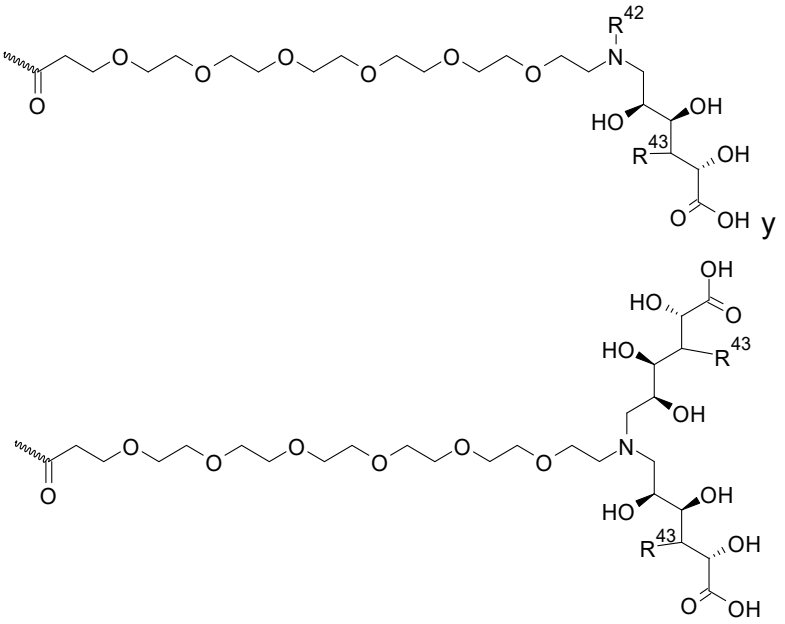
donde R^{47} es un monosacárido lineal; y cada R^{49} se selecciona entre un monosacárido, un disacárido y un polisacárido; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0095] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se seleccionan independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido sustituido, donde el monosacárido lineal sustituido está sustituido con uno o más sustituyentes

seleccionados entre alquilo, O-alquilo, arilo, O-arilo, carboxilo, éster, o amida, y opcionalmente también está sustituido con un monosacárido, disacárido o un polisacárido.

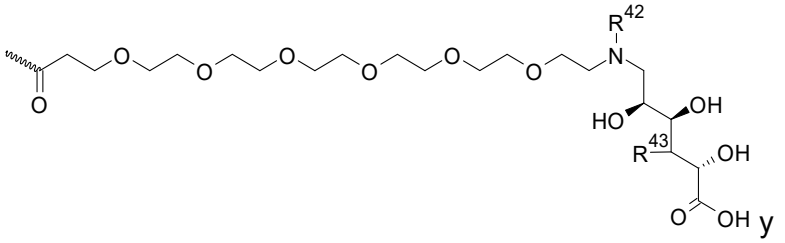
[0096] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se seleccionan independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido sustituido, donde el monosacárido lineal sustituido está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre carboxilo, éster, y amida, y opcionalmente también está sustituido con un monosacárido, disacárido, o un polisacárido.

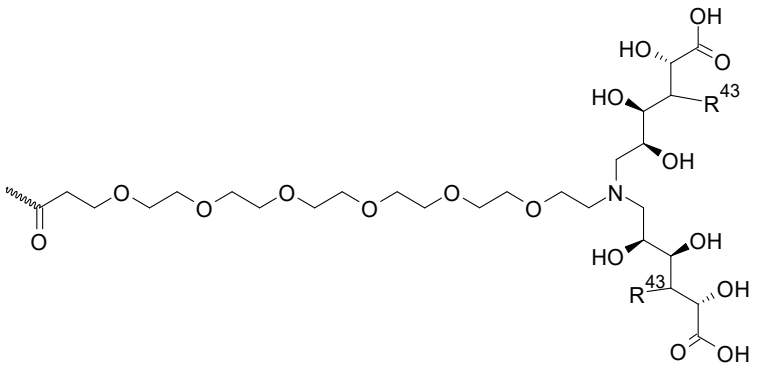
[0097] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



donde cada R^{42} se selecciona independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido lineal sustituido; cada R^{43} se selecciona independientemente entre alquilo, O-alquilo, arilo, O-arilo, carboxilo, éster, y amida; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0098] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



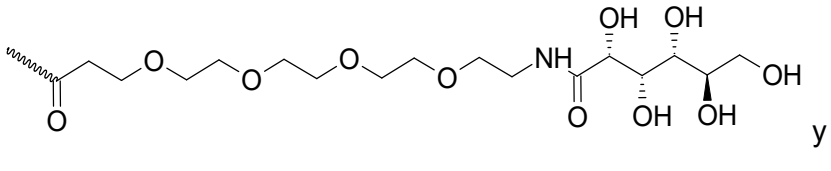


donde cada R^{42} se selecciona independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido lineal sustituido; cada R^{43} se selecciona independientemente entre hidroxilo, carboxilo, éster, y amida; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

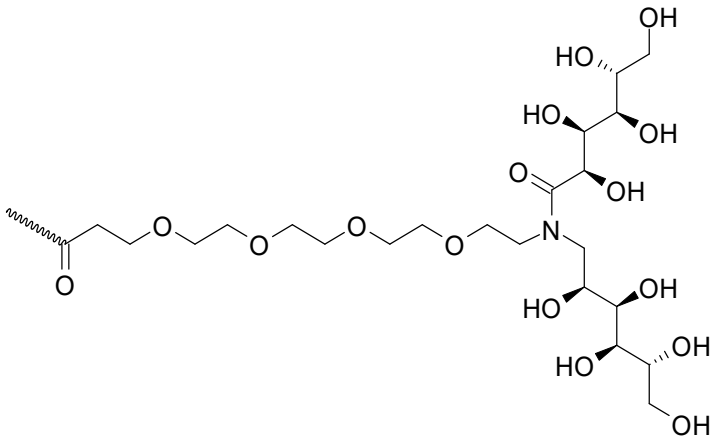
[0099] En algunas formas de realización, uno de R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente es un grupo -C(O)-polihidroxilo o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, y el otro de R^{24} y R^{25} es un H, grupo -C(O)-polihidroxilo, grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, grupo polihidroxilo o grupo polihidroxilo sustituido; donde el grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido y el grupo polihidroxilo están sustituidos con un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, alquilo, -O-alquilo, arilo, carboxilo, éster, o amida.

[0100] En algunas formas de realización, uno de R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente es un grupo -C(O)-polihidroxilo o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, y el otro de R^{24} y R^{25} es un H, grupo -C(O)-polihidroxilo, grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, grupo polihidroxilo o grupo polihidroxilo sustituido; donde el grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido y el grupo polihidroxilo están sustituidos con un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, carboxilo, éster, o amida.

[0101] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



y

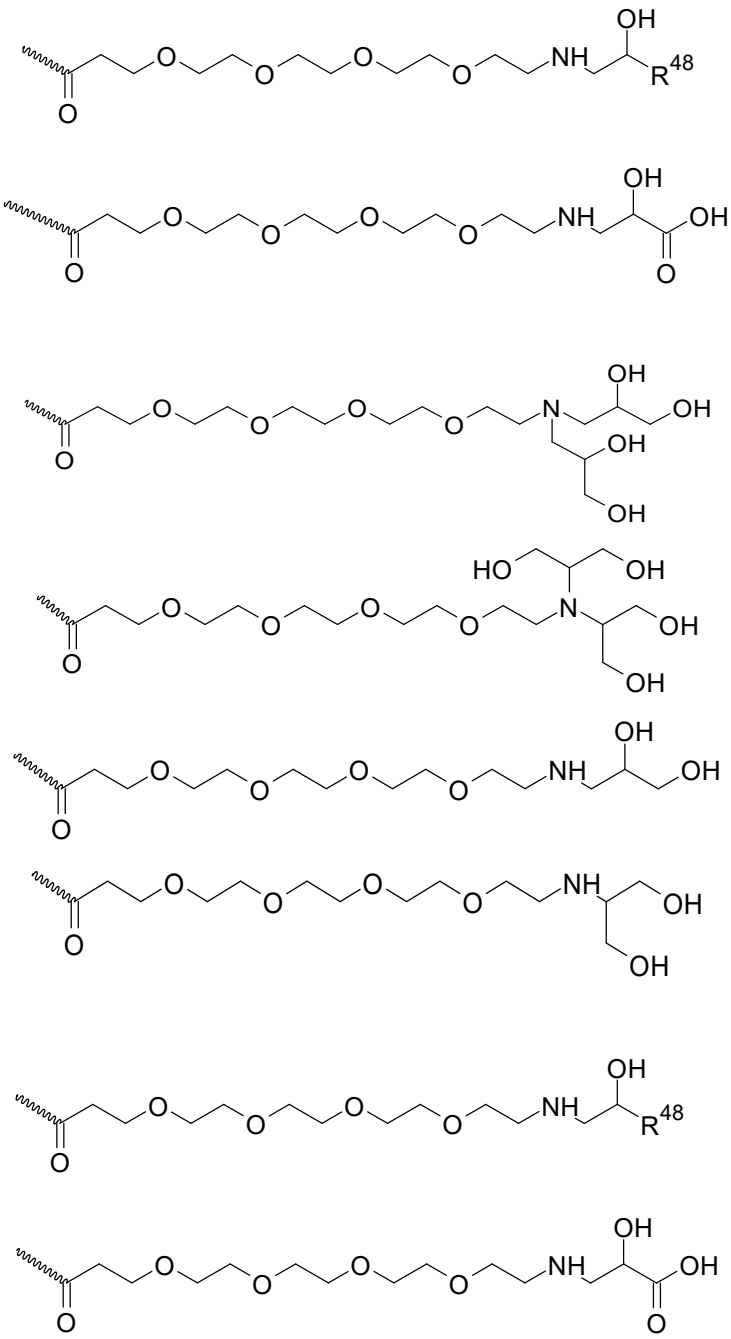


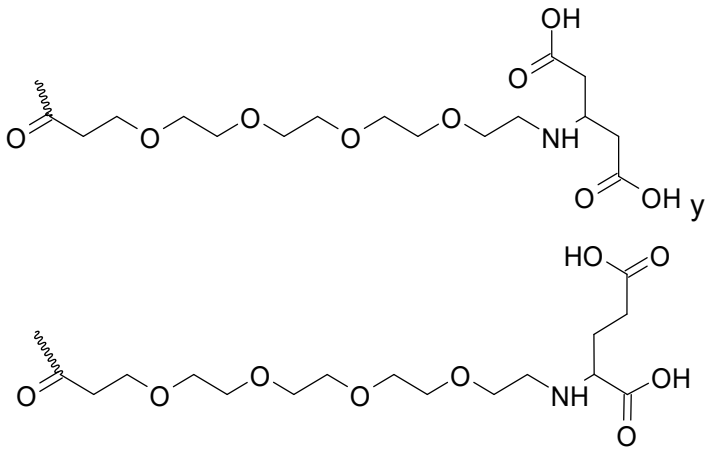
donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0102] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se seleccionan independientemente entre un H, -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo sustituido o -C_1-C_3 alquilo sustituido; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; donde -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo, y -C_1-C_3 alquilo están sustituidos con hidroxilo y/o carboxilo.

[0103] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente son independientemente H o -C_1-C_8 alquilo sustituido; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; donde -C_1-C_8 alquilo sustituido está sustituido con hidroxilo y/o carboxilo.

[0104] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



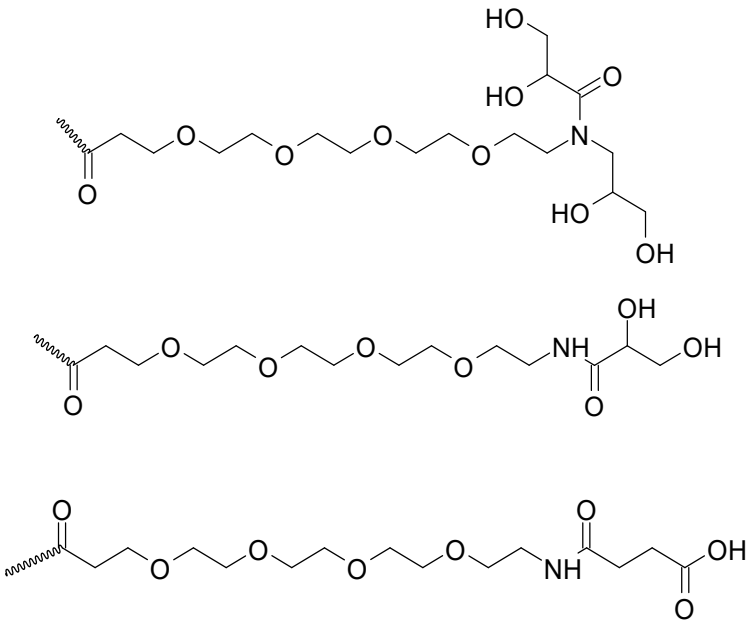


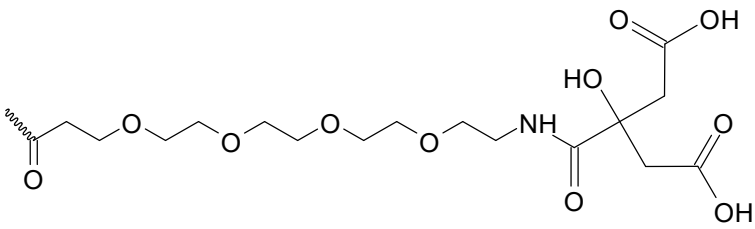
donde R^{48} se selecciona entre H, OH, CH_2OH, COOH o -C_1-C_6 alquilo sustituido con hidroxilo o carboxilo; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

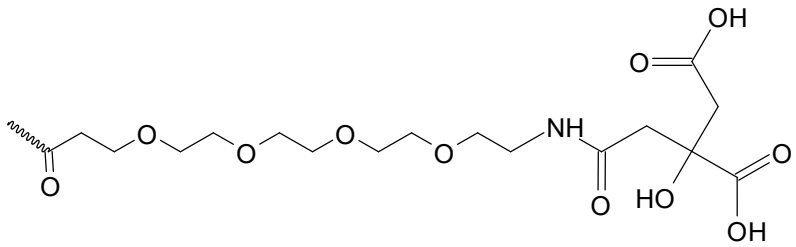
[0105] En algunas formas de realización, uno de R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se selecciona entre H, -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_4 alquilo sustituido, y -C(O)-C_1-C_3 alquilo sustituido y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_4 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_3 alquilo sustituido, -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo sustituido, y -C_1-C_3 alquilo sustituido, donde -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_4 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_3 alquilo sustituido, -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo y -C_1-C_3 alquilo están sustituidos con hidroxilo y/o carboxilo.

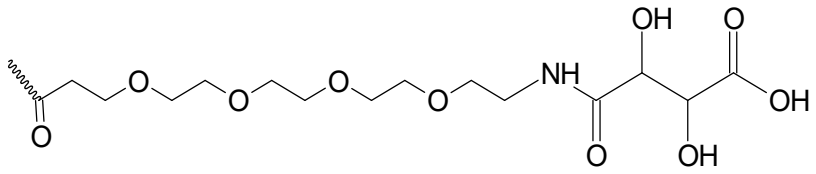
[0106] En algunas formas de realización, uno de R^{24} y R^{25} es H o -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, y el otro de R^{24} y R^{25} es -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, o -C_1-C_8 alquilo sustituido, donde -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido y -C_1-C_8 alquilo sustituido, están sustituidos con hidroxilo y/o carboxilo.

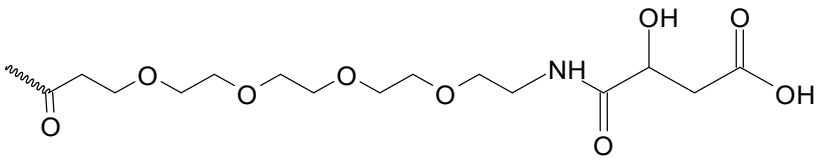
[0107] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

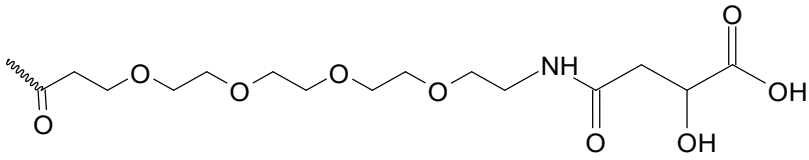




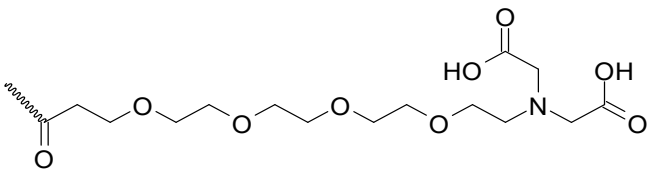








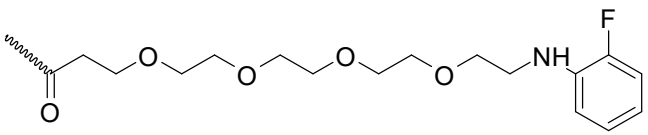
y

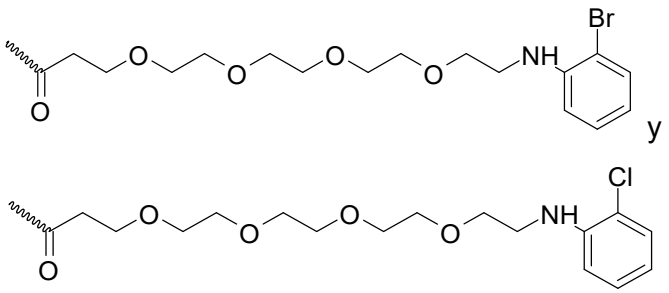


donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0108] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se seleccionan entre H y arilo opcionalmente sustituido; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H.

[0109] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

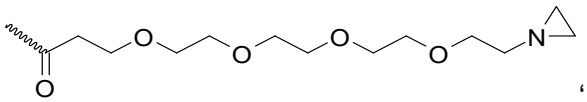




donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0110] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente forman juntos un C_3-C_8 heterociclo o heteroarilo opcionalmente sustituido.

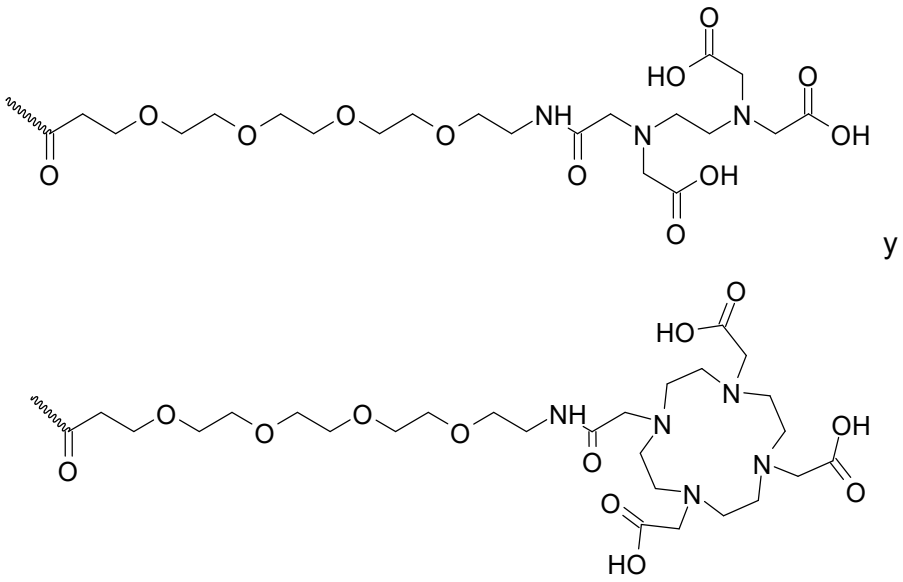
[0111] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene la siguiente estructura:



o un estereoisómero o una sal de la misma, donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0112] En algunas formas de realización, R^{24} y R^{25} como se describe precedentemente se seleccionan independientemente entre H y un quelante, donde el quelante opcionalmente está unido al nitrógeno de $-NR^{24}R^{25}$ por medio de un alquileno, arileno, carbociclo, heteroarileno o heterocarbocilo; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H. Por ejemplo, en algunas formas de realización el quelante se selecciona entre ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetraminohexaacético (TTHA), bencil-DTPA, ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano- N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), bencil-DOTA, ácido 1,4,7-triazaciclononano- N,N',N''-triacético (NOTA), bencil-NOTA, ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetraacético (TETA) y N,N'-alquilo disustituido-piperazina.

[0113] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0114] En algunas formas de realización, cada monosacárido como se describe precedentemente se selecciona independientemente entre: un sacárido C5 o C6 seleccionado entre glucosa, ribosa, galactosa, manosa, arabinosa, 2-desoxiglucosa, gliceraldehído, eritrosa, treosa, xilosa, lixosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, aldosa, cetosa, glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina; un sacárido ácido seleccionado entre ácido glucónico, ácido aldónico, ácido urónico y ácido ulosónico; o un sacárido amino seleccionado entre glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina.

[0115] En algunas formas de realización, cada monosacárido como se describe precedentemente se selecciona independientemente entre: un sacárido C5 o C6 seleccionado entre glucosa, ribosa, galactosa, manosa, arabinosa, 2-desoxiglucosa, gliceraldehído, eritrosa, treosa, xilosa, lixosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, aldosa, y cetosa, un sacárido ácido seleccionado entre ácido glucónico, ácido aldónico, ácido urónico y ácido ulosónico; o un sacárido amino seleccionado entre glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina.

[0116] En algunas formas de realización, el sitio de unión β como se describe precedentemente está formado por un grupo funcional de un compuesto precursor del grupo polar, donde dicho grupo funcional se selecciona entre halo, aldehído, carboxilo, amino, alquinilo, azido, hidroxilo, carbonilo, carbamato, tiol, urea, tiocarbamato, tiourea, sulfonamida, acilsulfonamida, alquilsulfonato, triazol, azadibenzociclooctino, hidrazina, carbonilalquilheteroarilo, y formas protegidas de los mismos.

[0117] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre las siguientes:

(a) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}R^{30}$ (XXX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{30} se selecciona entre un C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; tiourea; tiourea opcionalmente sustituida; urea; urea opcionalmente sustituida; sulfamida; alquilsulfamida; acilsulfamida, alquilsulfamida opcionalmente sustituida; acilsulfamida opcionalmente sustituida; sulfonamida; sulfonamida opcionalmente sustituida; guanidina, incluyendo alquilguanidina y arilguanidina; fosforamida; o fosforamida opcionalmente sustituida; o R^{30} se selecciona entre azido, alquinilo, alquinilo sustituido, -NH-C(O)-alquinilo, -NH-C(O)-alquinil-R^{65}; ciclooctino; -NH-ciclooctino, -NH-C(O)-ciclooctino, o -NH-$(ciclooctino)_2$; donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(b) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NH\text{-}C(O)\text{-}R^{31}$ (XXXI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(c) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NH\text{-}R^{31}$ (XXXII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde independientemente cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(d) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NR^{31}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXXIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{31} es H o R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y n20 es entre 2 y 26;

(e) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N(R^{33}\text{-}R^{31})_2$ (XXXIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{33} es C_1-C_3 alquileno, C_1-C_3 alquileno-C(O), -C(O)-C_1-C_3 alquileno, o -C(O)-C_1-C_3 alquileno-C(O); R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(f) $\sim R^{20}\text{-}(R^{21}\text{-}[CH_2\text{-}CH(OR^{34})\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}R^{36})_{n25}$ (XXXV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; cada R^{21} es independientemente un enlace, -O- o grupo C_1-C_3 alquileno; cada R^{34} es independientemente H, -$[CH_2$-$CH(OH)$-CH_2-$O]_{n20}$-R^{36}, -$C(O)$-$NR^{24}R^{25}$ o -$C(O)N(R^N)$-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$; R^N es H o C_1-C_4alquilo; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; o grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada R^{36} es independientemente H, C_1-C_6alquileno-$C(OH)H$-$NR^{44}R^{45}$, C_1-C_6alquileno-$C(OH)H$-C_1-C_6alquileno-$NR^{44}R^{45}$, -$C(O)$-$NR^{24}R^{25}$, -$C(O)N(R^N)$-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$, C_1-C_6alquileno-$C(O)NR^{24}R^{25}$ o C_1-C_6alquileno-CO_2R^{37}; cada R^{37} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; R^{44} y R^{45} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; cada n20 es independientemente entre 1 y 26; y n25 es 1 o 2;

(g) $\sim R^{20}$-R^{21}-$[[CH_2$-CH_2-$O]_{n20}$-R^{22}-$[CH_2$-$[CH(OH)]_{n23}$-CH_2-$O]_{n21}]_{n22}$-R^{23}-NR^{24}-R^{25}

(XXXVI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21}, R^{22} y R^{23} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada n20 es independientemente entre 0 y 26, y cada n21 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos uno de n20 o n21 es entre 2 y 26; n22 es entre 1 y 5; cada n23 es independientemente 1 o 2;

(h) $\sim R^{20}$-$(R^{21}$-$[O$-CH_2-$CH_2]_{n20}$-R^{22}-$N(R^N)$-CO_2-$[CH_2$-$CH(OR^{34})$-CH_2-$O]_{n21}$-$R^{36})_{n25}$

(XXXVII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^N es H o C_1-C_4alquilo; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; y grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; cada R^{34} es independientemente H, -$[CH_2$-$CH(OH)$-CH_2-$O]_{n20}$-R^{36} o -$C(O)N(R^N)$-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{36} es independientemente H, C_1-C_6alquileno-$C(OH)H$-$NR^{44}R^{45}$, C_1-C_6 alquileno-$C(OH)H$-C_1-C_6alquileno-$NR^{44}R^{45}$, -$C(O)N(R^N)$-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$, C_1-C_6alquileno-$C(O)NR^{24}R^{25}$ o C_1-C_6alquileno-CO_2R^{37}; cada R^{37} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; R^{44} y R^{45} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; n20 es entre 2 y 26; n21 es entre 1 y 26; y n25 es 1 o 2;

(i) $\sim R^{20}$-$(R^{21}$-$[N(R^N)$-$C(O)$-$[O$-CH_2-$CH(OH)$-$CH_2]_{n20}]_{n21}$-R^{22}-$NR^{24}R^{25})_{n25}$

(XXXVIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^N es H o C_1-C_4alquilo; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; y grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; n20 es entre 2 y 26; n21 es entre 1 y 4; y n25 es 1, 2 o 3;

(j) $\sim R^{20}\text{-}(R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^N)]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}NR^{24}R^{25})_{n25}$

(XXXIX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno,-C_1-C_3alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$, -$[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-$C_1$-$C_3$alquileno- o -$C_1$-$C_3$alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$-C(O)-; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada n20 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n20 es entre 2 y 26; y n25 es 1 o 2; y

(k) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^N)]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}NR^{24}R^{25}$

|

$R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^N)]_{n21}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n21}\text{-}R^{23}\text{-}CO_2\text{-}R^{26}$

(XXXVX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21}, R^{22} y R^{23} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$, -$[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-$C_1$-$C_3$alquileno- o -$C_1$-$C_3$alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$-C(O)-; cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; R^{26} es H o C_1-C_6 alquilo; cada n20 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n20 es entre 2 y 26; y cada n21 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n21 es entre 2 y 26.

[0118] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre las siguientes:

(a) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}R^{30}$ (XXX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{30} se selecciona entre un C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; tiourea; tiourea opcionalmente sustituida; urea; urea opcionalmente sustituida; sulfamida; alquilsulfamida; acilsulfamida, alquilsulfamida opcionalmente sustituida; acilsulfamida opcionalmente sustituida; sulfonamida; sulfonamida opcionalmente sustituida; guanidina, incluyendo alquilguanidina y arilguanidina; fosforamida; o fosforamida opcionalmente sustituida; o R^{30} se selecciona entre azido, alquinilo, alquinilo sustituido, -NH-C(O)-alquinilo, -NH-C(O)-alquinil-R^{65}; ciclooctino; -NH-ciclooctino, -NH-C(O)-ciclooctino, o -NH-$(ciclooctino)_2$; donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(b) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NH\text{-}C(O)\text{-}R^{31}$ (XXXI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(c) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NH\text{-}R^{31}$ (XXXII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde independientemente cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(d) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NR^{31}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXXIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al

grupo enzimáticamente escindible; R^{31} es H o R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y n20 es entre 2 y 26;

(e) $\sim R^{20}$-R^{21}-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}$-$R^{22}$-$N(R^{33}\text{-}R^{31})_2$ (XXXIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{33} es C_1-C_3 alquileno, C_1-C_3 alquileno-C(O), -C(O)-C_1-C_3 alquileno, o -C(O)-C_1-C_3 alquileno-C(O); R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y n20 es entre 2 y 26;

(f) $\sim R^{20}$-$(R^{21}\text{-}[CH_2\text{-}CH(OR^{34})\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}R^{36})_{n25}$ (XXXV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; cada R^{21} es independientemente un enlace, -O- o grupo C_1-C_3 alquileno; cada R^{34} es independientemente H, -$[CH_2\text{-}CH(OH)\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-$R^{36}$, -C(O)-$NR^{24}R^{25}$ o -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$; R^N es H o C_1-C_4alquilo; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; o grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada R^{36} es independientemente H, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-$NR^{44}R^{45}$, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-C_1-C_6alquileno-$NR^{44}R^{45}$, -C(O)-$NR^{24}R^{25}$, -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$, C_1-C_6alquileno-C(O)$NR^{24}R^{25}$ o C_1-C_6alquileno-CO_2R^{37}; cada R^{37} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; R^{44} y R^{45} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; cada n20 es independientemente entre 1 y 26; y n25 es 2 o 2;

(g) $\sim R^{20}$-R^{21}-$[[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-$R^{22}$-$[CH_2\text{-}[CH(OH)]_{n23}\text{-}CH_2\text{-}O]_{n21}]_{n22}$-$R^{23}$-$NR^{24}$-$R^{25}$ (XXXVI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21}, R^{22} y R^{23} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada n20 es independientemente entre 0 y 26, y cada n21 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos uno de n20 o n21 es entre 2 y 26; n22 es entre 1 y 5; cada n23

es independientemente 1 o 2;

(h) ~R^{20}-(R^{21}-[O-CH_2-CH_2]$_{n20}$-R^{22}-N(R^N)-CO_2-[CH_2-CH(OR^{34})-CH_2-O]$_{n21}$-R^{36})$_{n25}$

(XXXVII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^N es H o C_1-C_4alquilo; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; y grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; cada R^{34} es independientemente H, -[CH_2-CH(OH)-CH_2-O]$_{n20}$-R^{36} o -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$; cada R^{36} es independientemente H, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-$NR^{44}R^{45}$, C_1-C_6 alquileno-C(OH)H-C_1-C_6alquileno-$NR^{44}R^{45}$, -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$, C_1-C_6alquileno-C(O)$NR^{24}R^{25}$ o C_1-C_6alquileno-CO_2R^{37}; cada R^{37} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; R^{44} y R^{45} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; n20 es entre 2 y 26; n21 es entre 1 y 26; y n25 es 1 o 2;

(i) ~R^{20}-(R^{21}-[N(R^N)-C(O)-[O-CH_2-CH(OH)-CH_2]$_{n20}$]$_{n21}$-R^{22}-$NR^{24}R^{25}$)$_{n25}$

(XXXVIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^N es H o C_1-C_4alquilo; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; y grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; n20 es entre 2 y 26; n21 es entre 1 y 4; y n25 es 1, 2 o 3;

(j) ~R^{20}-(R^{21}-[C(R^α)H-C(O)-N(R^N)]$_{n20}$-R^{22}-[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-$NR^{24}R^{25}$)$_{n25}$

(XXXIX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno,-C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-; cada R^α es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII), con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; cada n20 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n20 es entre 2 y 26; y n25 es 1 o 2; y

(k) ~R^{20}-R^{21}-[C(R^α)H-C(O)-N(R^N)]$_{n20}$-R^{22}-[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-$NR^{24}R^{25}$

|

R^{21}-[C(R^α)H-C(O)-N(R^N)]$_{n21}$-R^{22}-[CH_2-CH_2-O]$_{n21}$-R^{23}-CO_2-R^{26}

(XXXVX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21}, R^{22} y R^{23} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-; cada R^α es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII), con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; R^{26} es H o C_1-C_6 alquilo; cada n20 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n20 es entre 2 y 26; y cada n21 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n21 es entre 2 y 26.

[0119] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre las siguientes, o un estereoisómero o sal de las mismas:

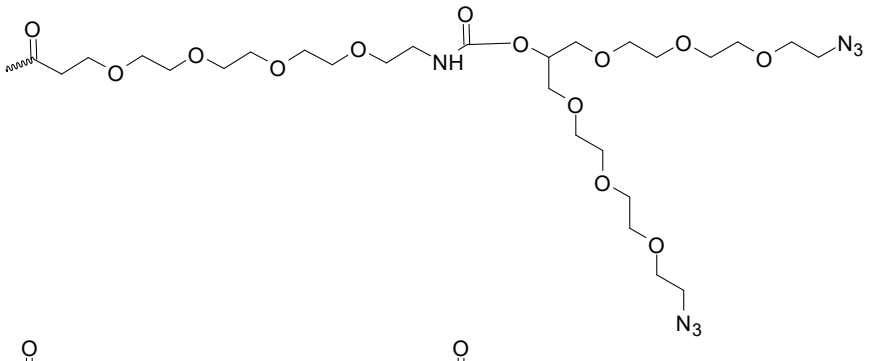
$$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NH\text{-}C(O)\text{-}R^{31} \quad \text{(XXXI)};$$

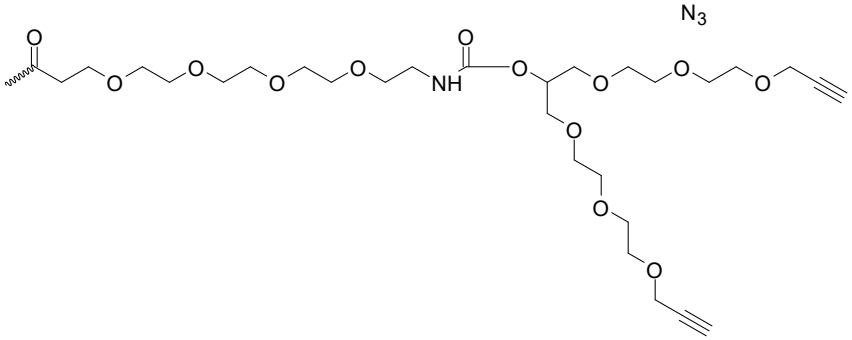
$$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NH\text{-}R^{31} \quad \text{(XXXII); y}$$

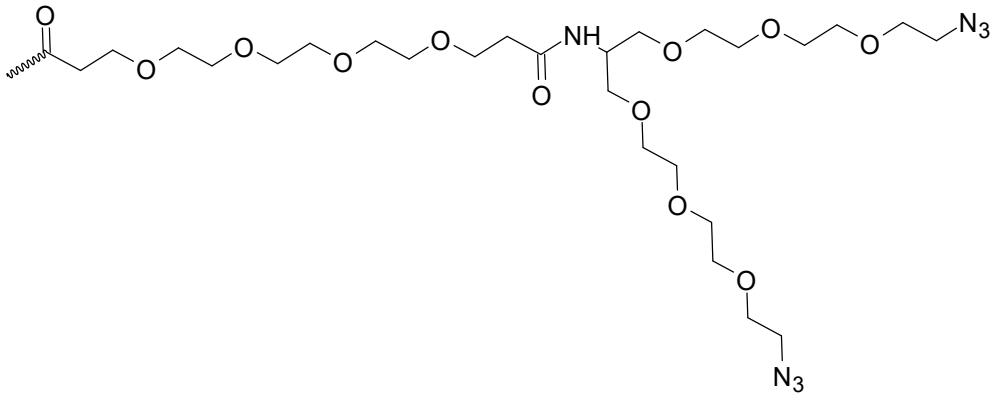
$$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N\text{-}(R^{33}\text{-}R^{31})_2 \quad \text{(XXXIII)},$$

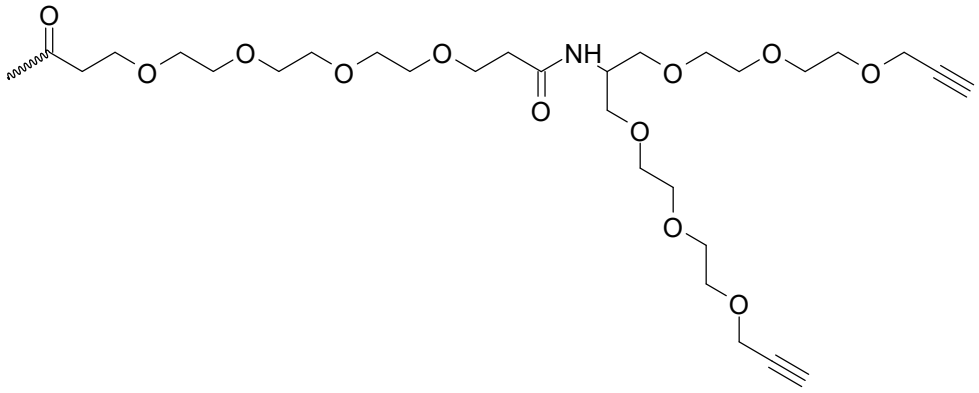
donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno; R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo; R^{33} es C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3 alquileno-C(O), -C(O)-C_1-C_3 alquileno o -C(O)-C_1-C_3 alquileno-C(O); R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; la línea ondulada (~) indica un sitio de unión a R^{20}; y n20 es entre 2 y 26.

[0120] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar formado por un grupo precursor seleccionado entre los siguientes:

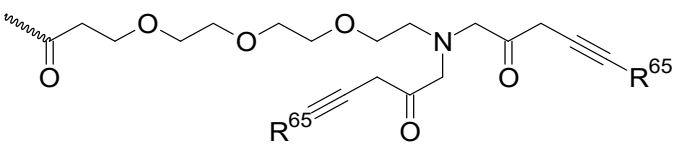








y



donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0121] En algunas formas de realización, el sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible, como se describe precedentemente, está formado por un grupo funcional de un compuesto precursor del grupo polar, donde dicho grupo funcional se selecciona entre halo, aldehído, carboxilo, amino, alquinilo, azido, hidroxilo, carbonilo, carbamato, tiol, urea, tiocarbamato, tiourea, sulfonamida, acilsulfonamida, alquilsulfonato, triazol, azadibenzociclooctino, hidrazina, carbonilalquilheteroarilo, y formas protegidas de los mismos.

[0122] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene la fórmula:

$$\sim R^{20}\text{-}(R^{43}\text{-}R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42} \qquad \text{(XL)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno; cada R^{43} se selecciona independientemente entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -OC_1-C_{12} alquileno, -C(=O)-, -NR^a-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NR^a-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NR^a-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NR^a-, -NR^a-C(O)-NR^a-, -NR^a-C(O)-, -NR^a-C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C(O)-NR^a-C_1-C_{12} alquileno, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, o -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde cada alquileno está opcionalmente sustituido con hidroxilo, SO_3H y/o oxo, R^a es H, C_1-C_6 alquilo, un grupo polihidroxilo, o un grupo polihidroxilo sustituido, y uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_{12} alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno, donde uno de los C_1-C_2 alquilenos está unido a $NR^{44}R^{45}$ por medio del átomo de nitrógeno; R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; n40 es entre 2 y 26; n41 es entre 1 y 6; y n42 es entre 1 y 6.

[0123] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene la fórmula:

$$\sim R^{20}\text{-}(R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42} \qquad \text{(XLI)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno; R^{43} se selecciona entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -OC_1-C_{12} alquileno, -C(=O)-, -NR^a-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NR^a-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NR^a-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NR^a-, -NR^a-C(O)-NR^a-, -NR^a-C(O)-, -NR^a-C(O)-C_1-C_{12} alquileno, C(O)-NR^a-C_1-C_{12} alquileno, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, y -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde cada alquileno está opcionalmente sustituido con hidroxilo, SO_3H y/o oxo, R^a es H, C_1-C_6 alquilo, un grupo polihidroxilo, o un grupo polihidroxilo sustituido y uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_{12} alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno, donde uno de los C_1-C_2 alquilenos está unido a $NR^{44}R^{45}$ por medio del átomo de nitrógeno; R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido,

grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; n40 es entre 1 y 26; n41 es entre 1 y 6; y n42 es entre 1 y 6.

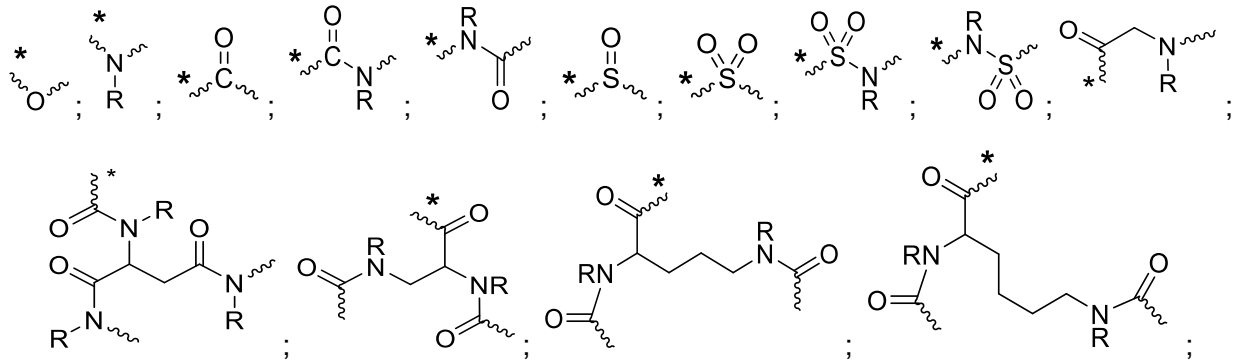
[0124] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene la fórmula:

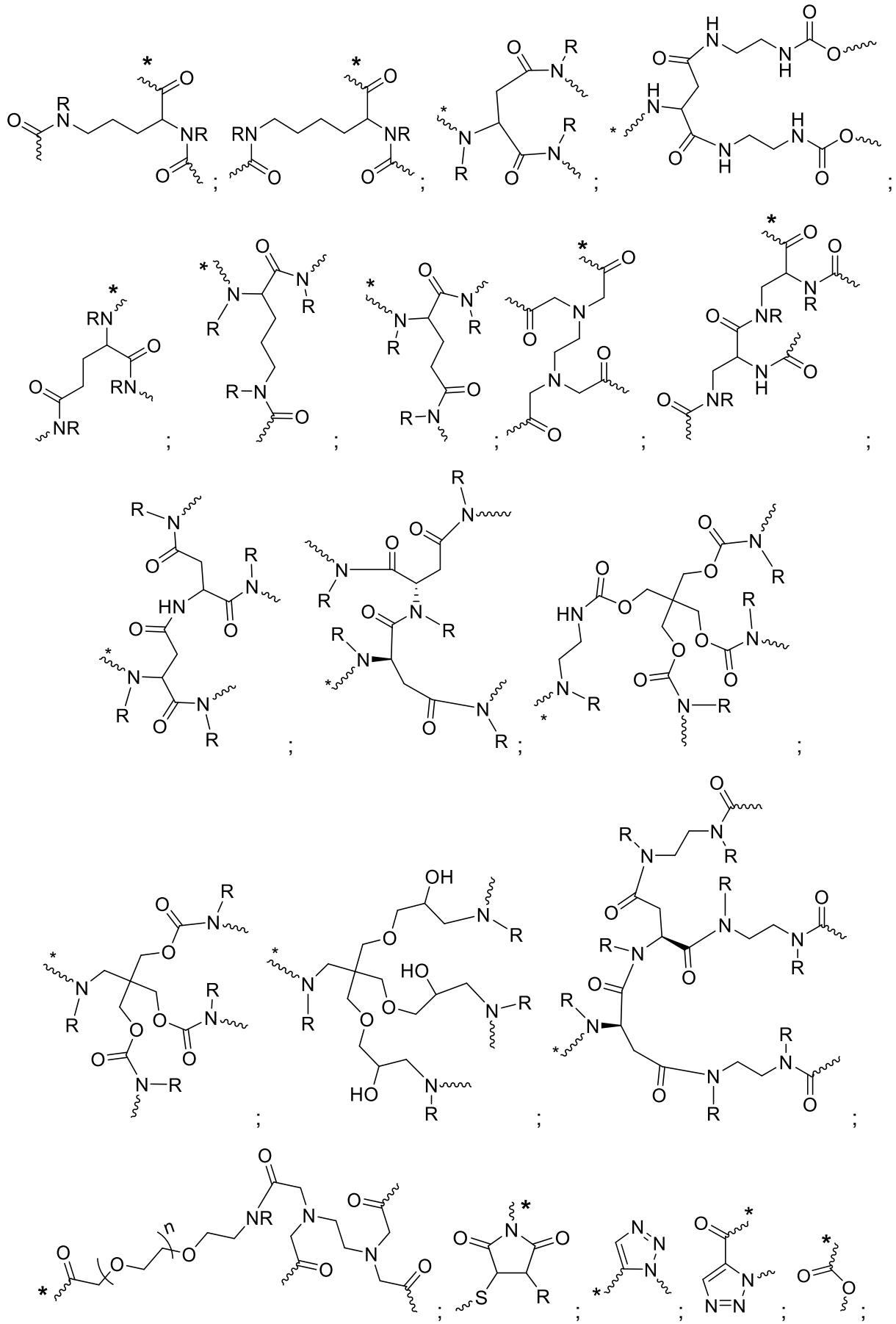
$$\sim R^{20}\text{-}(R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42} \qquad \text{(XLII)}$$

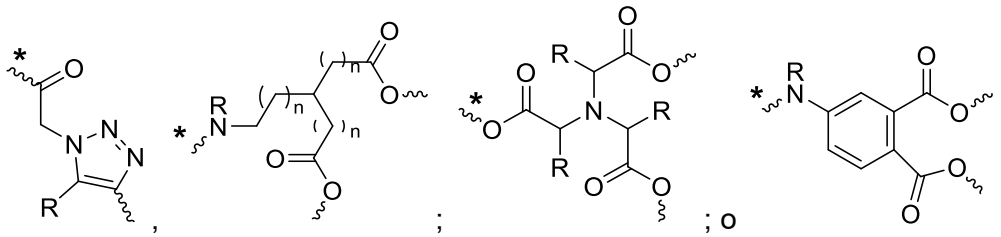
o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno; R^{43} se selecciona entre un enlace, C_1-C_6 alquileno, -OC_1-C_{12} alquileno, -C(=O)-, -NR^a -C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_6 alquileno-NR^a-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno, -C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -NR^a-C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno-NR^a-, -NR^a-C(O)-NR^a-, -NR^a-C(O)-, -NR^a-C(O)-C_1-C_6 alquileno, -C(O)-NR^a-C_1-C_{12} alquileno, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_6 alquileno, heteroaril-C_1-C_6 alquileno-C(O)-, y -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde cada alquileno está opcionalmente sustituido con hidroxilo, SO_3H, y/o oxo, R^a es H, C_1-C_6 alquilo, un grupo polihidroxilo, o un grupo polihidroxilo sustituido y uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_6 alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno, donde uno de los C_1-C_2 alquilenos está unido a $NR^{44}R^{45}$ por medio del átomo de nitrógeno; R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; n40 es entre 1 y 16; n41 es entre 1 y 4; y n42 es entre 1 y 4.

[0125] En algunas formas de realización, R^{20} como se describe precedentemente está formado por un grupo funcional de un compuesto precursor del grupo polar, donde dicho grupo funcional se selecciona entre halo, aldehído, carboxilo, amino, alquinilo, azido, hidroxilo, carbonilo, carbamato, tiol, urea, tiocarbamato, tiourea, sulfonamida, acilsulfonamida, alquilsulfonato, triazol, azadibenzociclooctino, hidrazina, carbonilalquilheteroarilo, o formas protegidas de los mismos.

[0126] En algunas formas de realización, R^{20} como se describe precedentemente comprende una de las siguientes estructuras:

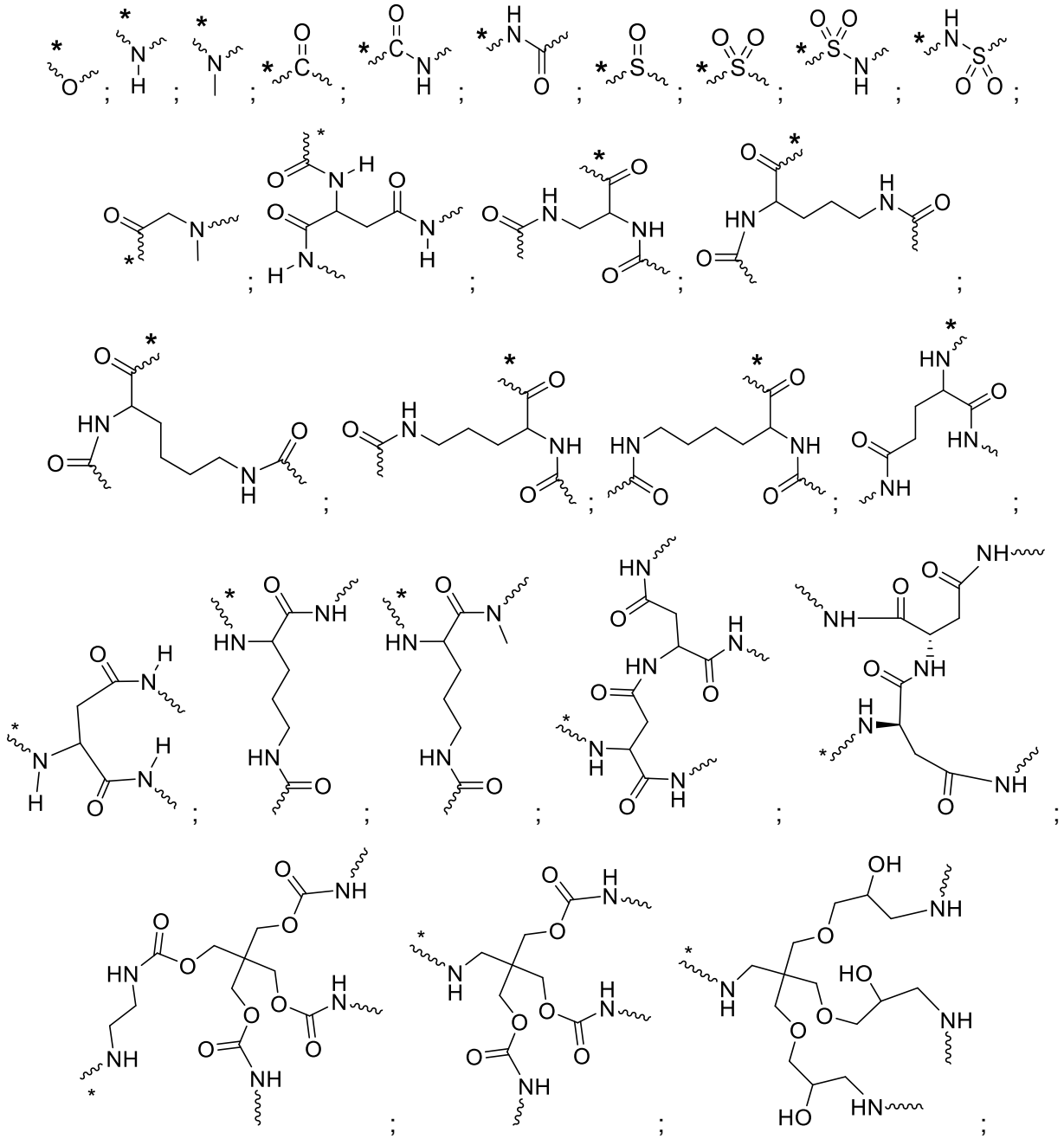


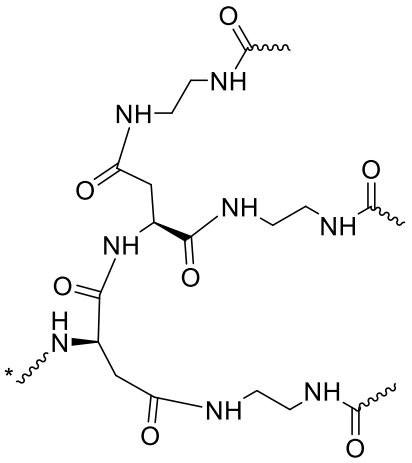
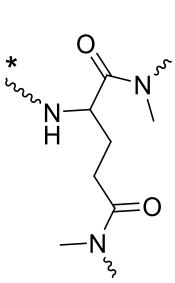
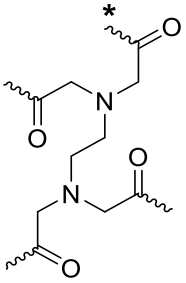
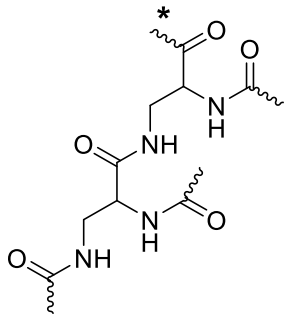
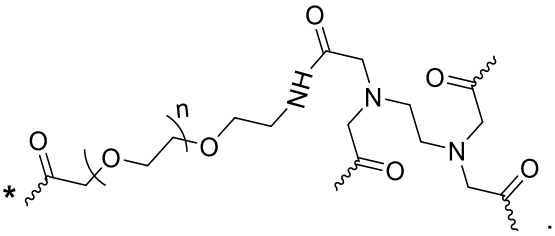
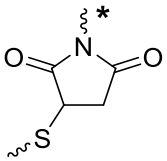
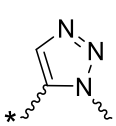
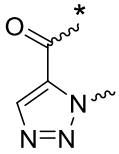
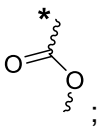
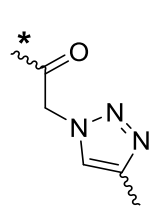
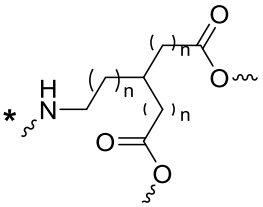
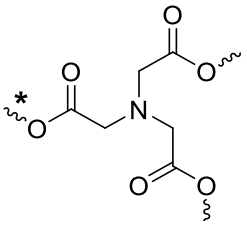
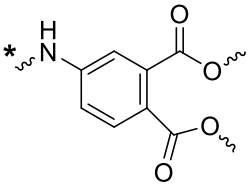




o un estereoisómero de las mismas, donde R es H, C_1-C_6 alquilo o grupo polihidroxilo, n es entre 0 y 12, (~~~ *) indica un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible, y (~~~) indica un sitio de unión a la porción restante del grupo polar.

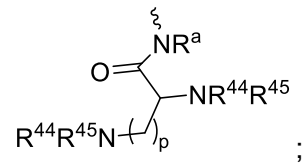
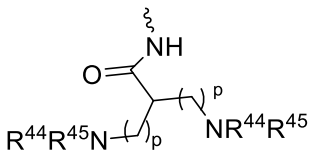
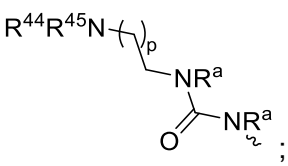
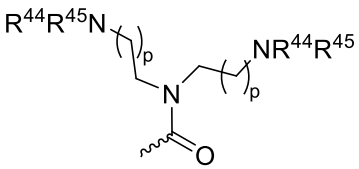
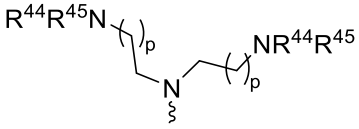
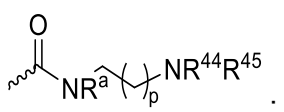
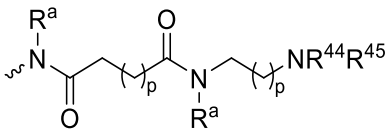
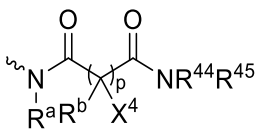
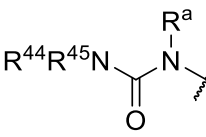
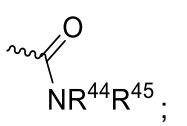
[0127] En algunas formas de realización, R^{20} como se describe precedentemente tiene una de las siguientes estructuras:

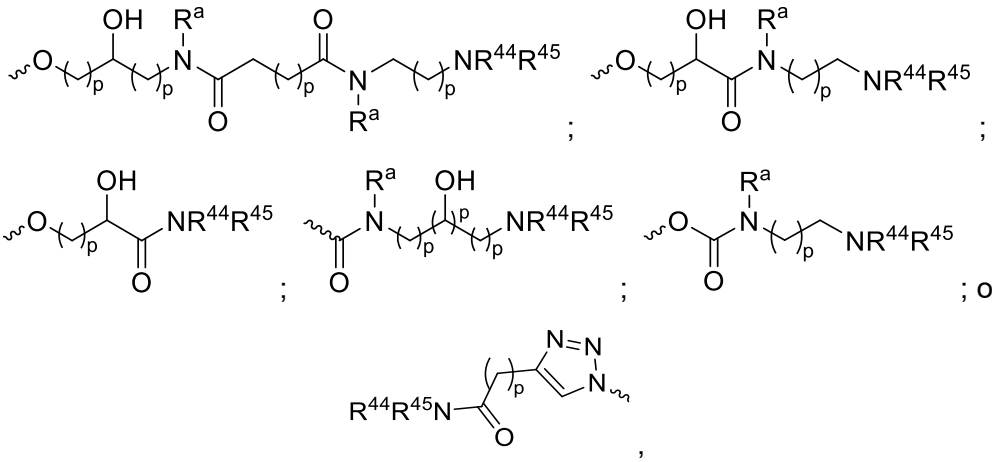



;

;

;

;

;

;

;

;

;

,

;

; o

,

o un estereoisómero de las mismas, donde n = 0 a 12, (〰 *) indica un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible, y (〰) indica un sitio de unión a la porción restante del grupo polar.

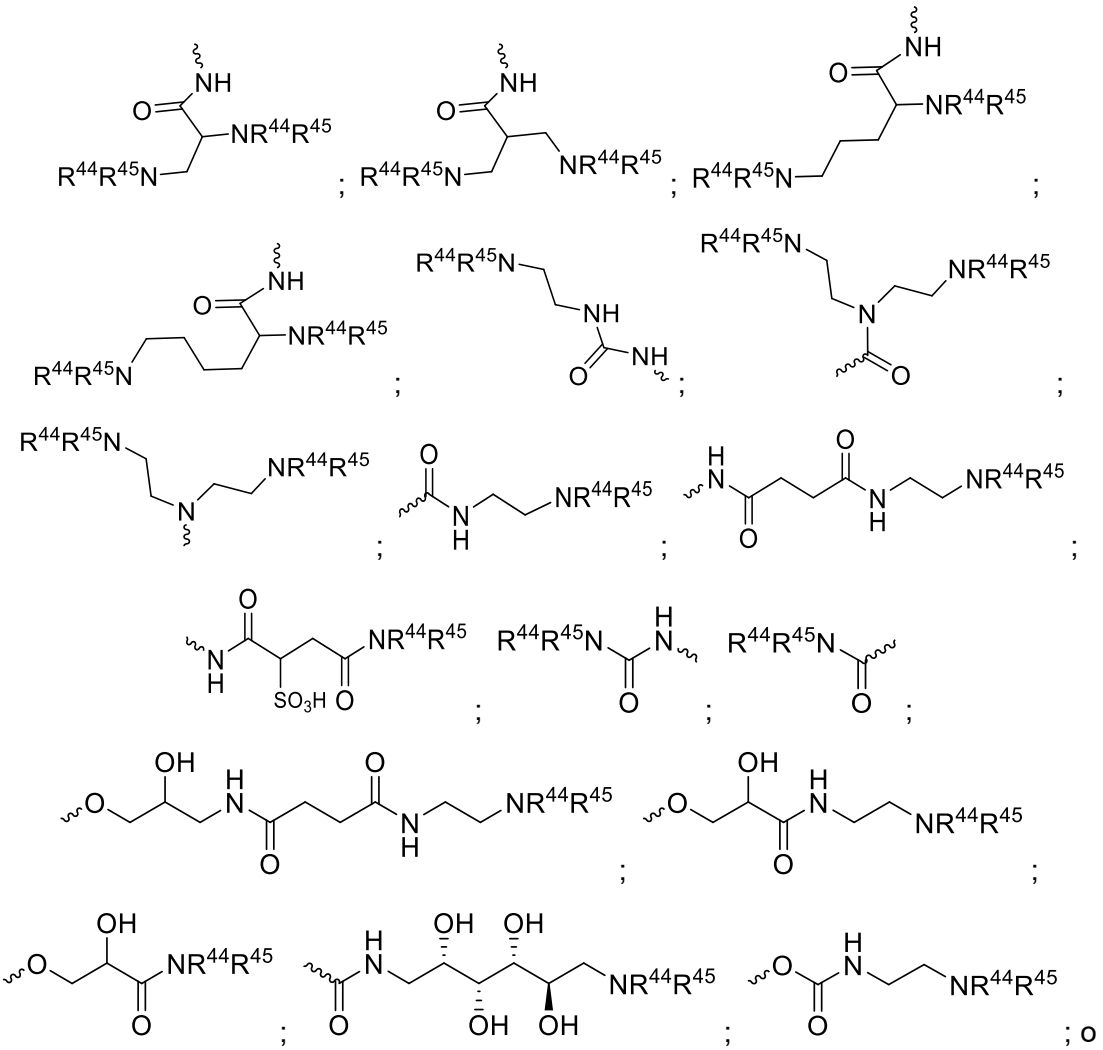
[0128] En algunas formas de realización, R^{43}-$(NR^{44}R^{45})_{n41}$ como se describe precedentemente tiene una de las siguientes estructuras:

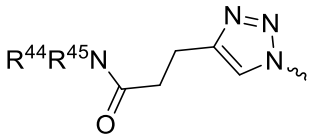

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;



[0129] o un estereoisómero de las mismas, donde R^a es H, C_1-C_6 alquilo, un grupo polihidroxilo, o un grupo polihidroxilo sustituido; p es un entero entre 1 y 6, y ( ) indica el sitio de unión de R^{43} al resto del grupo polar.

[0130] En algunas formas de realización, R^{43}-$(NR^{44}R^{45})_{n41}$ como se describe precedentemente tiene una de las siguientes estructuras:

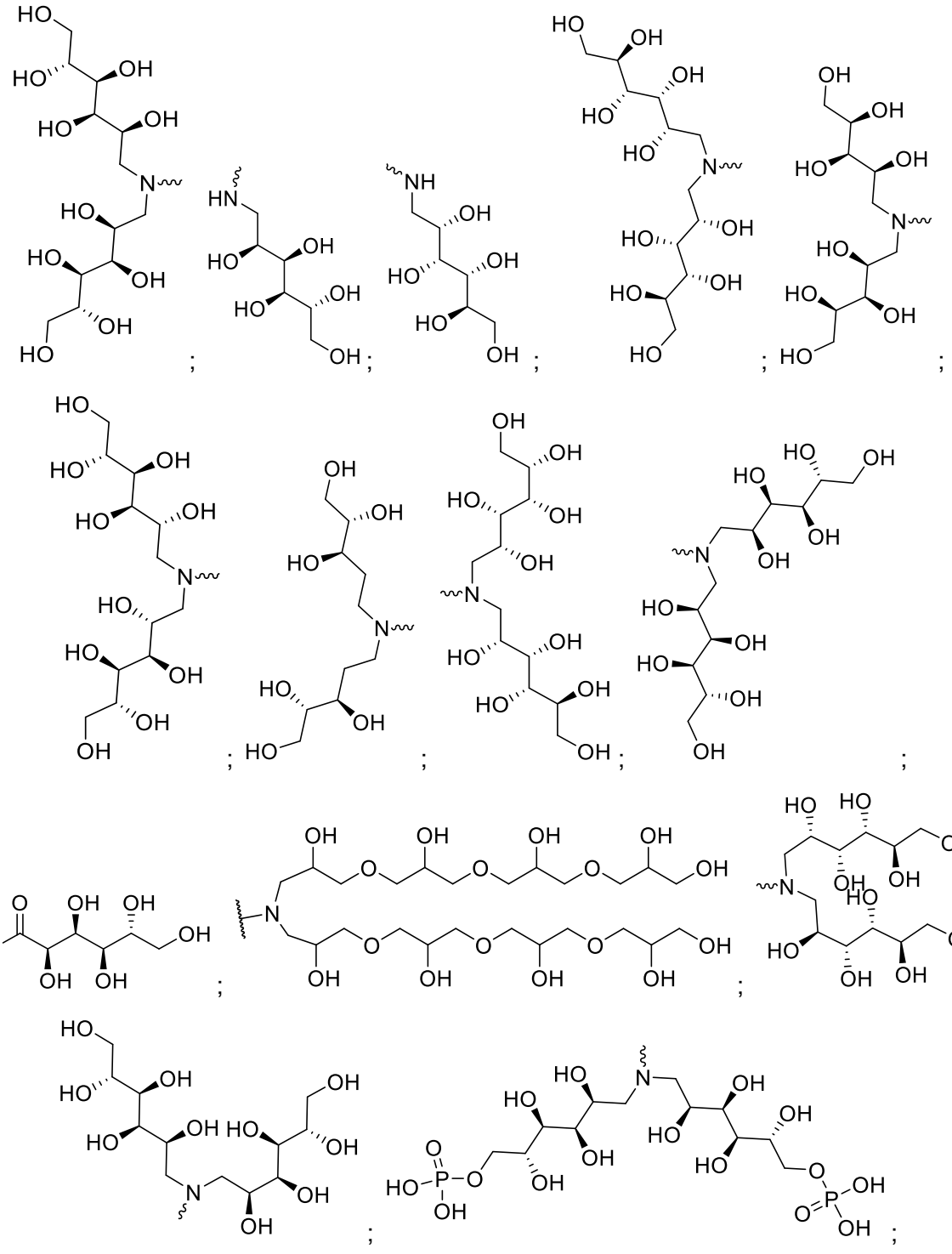


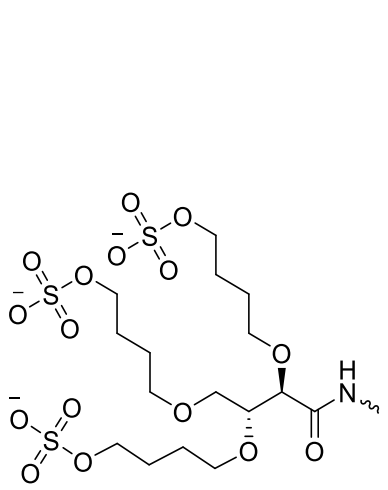
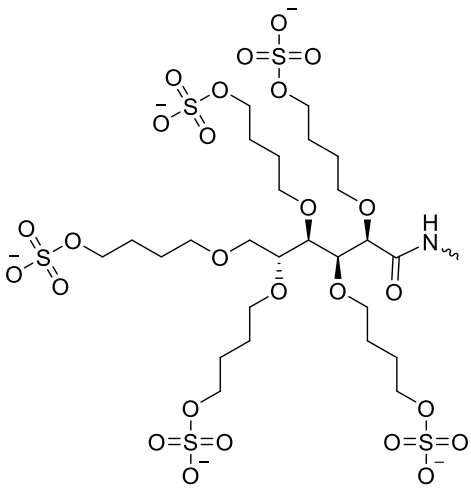


,

o un estereoisómero de las mismas, donde ( ) indica el sitio de unión de R^{43} al resto del grupo polar.

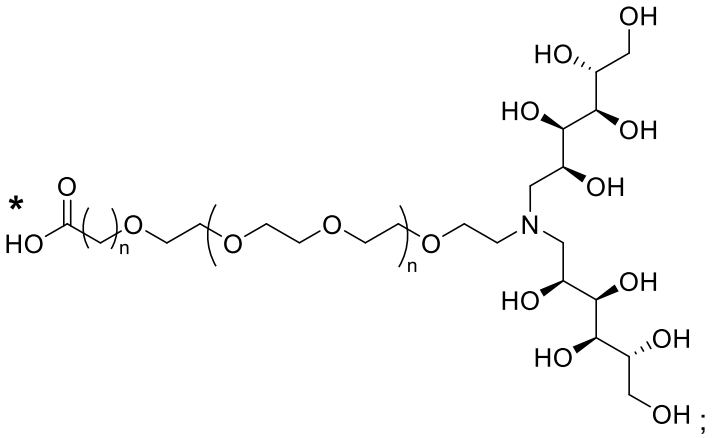
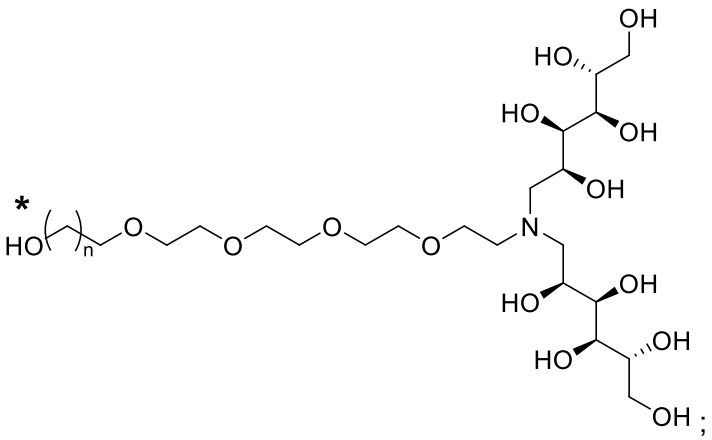
[0131] En algunas formas de realización, $-NR^{44}R^{45}$ como se describe precedentemente tiene una de las siguientes estructuras:

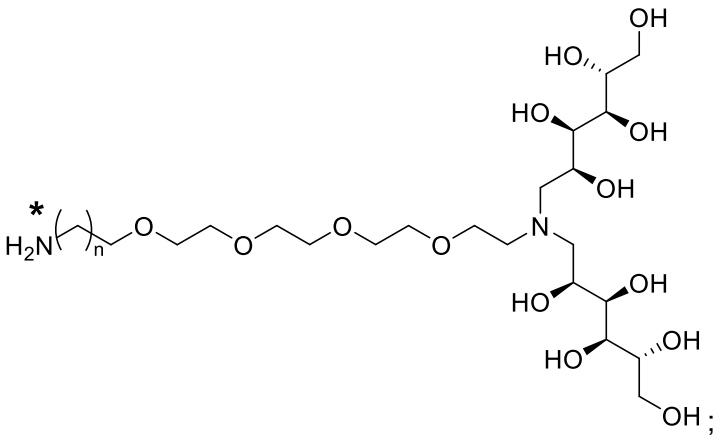


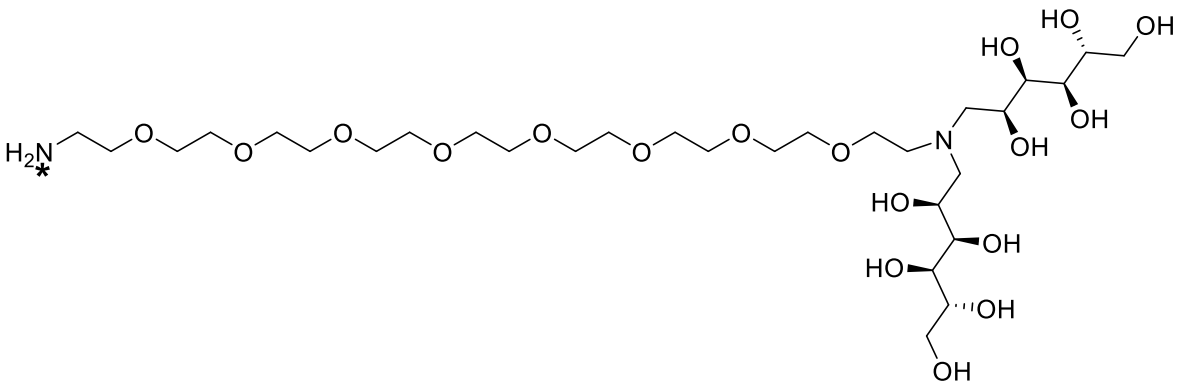

; o

,

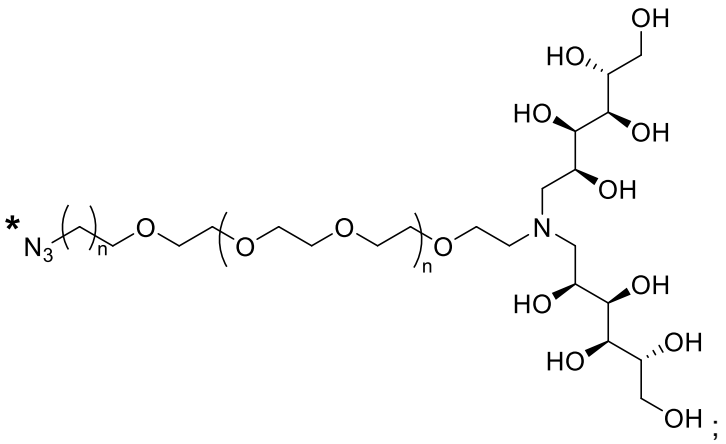
o un estereoisómero de las mismas, donde ( ) indica el sitio de unión de -$NR^{44}R^{45}$ al resto del grupo polar.

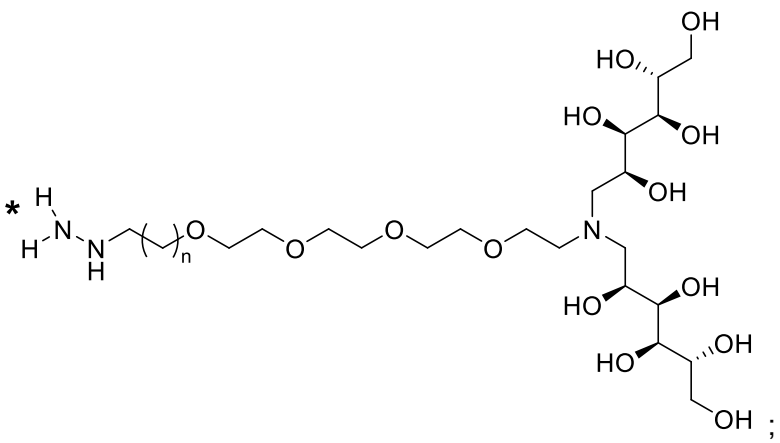
[0132] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una de las siguientes estructuras antes de unirse a la unidad conectora:

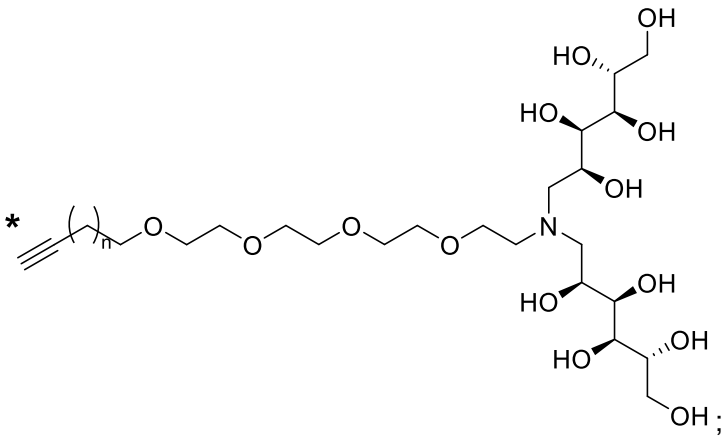

;

;

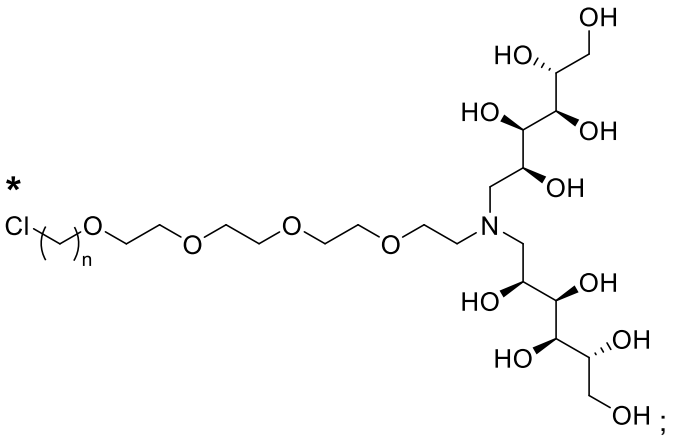


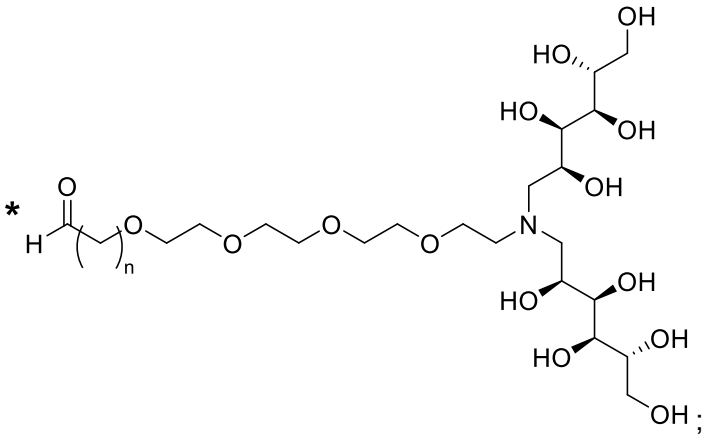


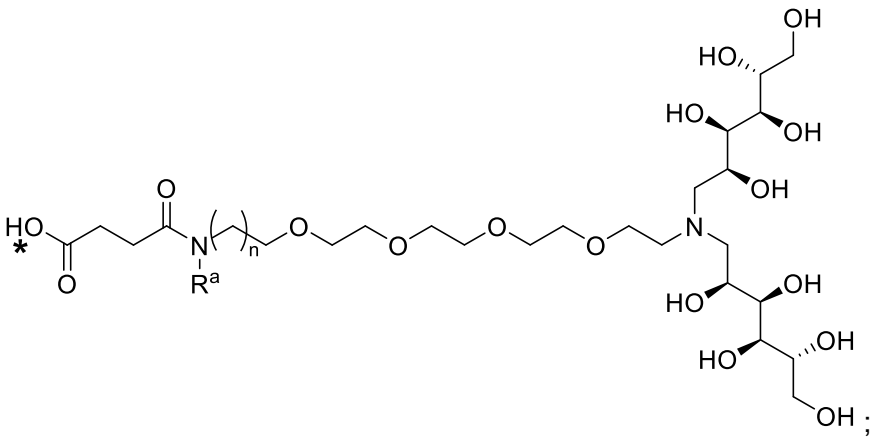


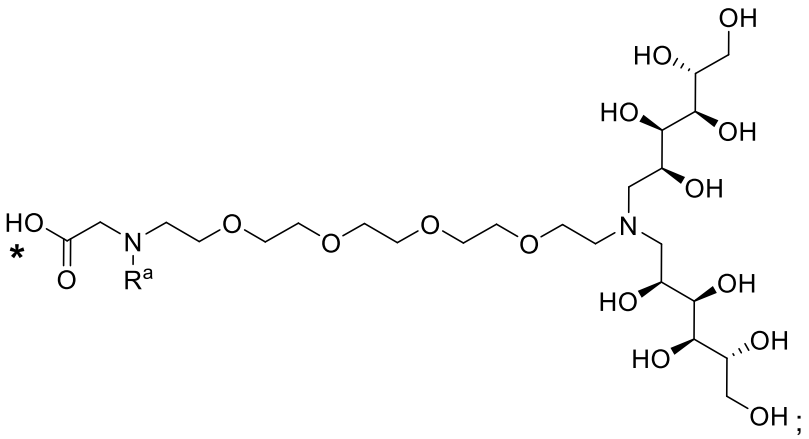




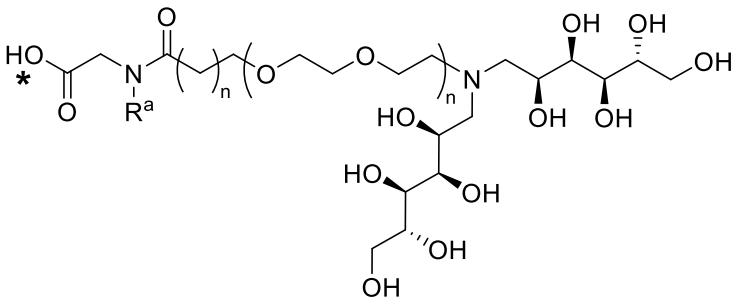




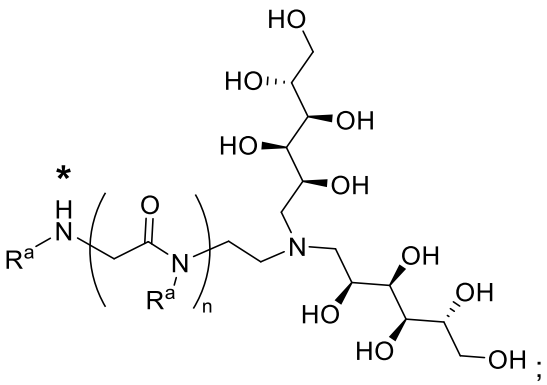




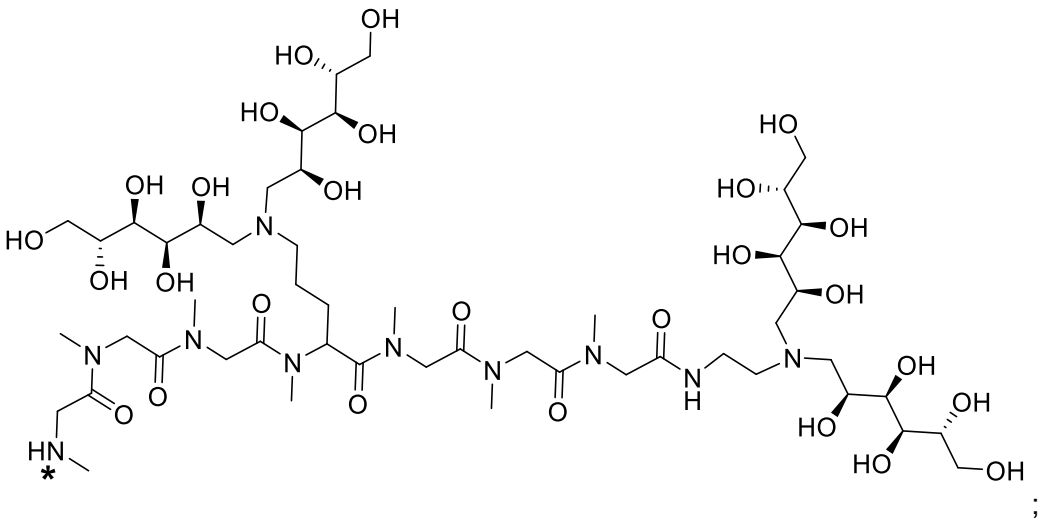
;



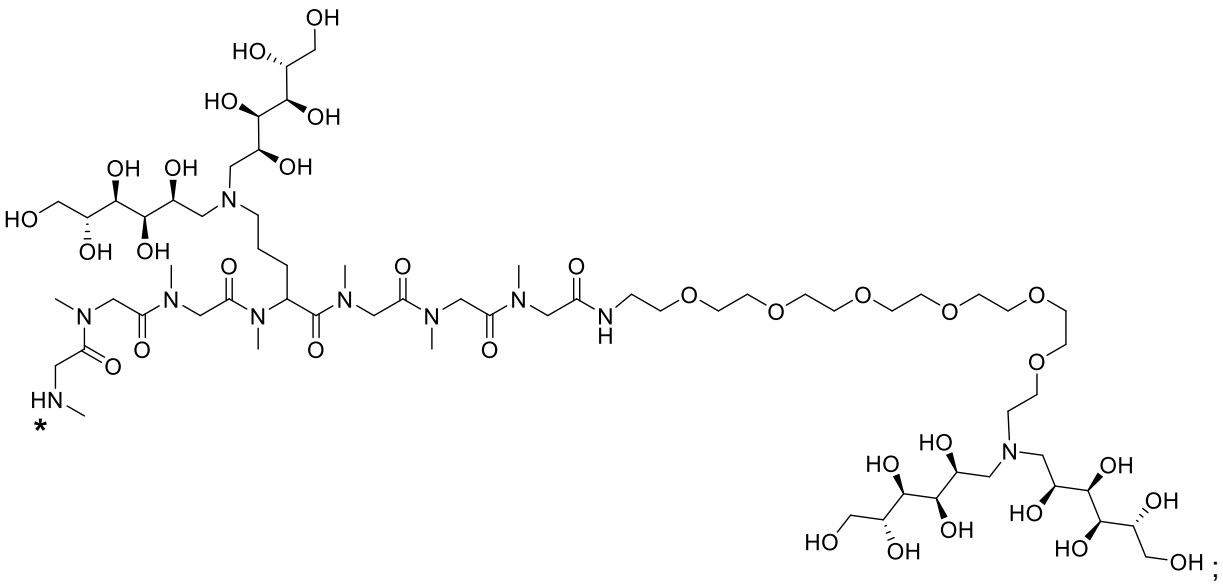
;



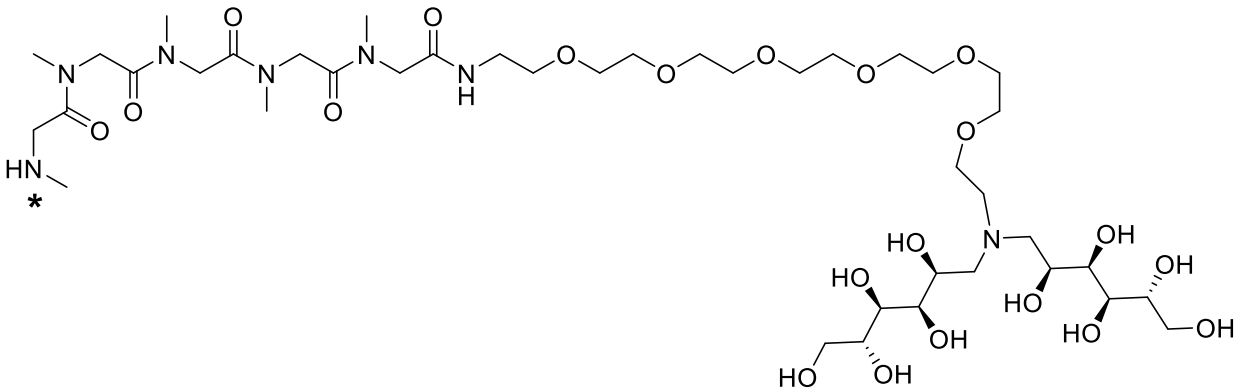
;



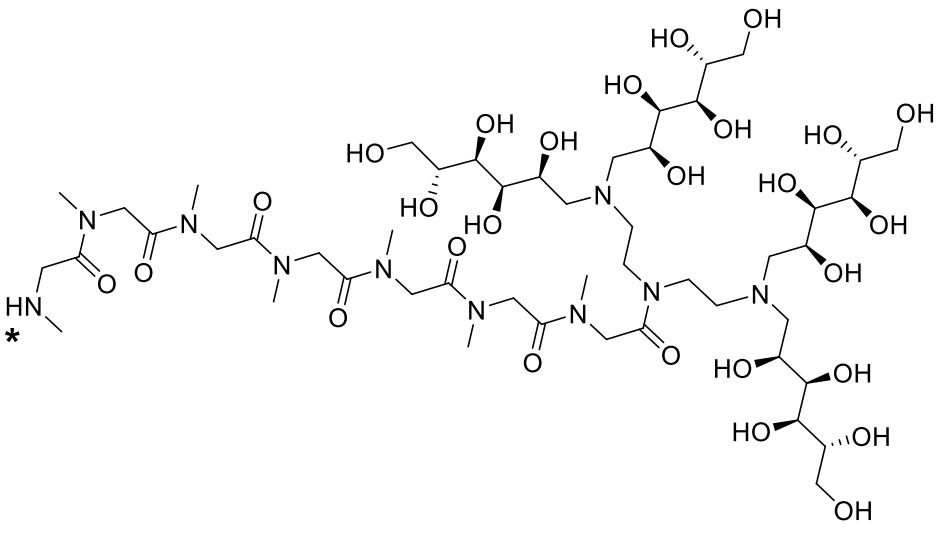
;



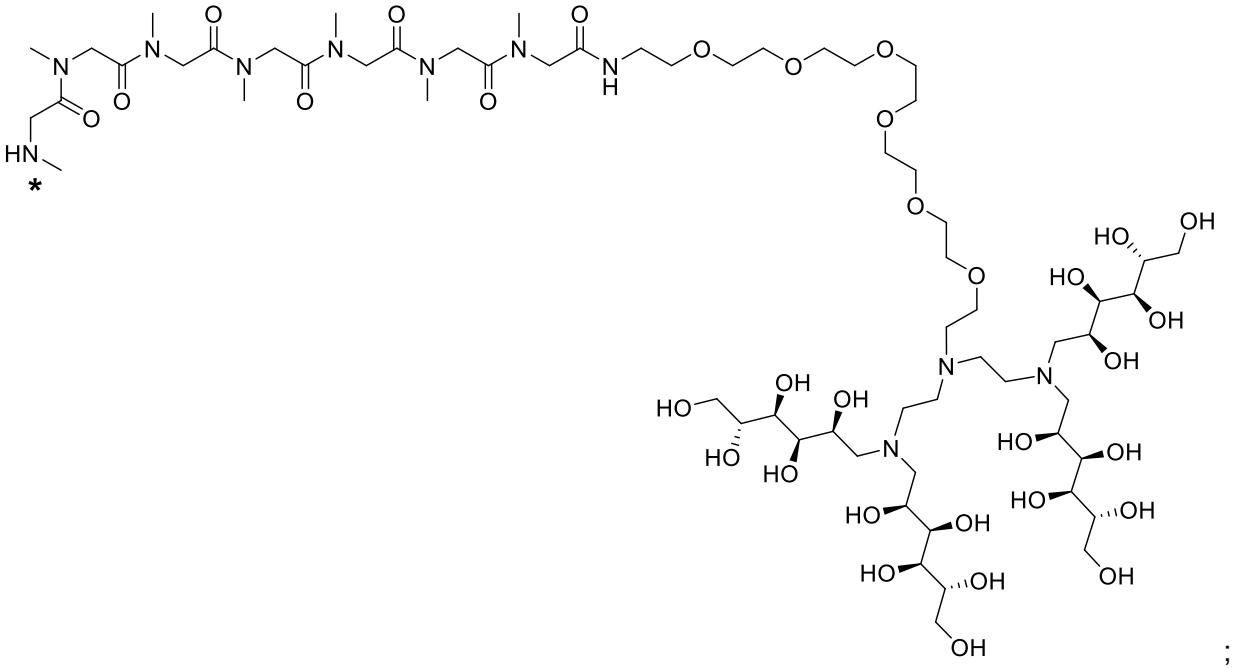
;



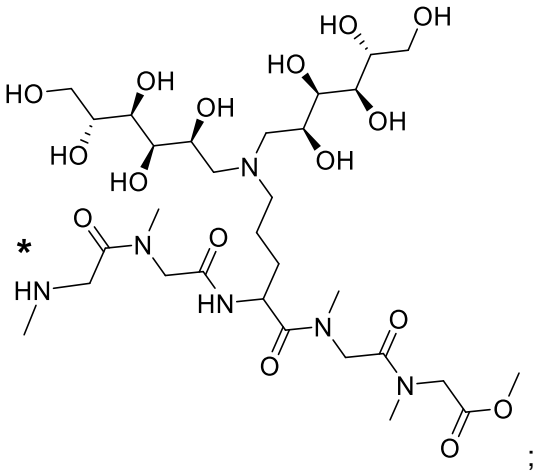
;



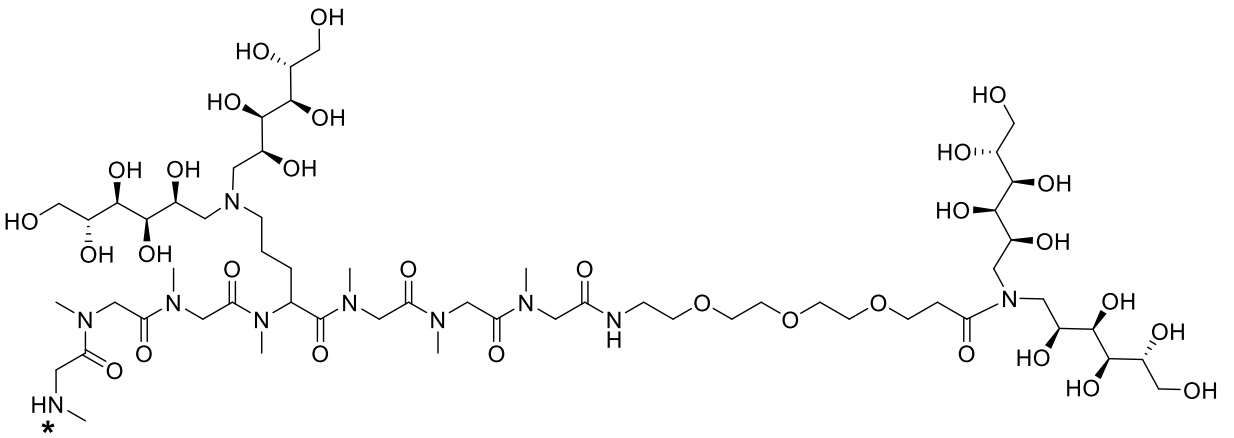
;



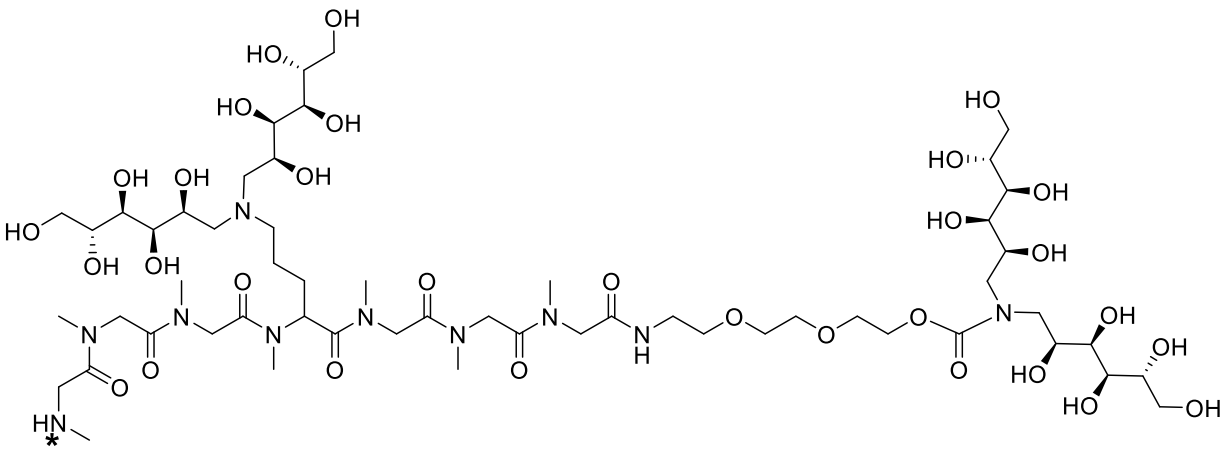
;



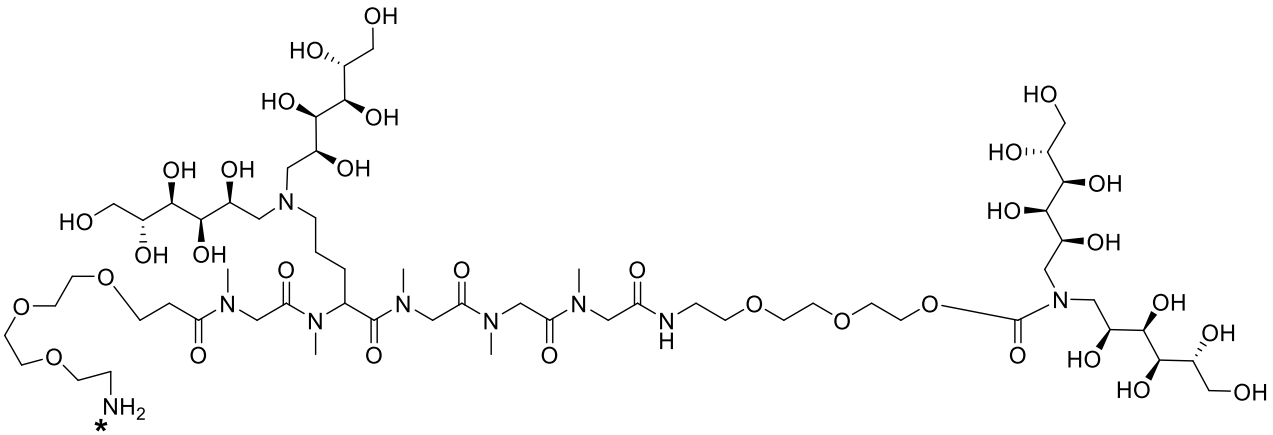
;



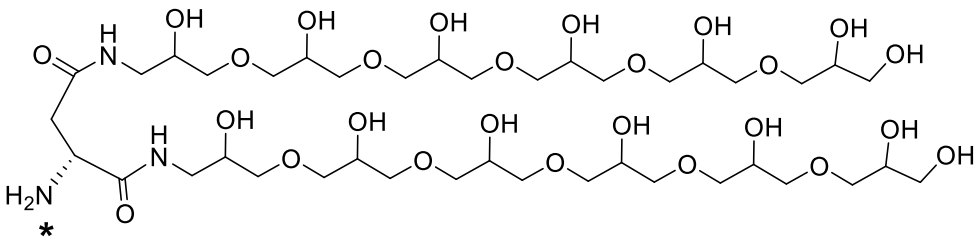
;

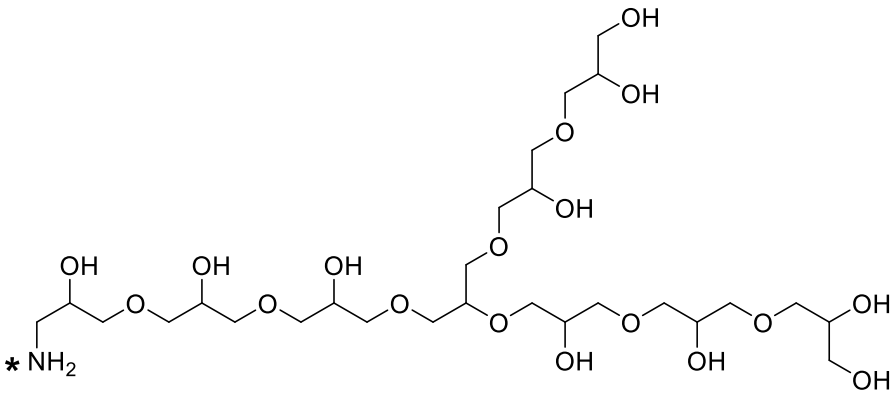


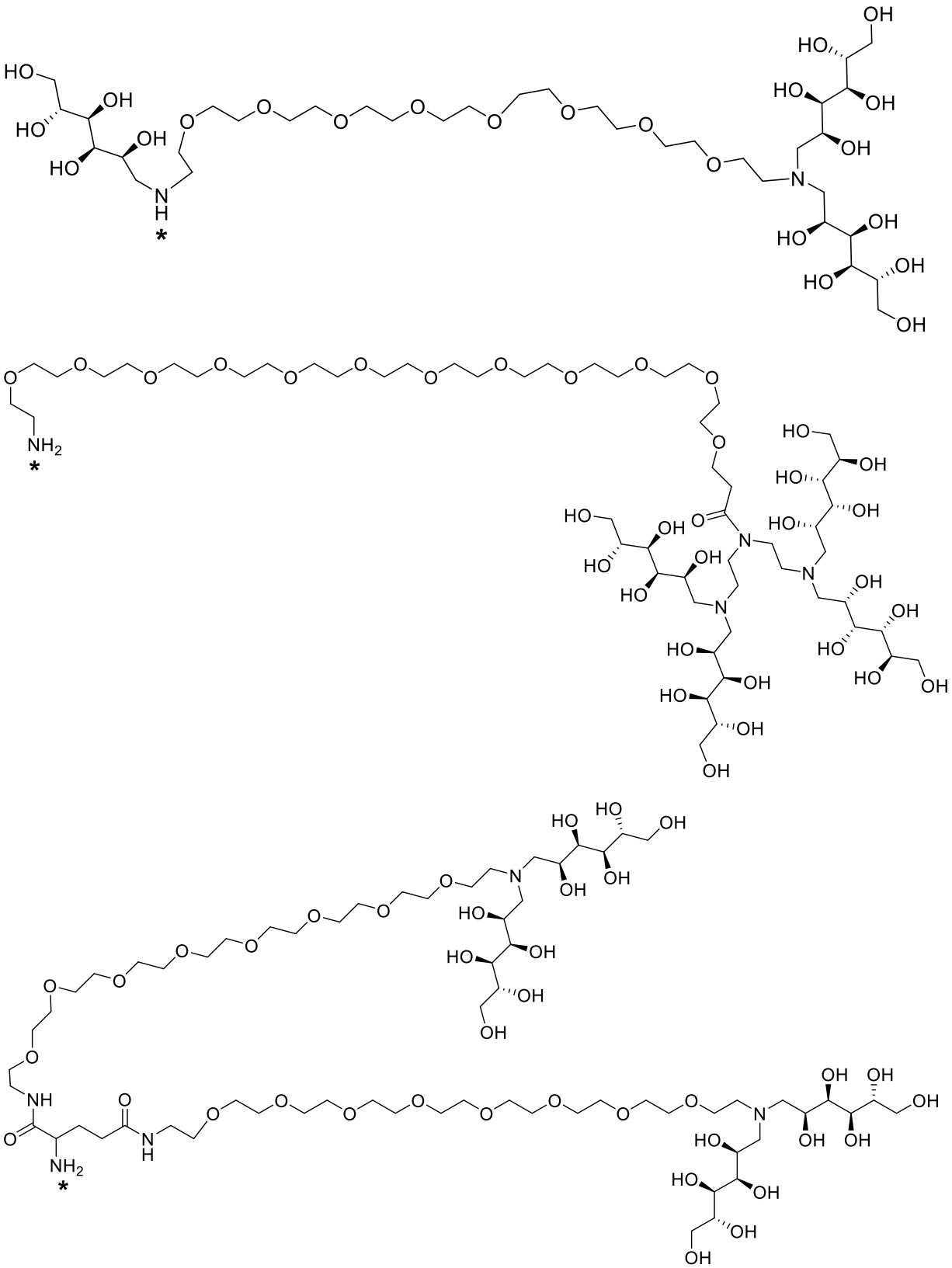
;

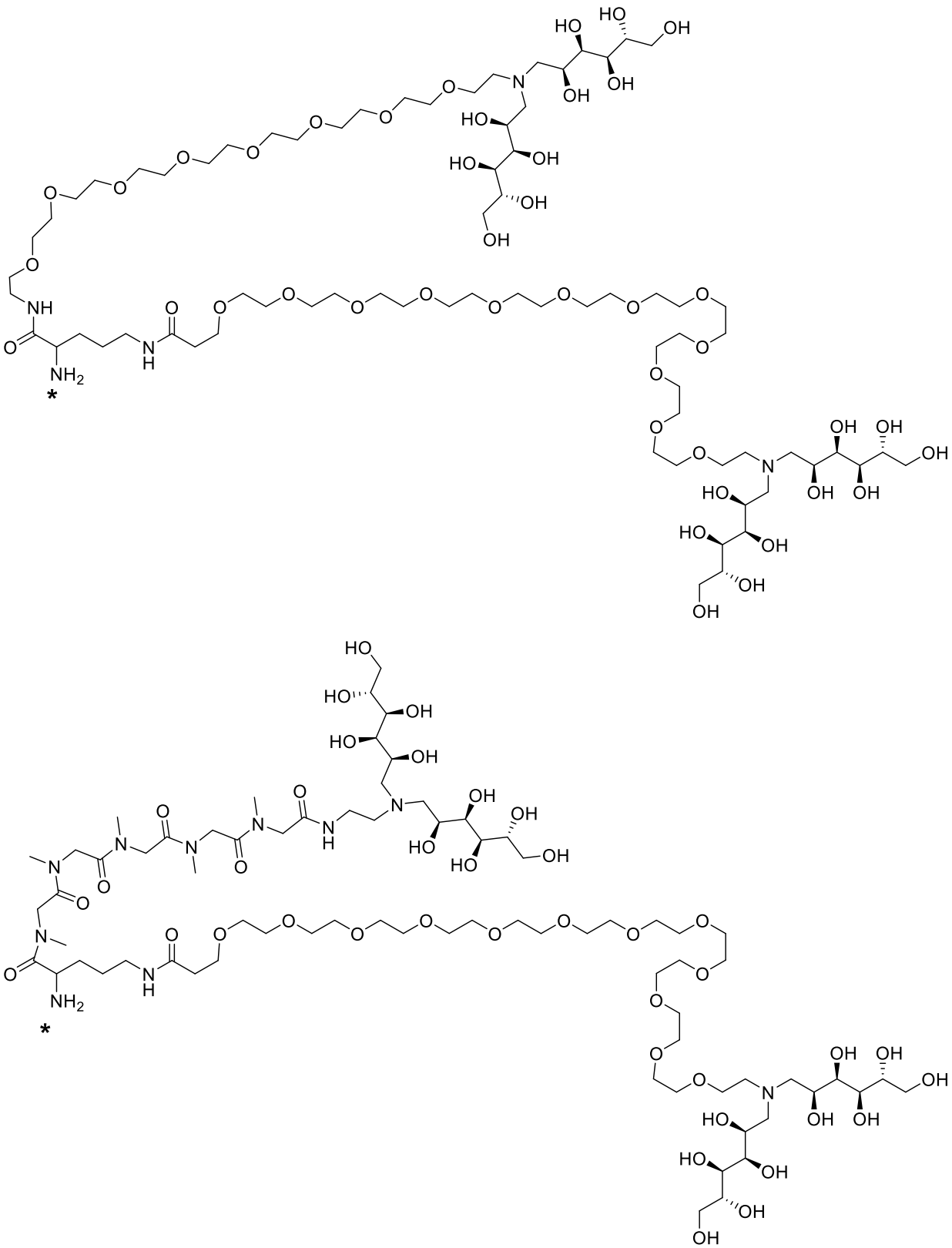


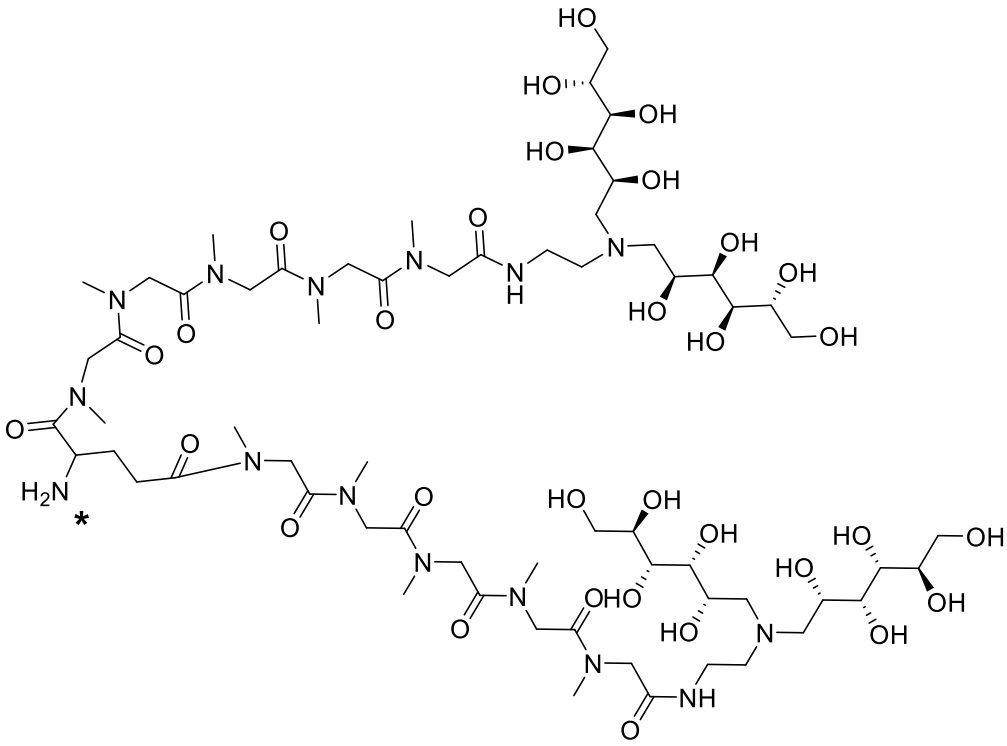
;

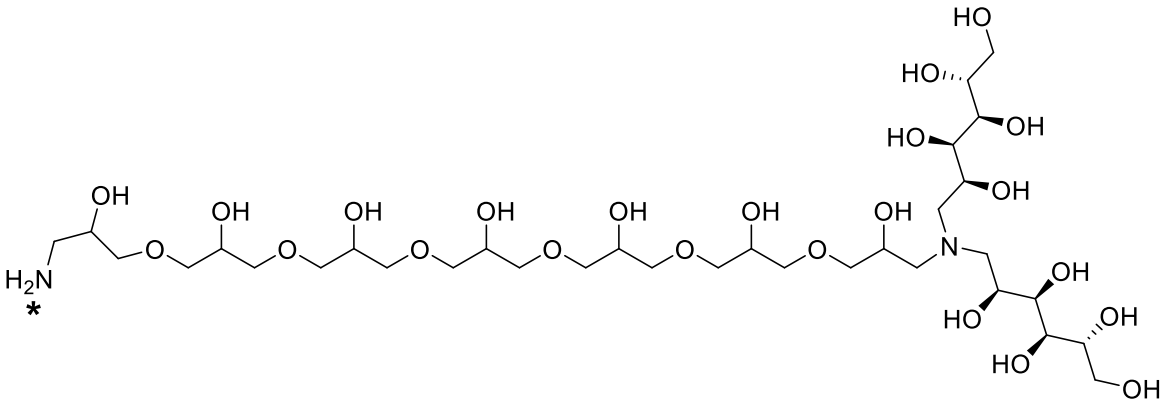


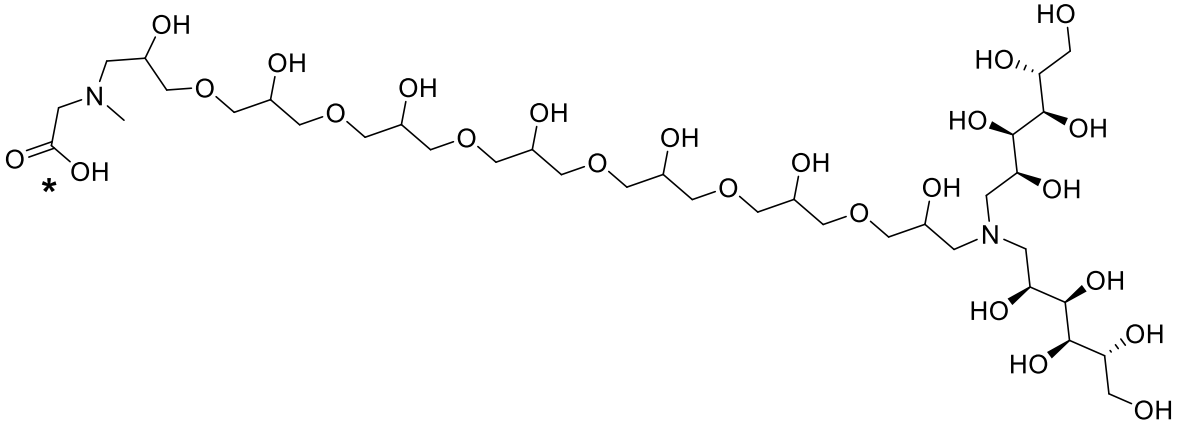


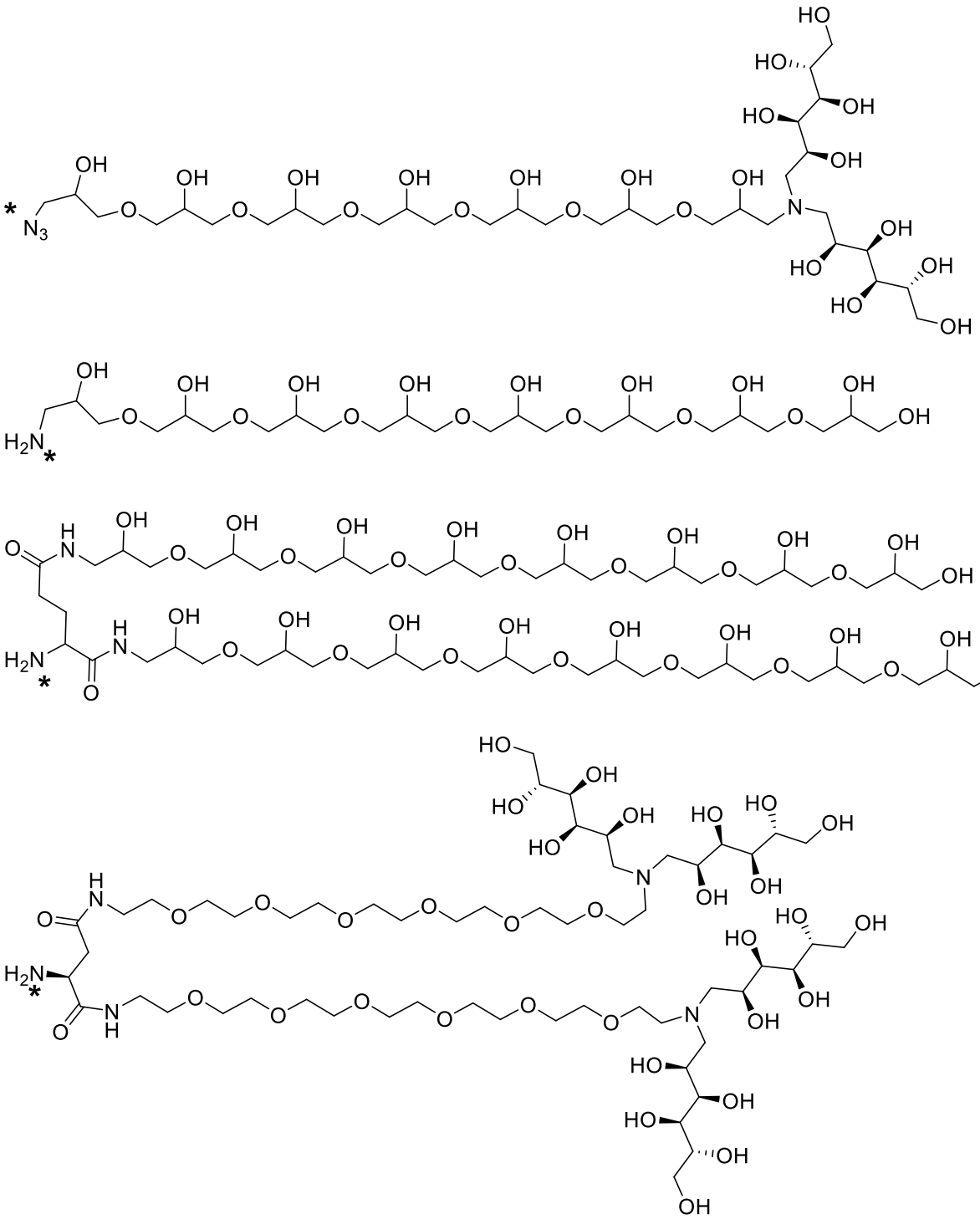


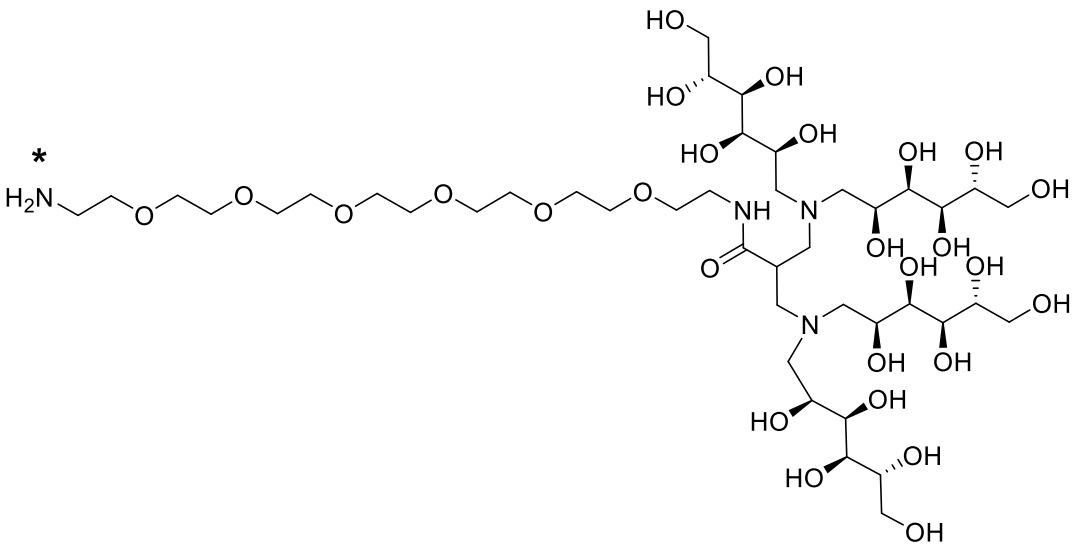


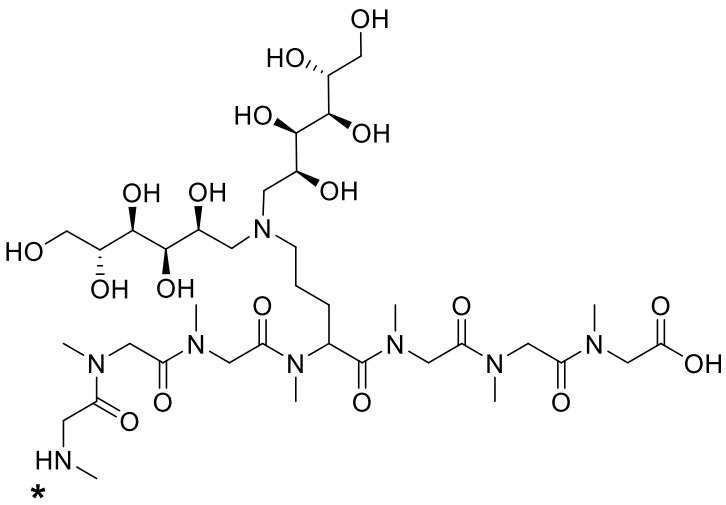


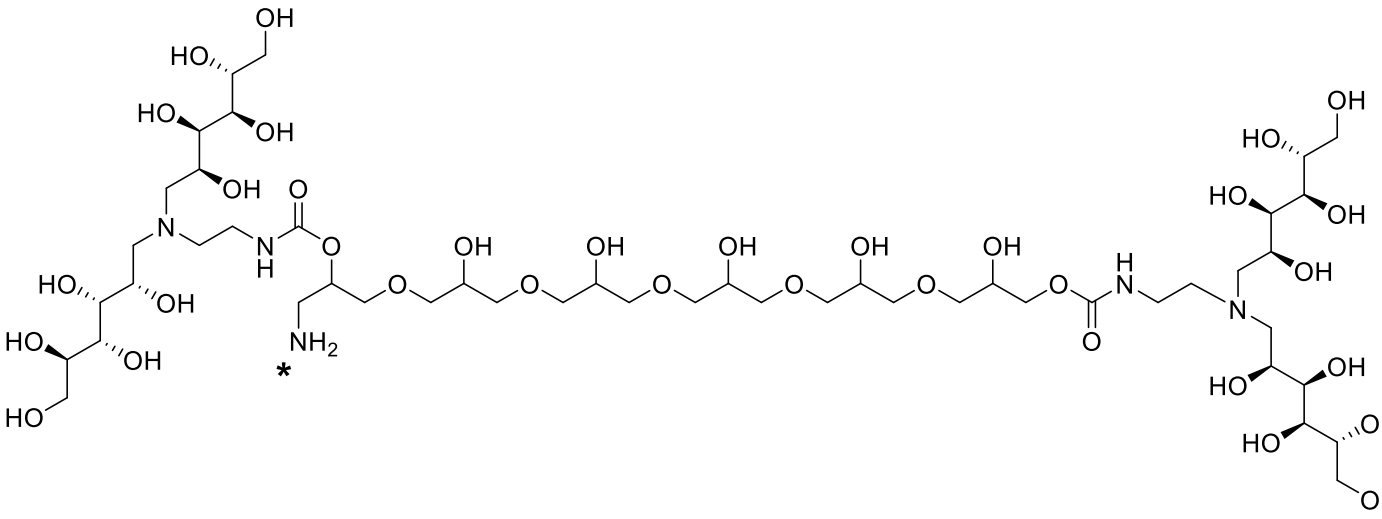


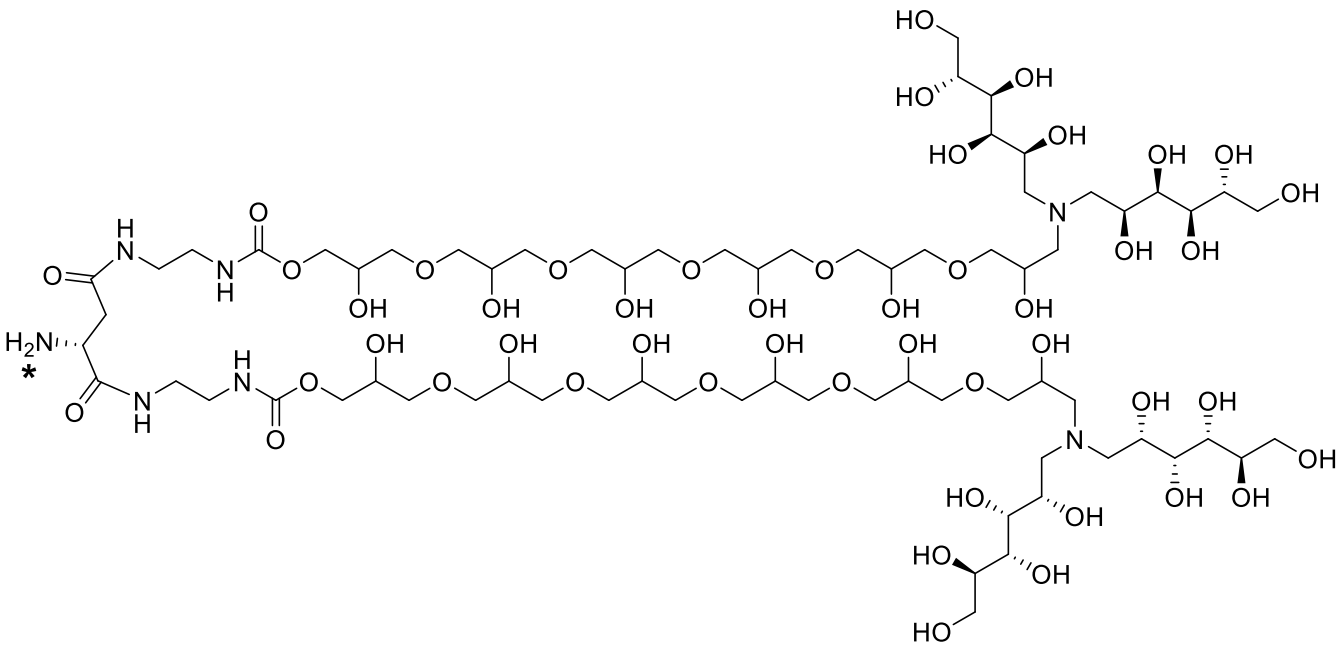


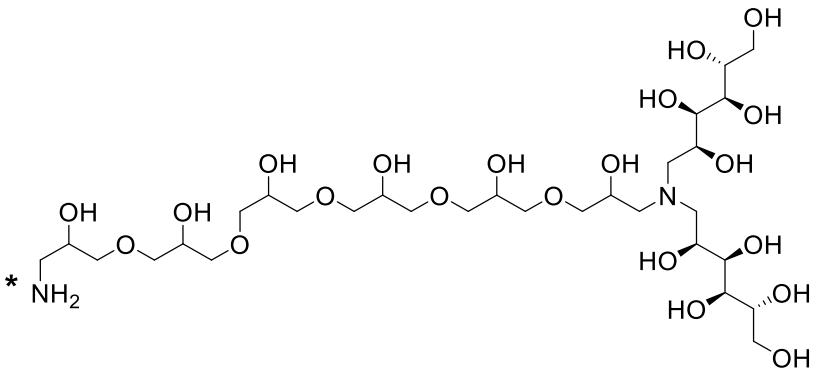


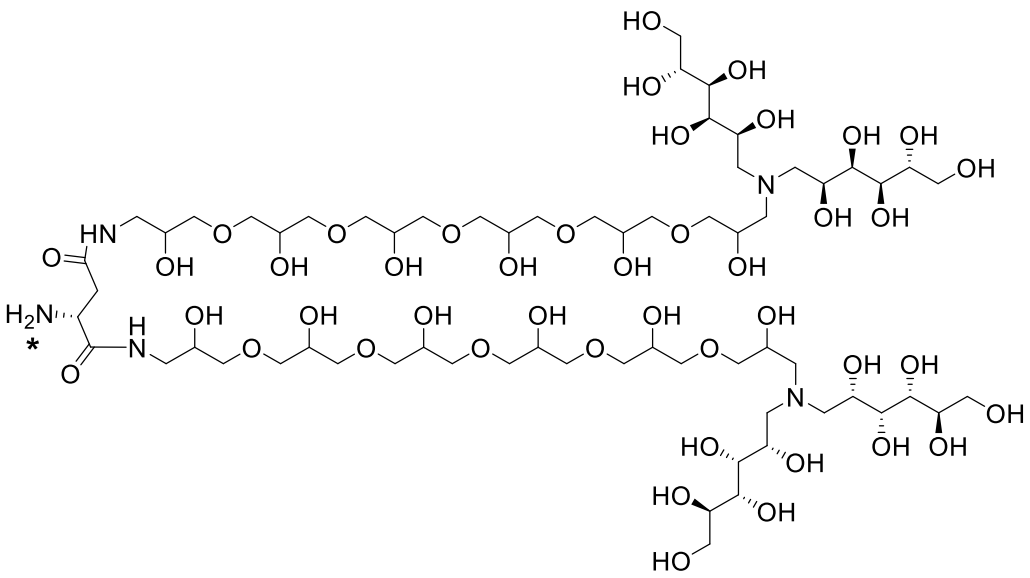


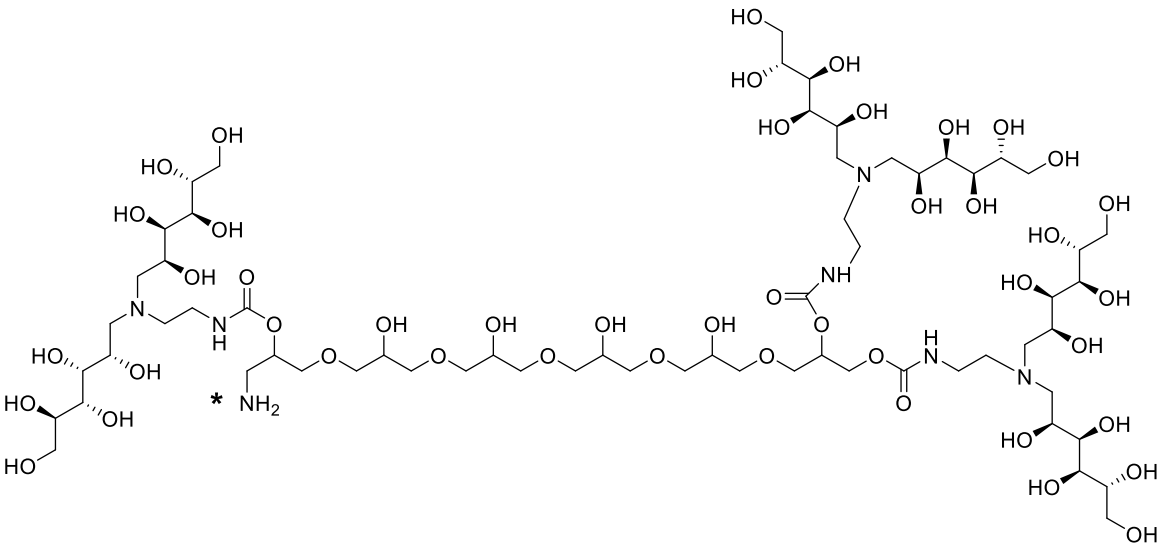


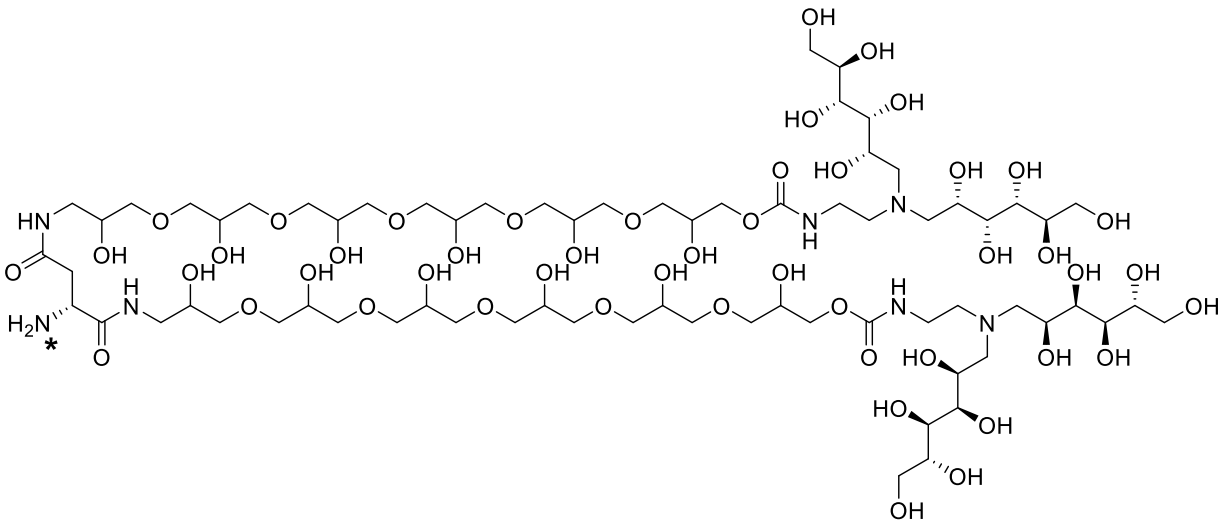


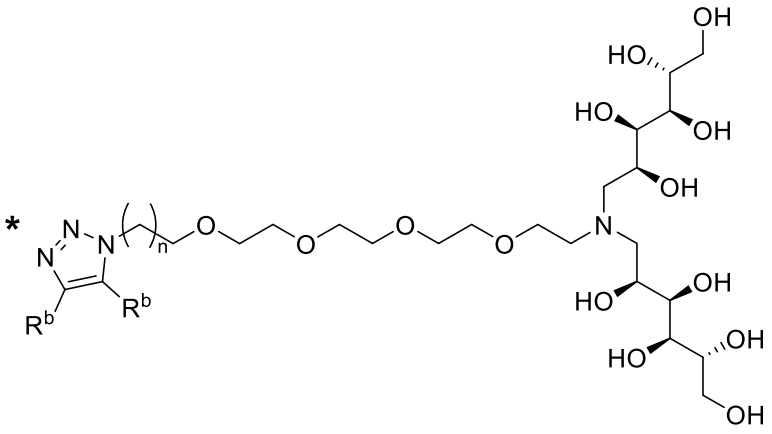


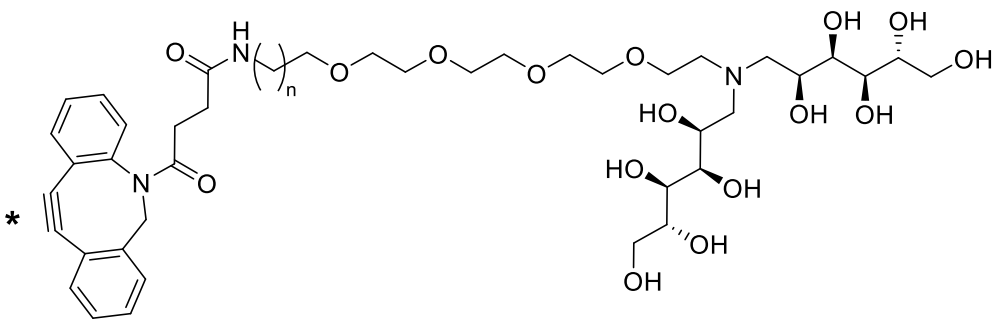


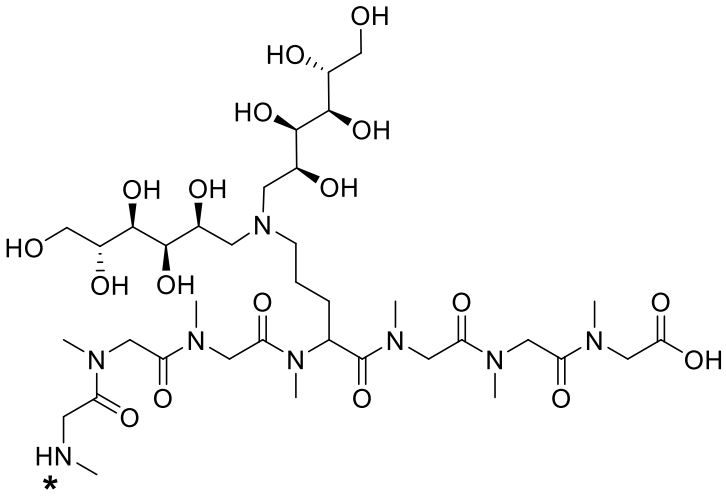




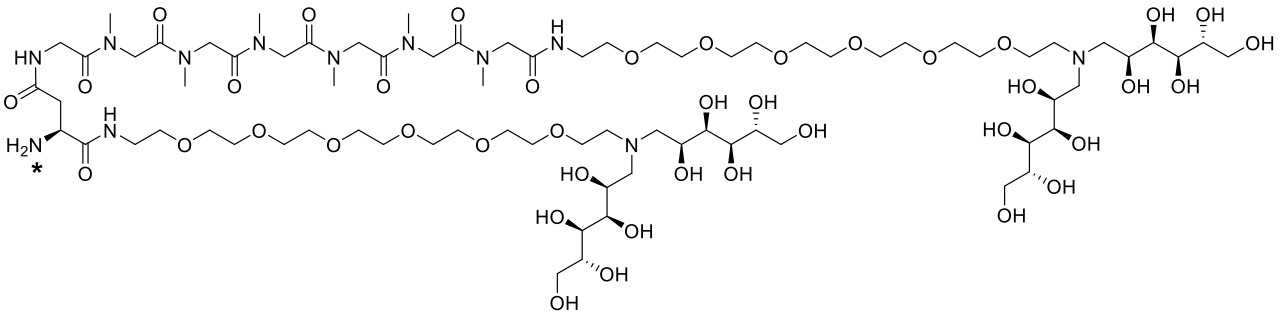



;

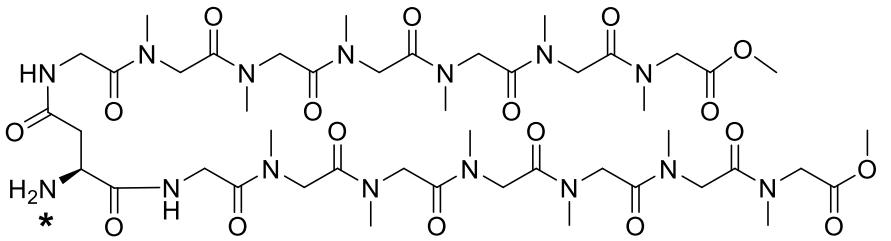

;



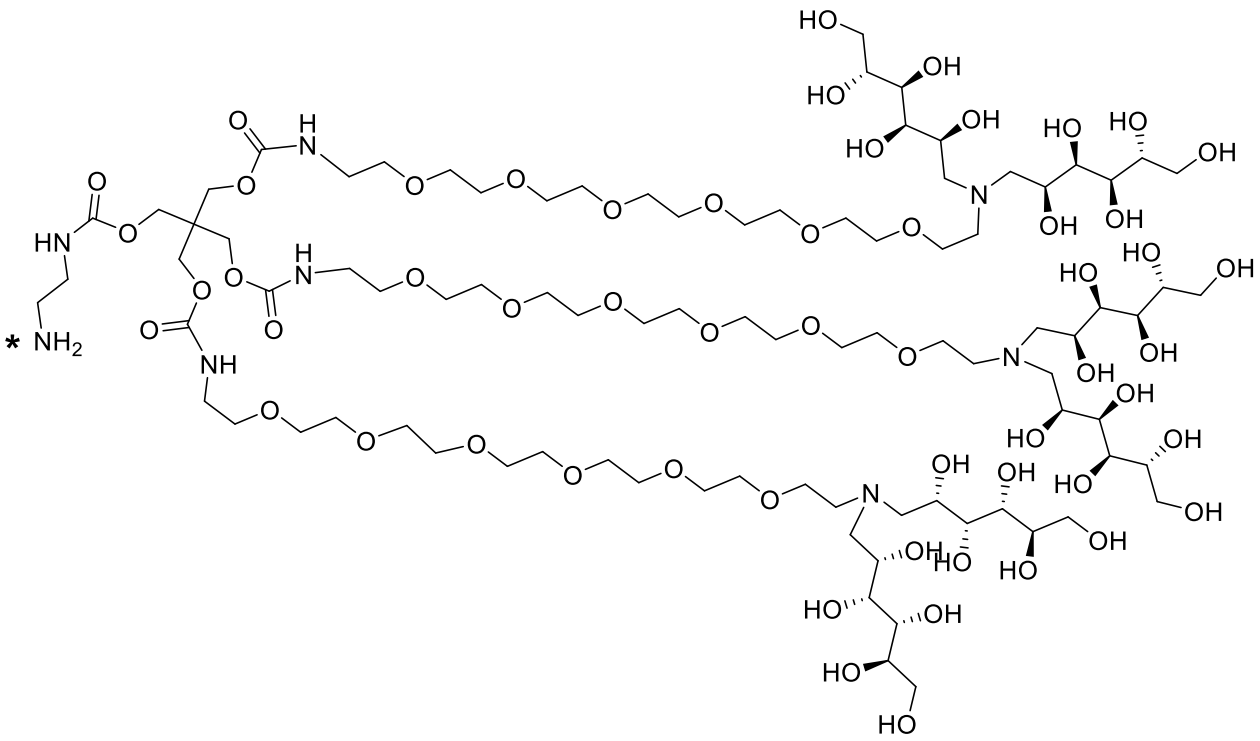
;



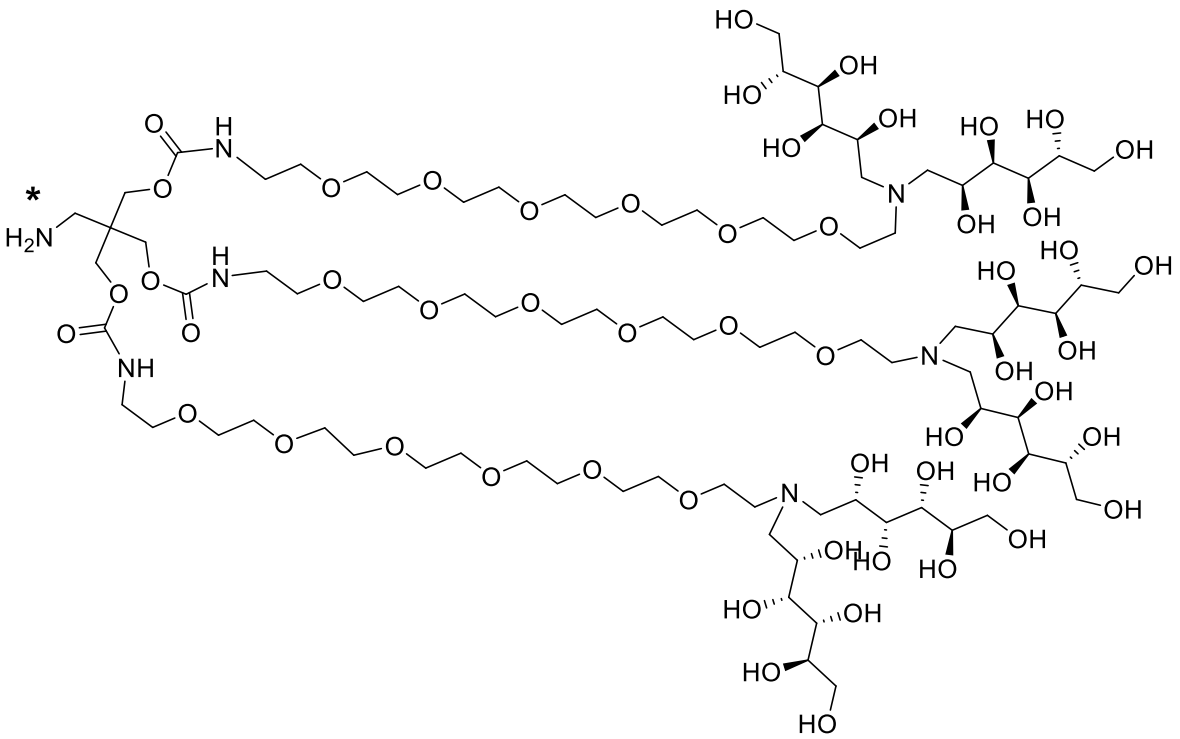
;



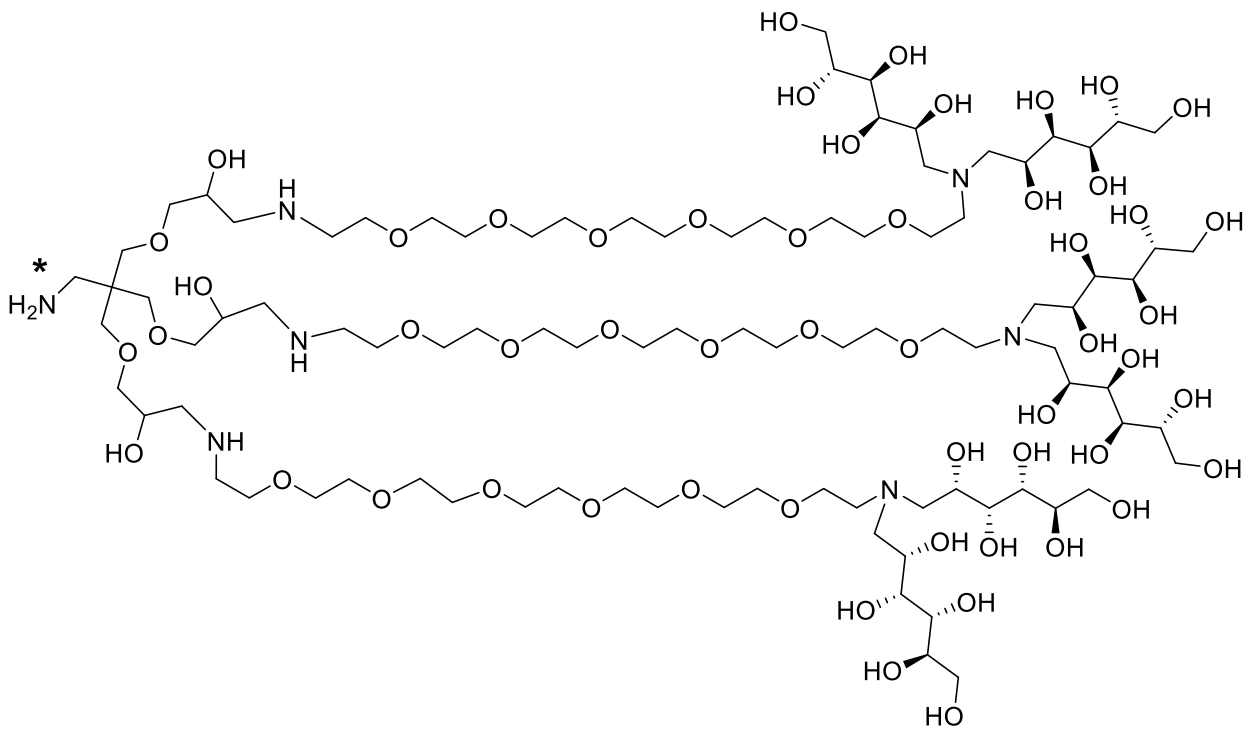
;



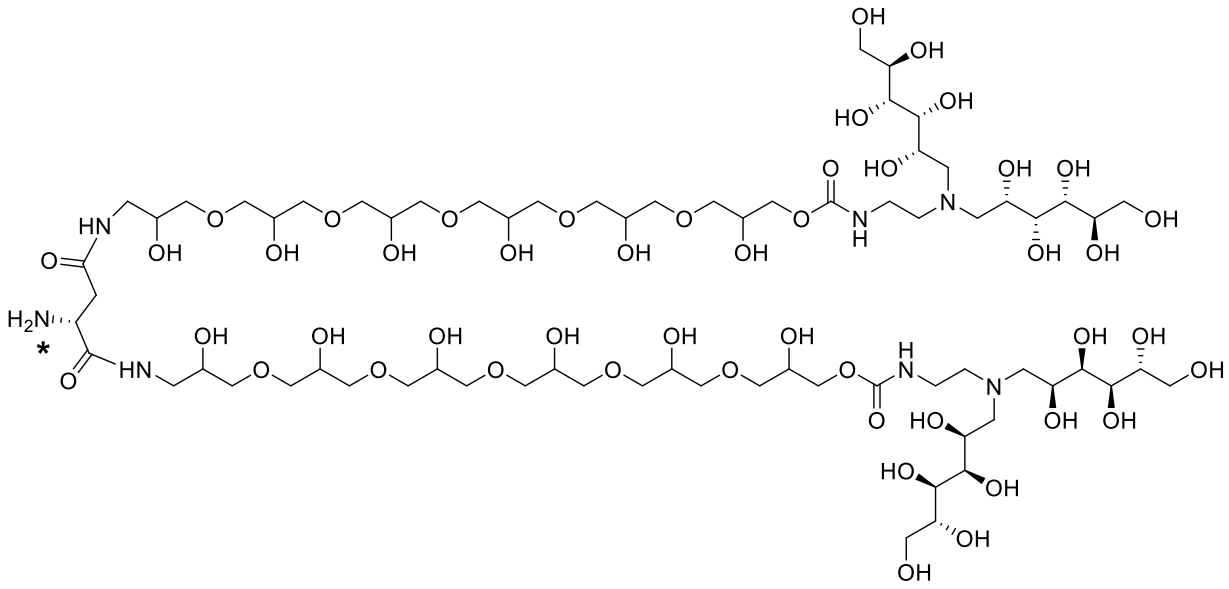
;



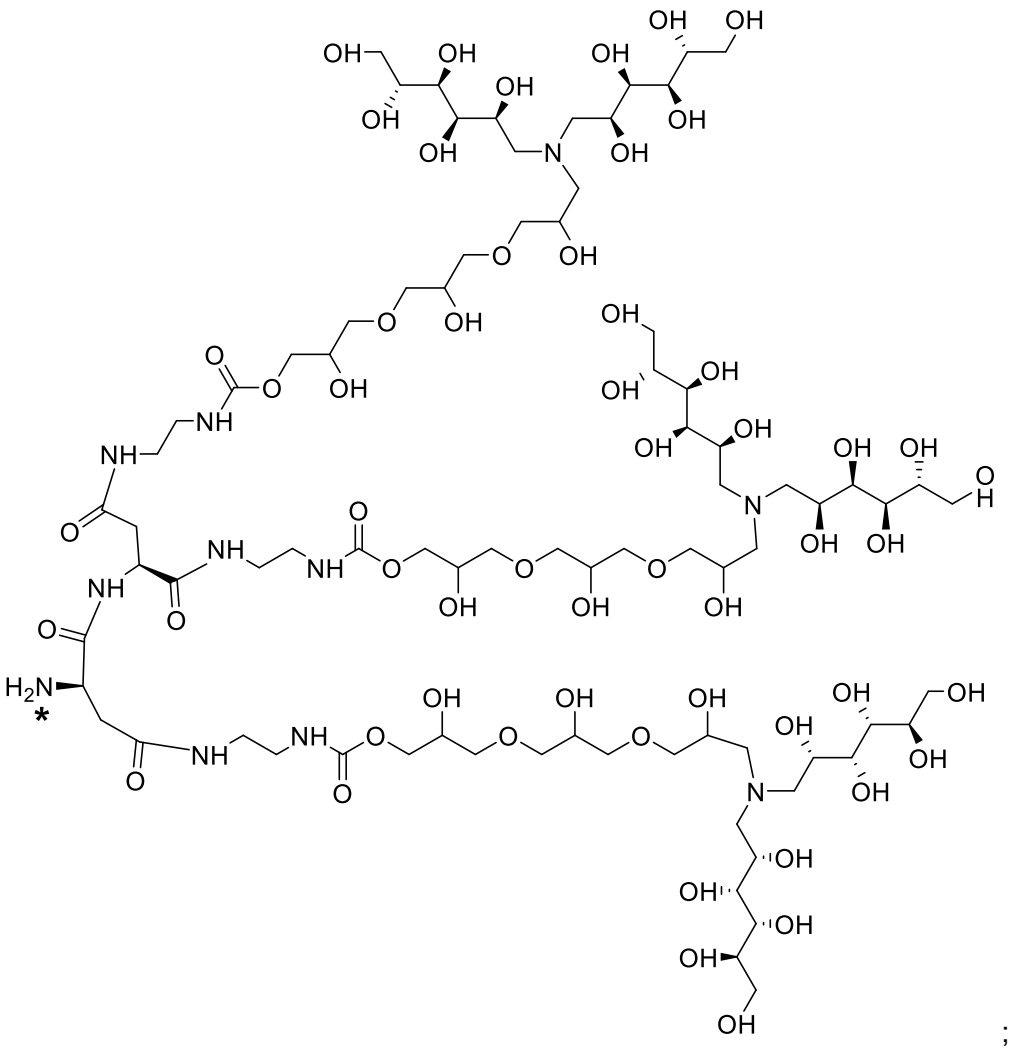
;



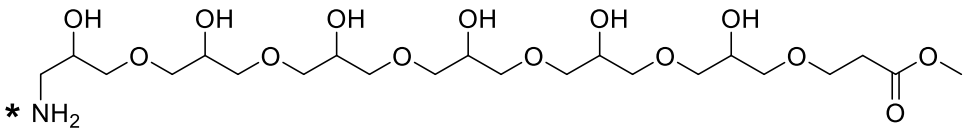
;



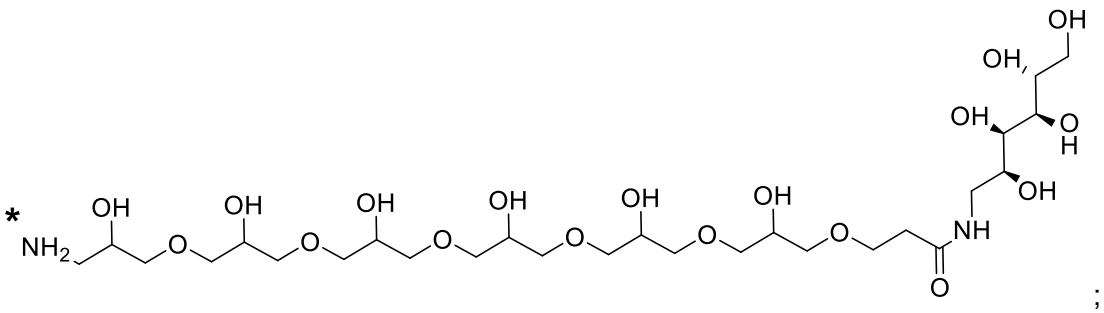
;



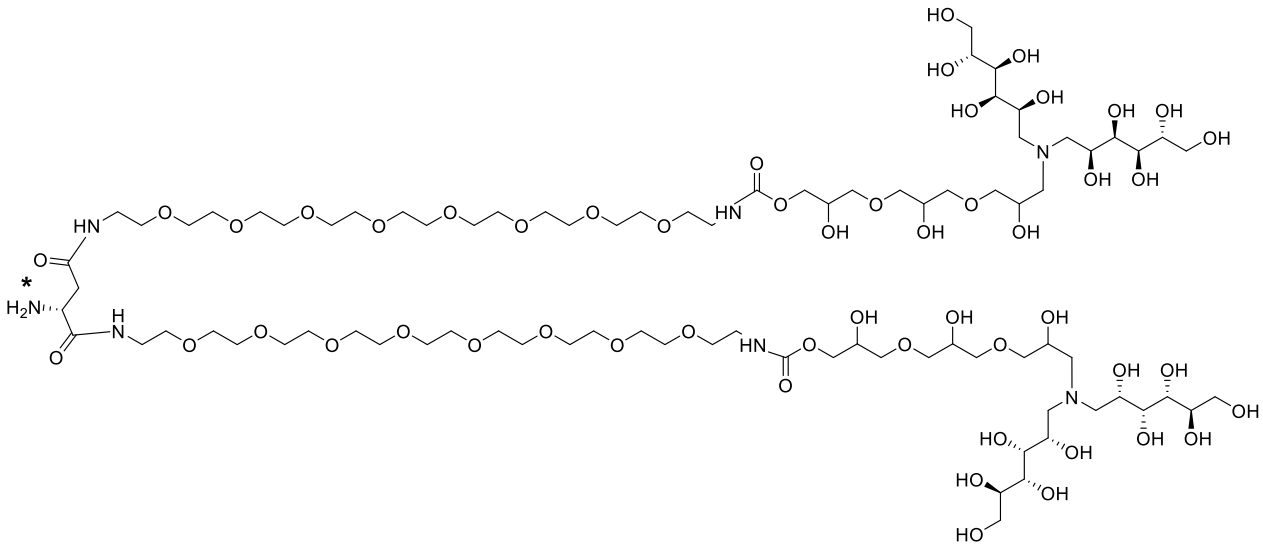
;



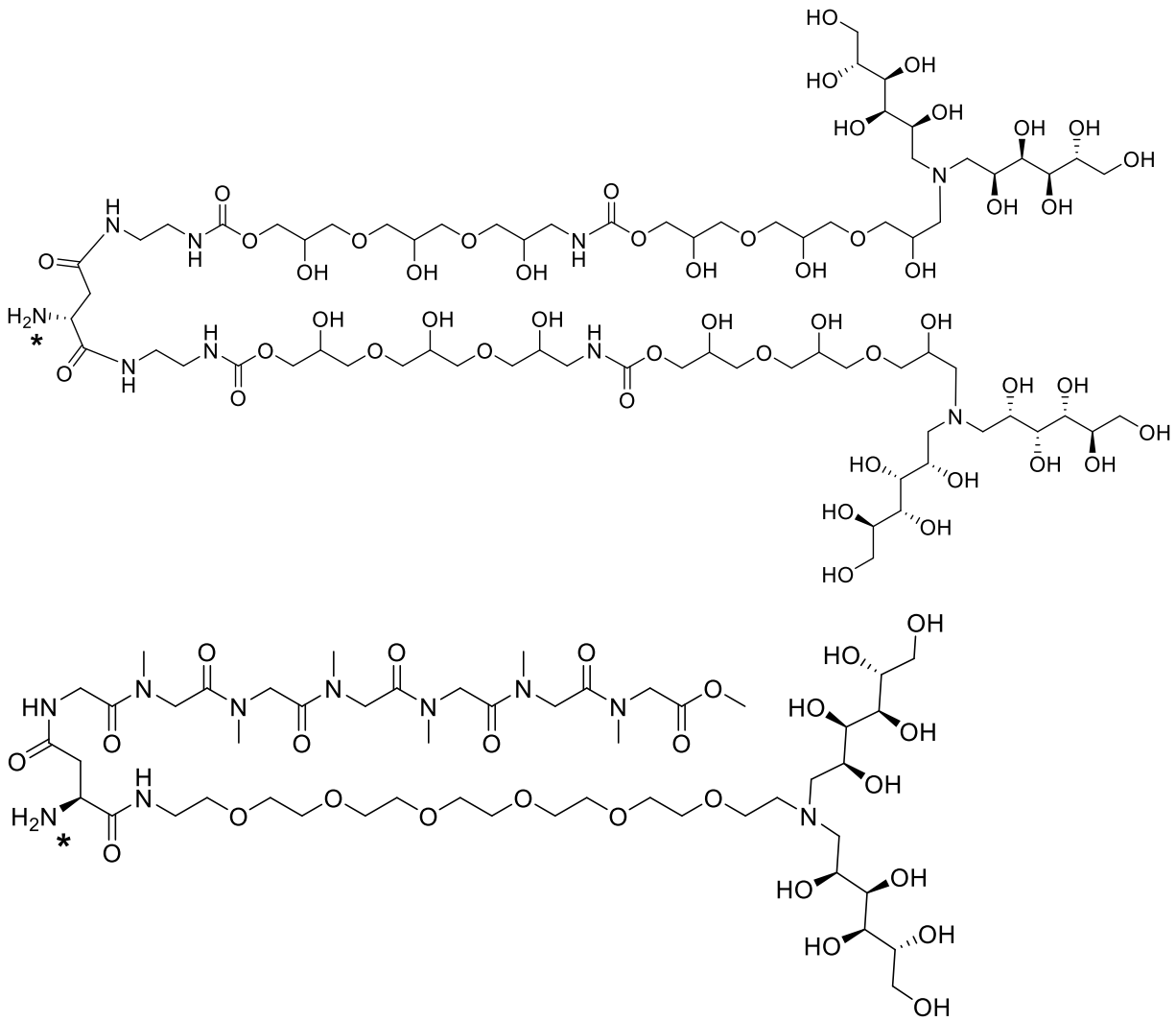
;

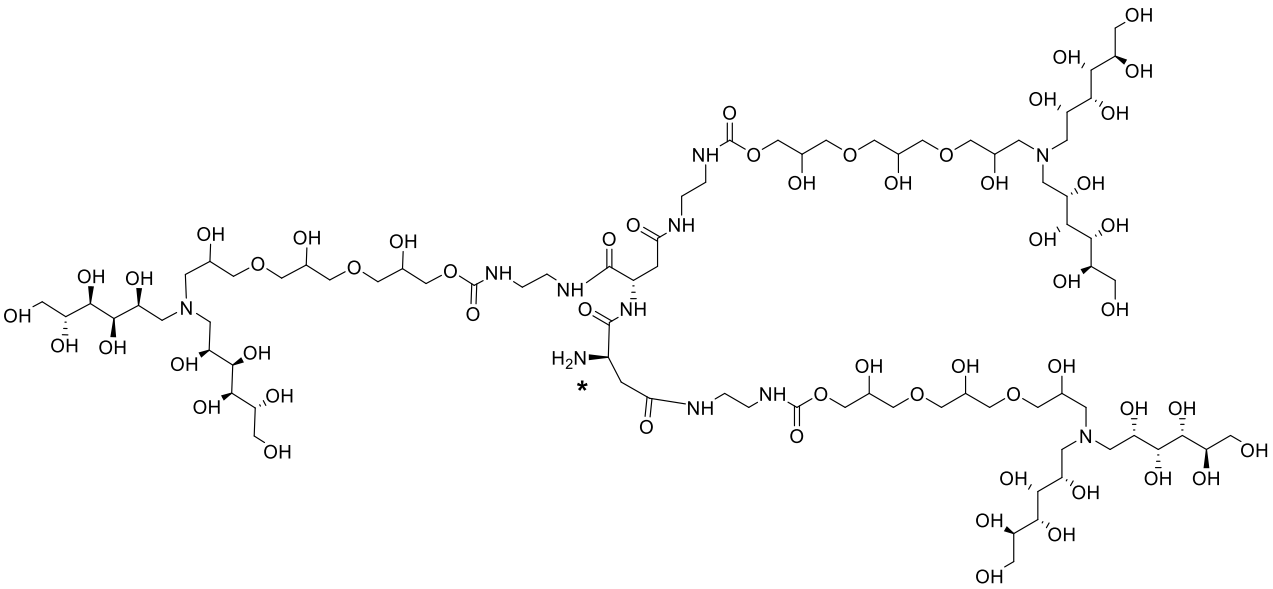


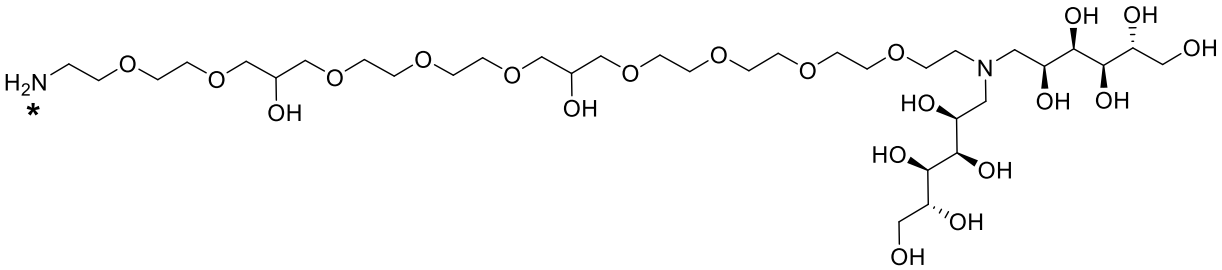
;

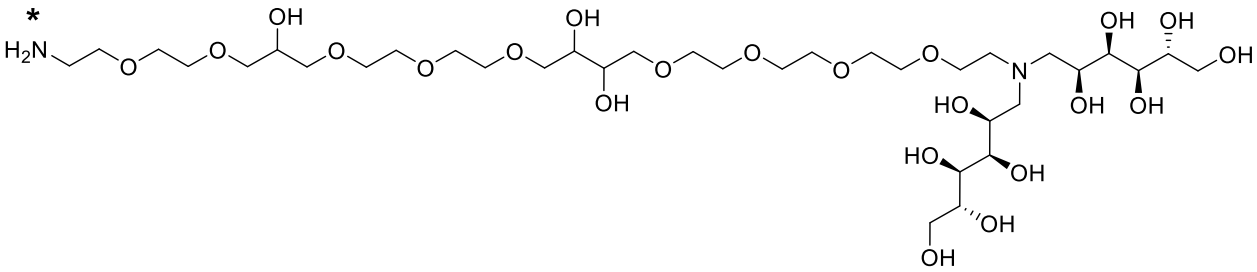


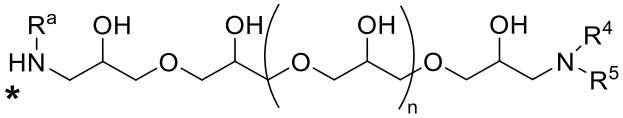
;

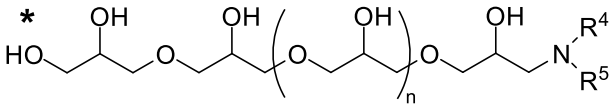


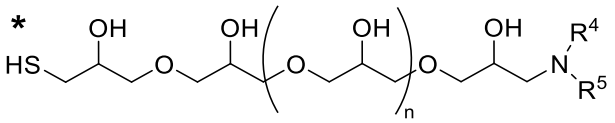


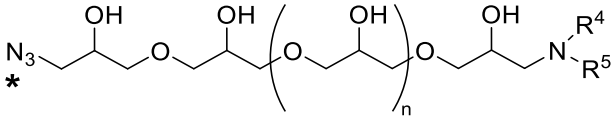


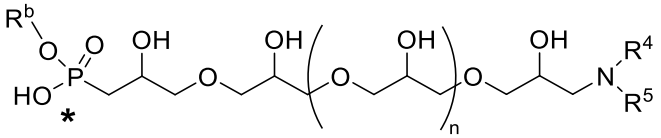


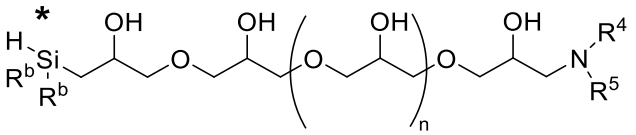


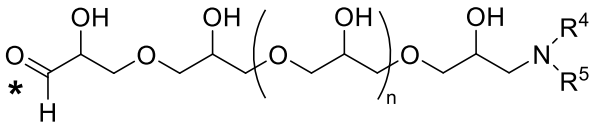


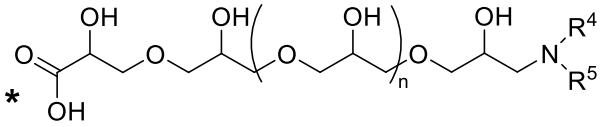


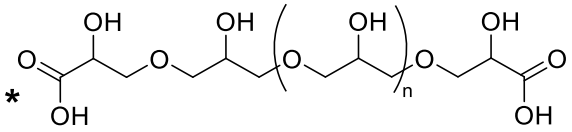


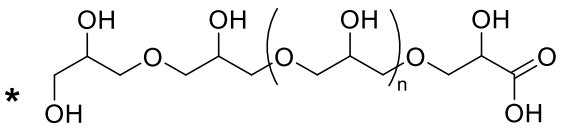


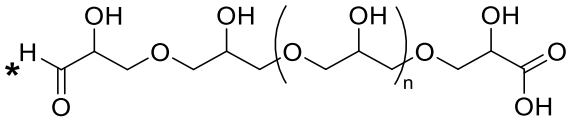


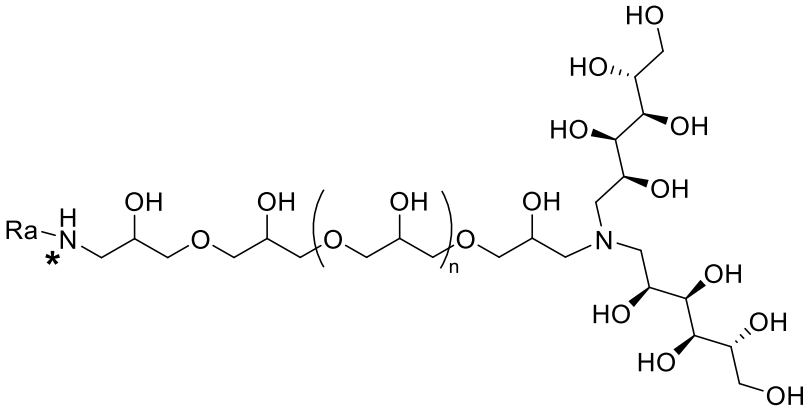


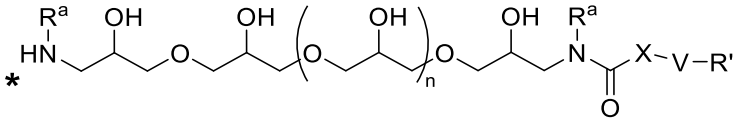


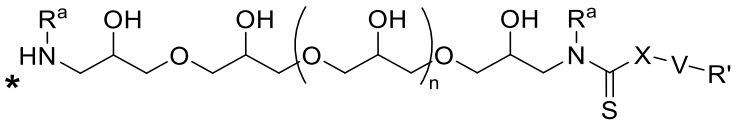


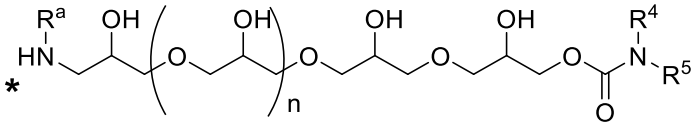


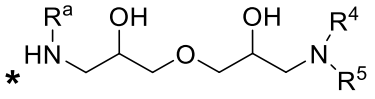


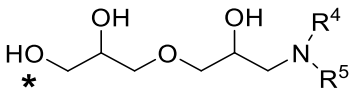


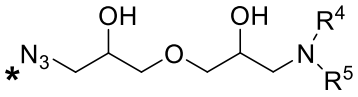


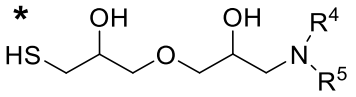


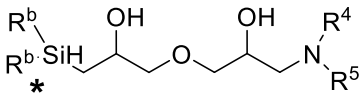


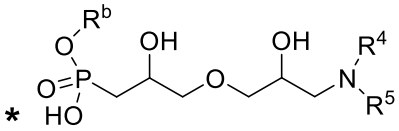


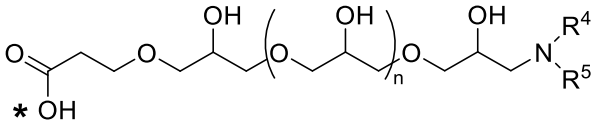


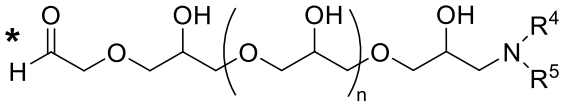


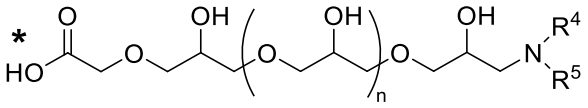


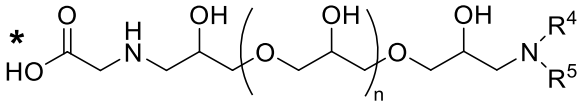


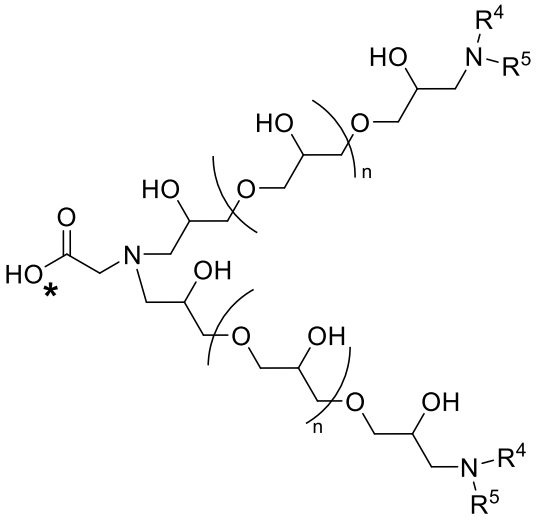


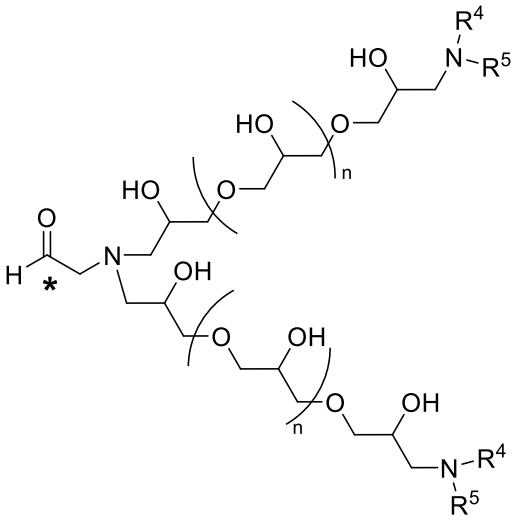


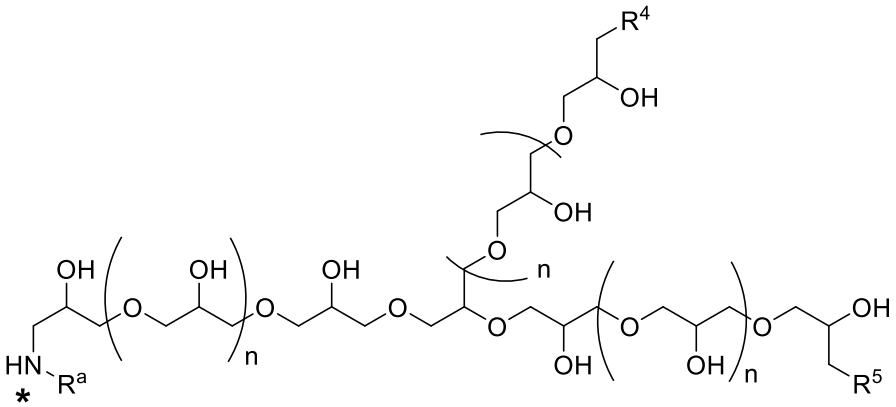


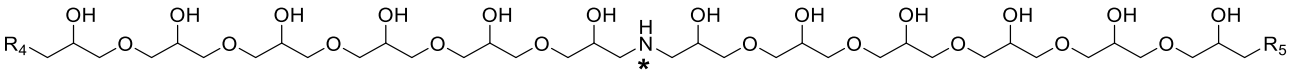


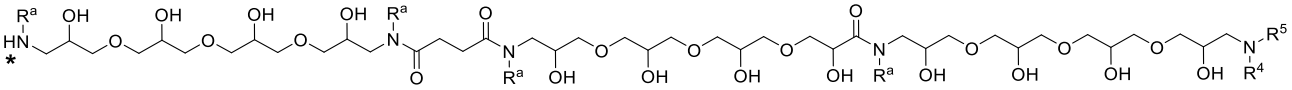


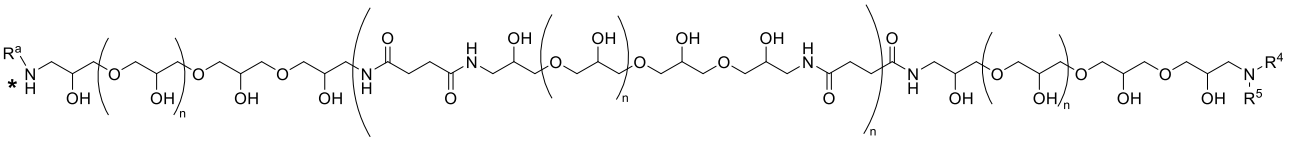


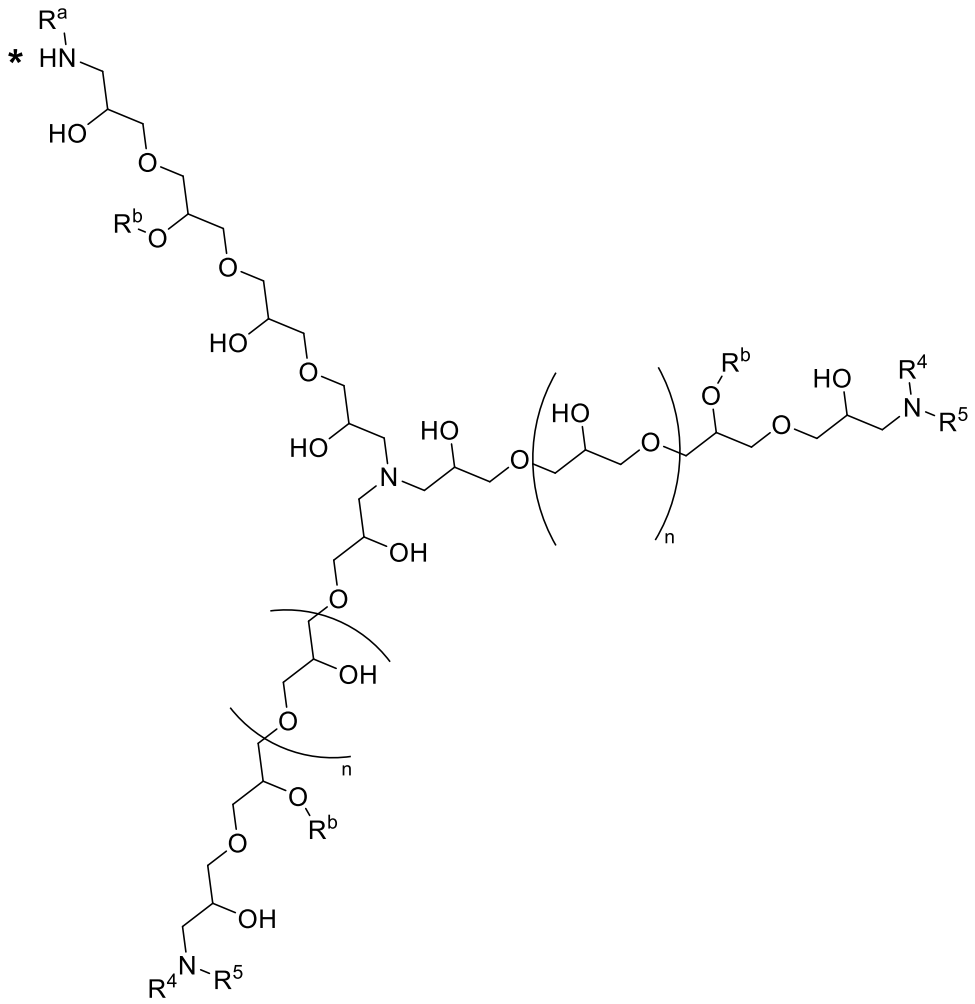


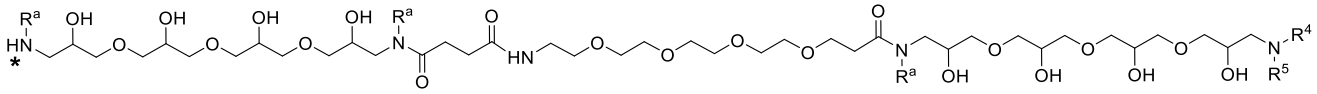


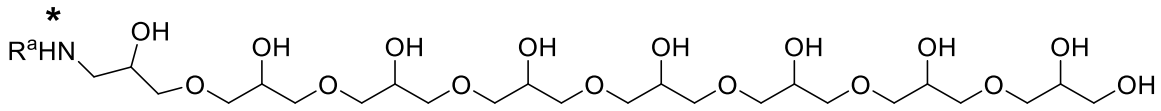


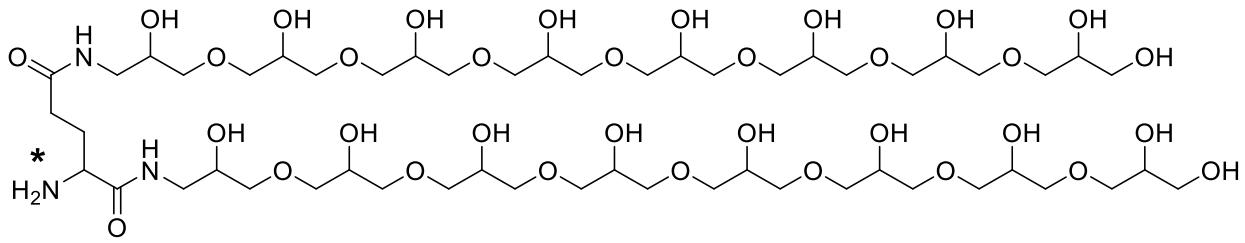


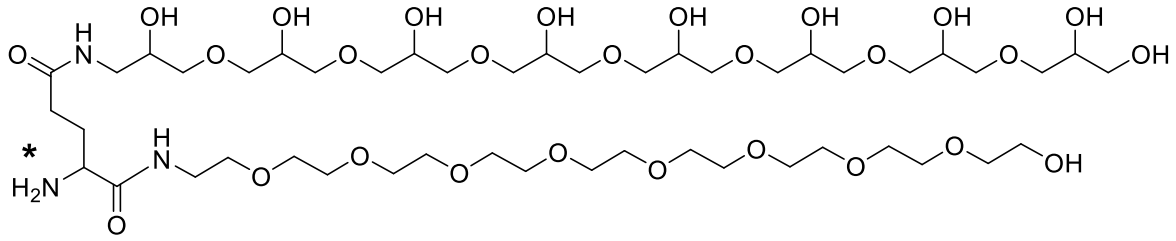




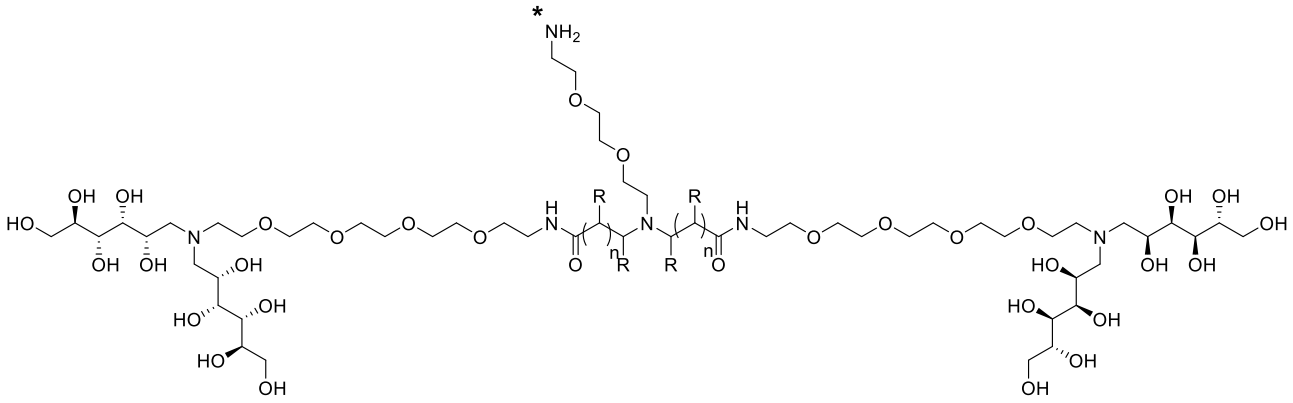




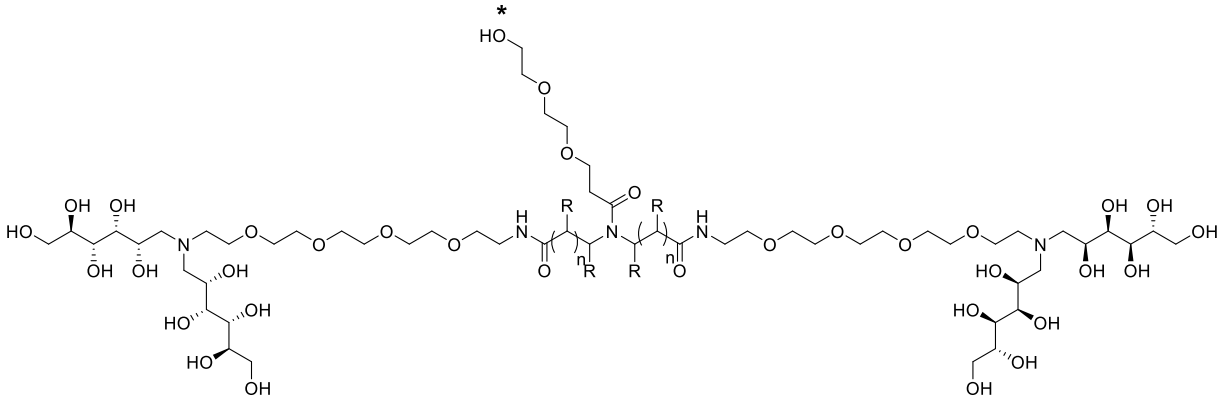




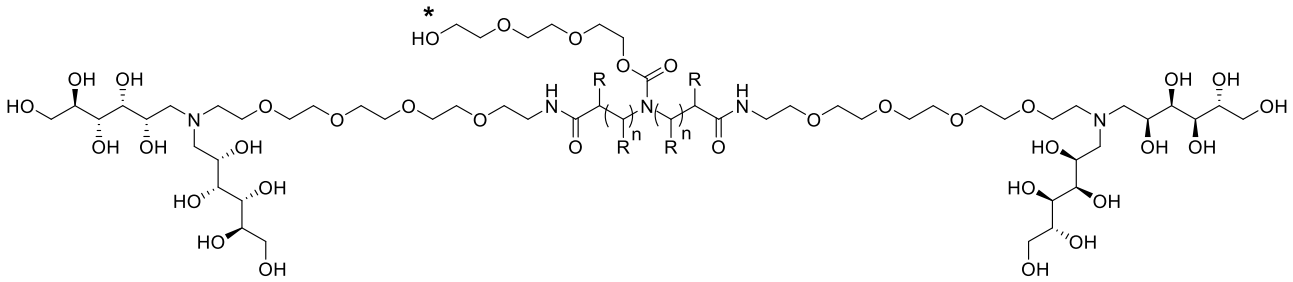
,



,



,



donde: (*) indica el sitio de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; cada R es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; R' es H, C_1-C_6 alquilo, -N(R^{24})(R^{25}) o -CO_2H; cada n es independientemente entre 1 y 12; X es O, NR o -CH_2-; V es un enlace o C_1-C_6 alquilo; uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H. En algunas formas de realización de la forma de realización precedente, cada R es independientemente H o C_1-C_6 alquilo; R' es H, C_1-C_6 alquilo, -N(R^{24})(R^{25}) o -CO_2H; cada n es independientemente entre 1 y 12; X es O, NR o -CH_2-; V es un enlace o C_1-C_6 alquilo; uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10}

carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H.

En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre las siguientes:

(a) $\sim R^{40}\text{-}(R^{43}\text{-}R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{46}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42}$

(XLIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{40} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno; cada R^{43} se selecciona independientemente entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -OC_1-C_{12} alquileno, -C(=O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -NH-C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C(O)-NH-C_1-C_{12} alquileno, C_1-C_{12}alquileno-NH-C(O)-, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, o -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_{12} alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno; R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; cada R^{46} se selecciona independientemente entre -NR^{50}-, -NR^{50}-C_1-C_6alquileno-NR^{50}-, -NR^{50}-C(O)-NR^{50}-$S(O)_2$-NR^{50}- o -NR^{50}-C(O)-C_1-$_6$alquileno-; cada R^{50} se selecciona independientemente entre H, C_1-C_6 alquilo, o grupo polihidroxilo; cada n40 es independientemente entre 2 y 26; n41 es entre 1 y 6; y n42 es entre 1 y 6;

(b) $\sim R^{40}\text{-}(R^{51}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n43}\text{-}R^{52}\text{-}X_1\text{-}R^{55}\text{-}X_2\text{-}R^{53}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n43}\text{-}R^{54}\text{-}[X_3\text{-}R^{56}]_{n44}\text{-}R^{57})_{n45}$

(XLIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:R^{40} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{51}, R^{52}, R^{53} y R^{54} son independientemente entre sí un enlace, o C_1-C_6 alquileno; X_1, X_2 y X_3 son independientemente entre sí -NR^N-C(O)- o -C(O)-NR^N-; cada R^N independientemente representa H, C_1-C_6 alquilo, o grupo polihidroxilo; R^{55} y R^{56} representan independientemente en cada caso un grupo polihidroxilo bivalente; R^{57} es H, OH o

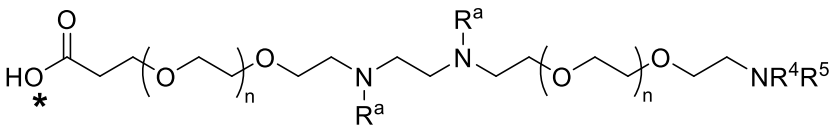
C_1-C_6 alquilo; cada n43 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n43 es entre 1 y 26; n44 es entre 0 y 10; y n45 es 1 o 2; y

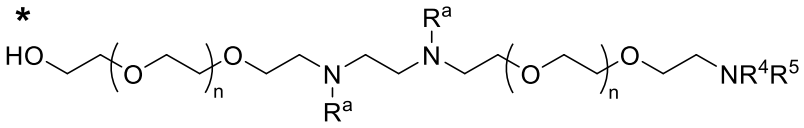
(c) $\sim R^{40}\text{-}R^{51}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n43}\text{-}R^{52}\text{-}N\text{-}(R^{53}\text{-}X_1\text{-}R^{54}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n43}\text{-}(NR^{44}R^{45}))_2$

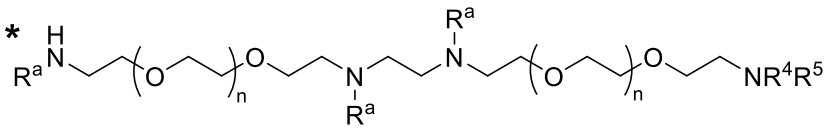
(XLV)

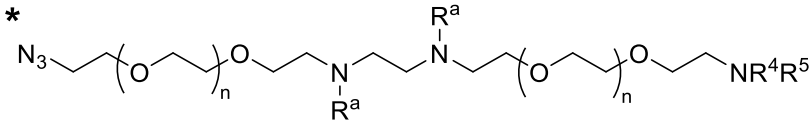
o un estereoisómero o sal de la misma, donde: R^{40} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; R^{51}, R^{53} y R^{54} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno opcionalmente sustituido; R^{52} es un enlace, C_1-C_6 alquileno, -C(O)- o -O-C(O)-; cada X_1 es independientemente $-NR^N\text{-}C(O)-$ o $-C(O)\text{-}NR^N-$; cada R^N independientemente representa H, C_1-C_6 alquilo, o grupo polihidroxilo; R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; y cada n43 es independientemente entre 2 y 26.

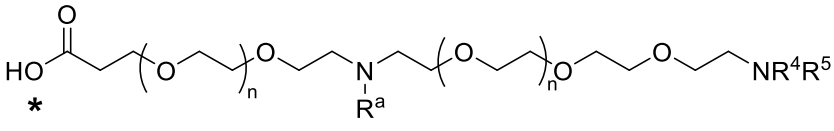
[0133] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una de las siguientes estructuras antes de unirse al grupo enzimáticamente escindible y/o a la unidad conectora:

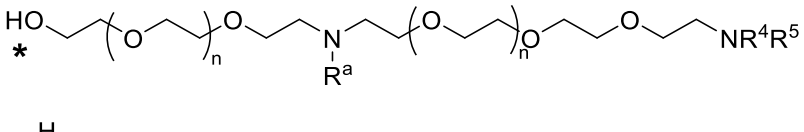

;

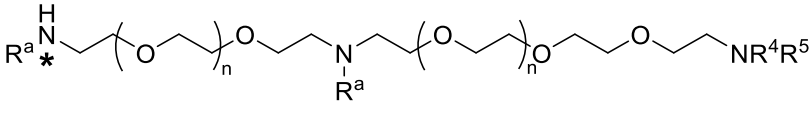

;

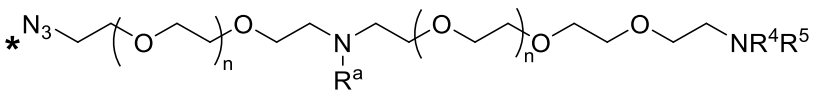

;

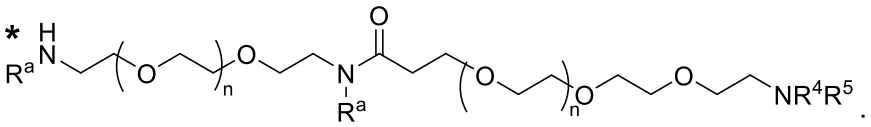

;

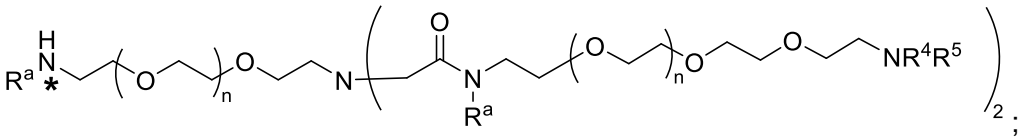

;

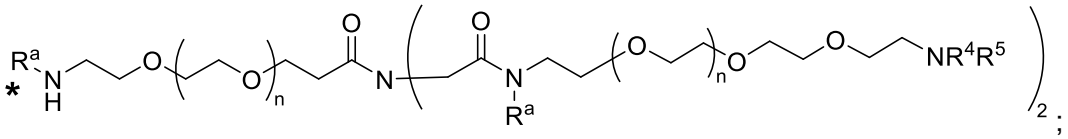

;

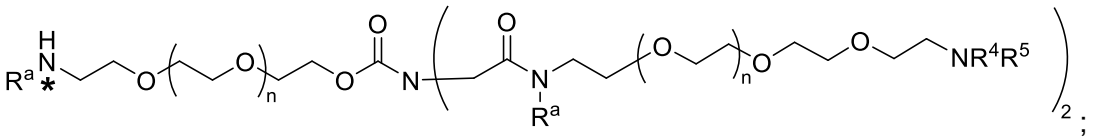

;

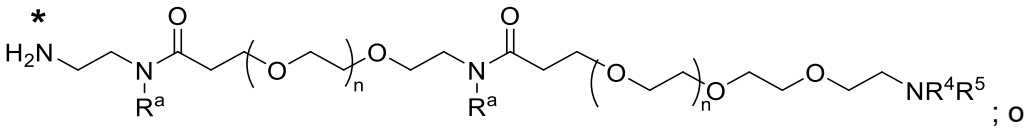

;

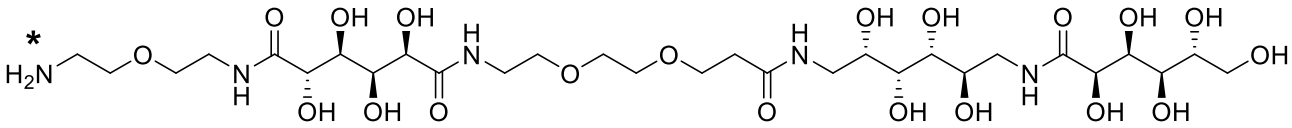

;


;


;

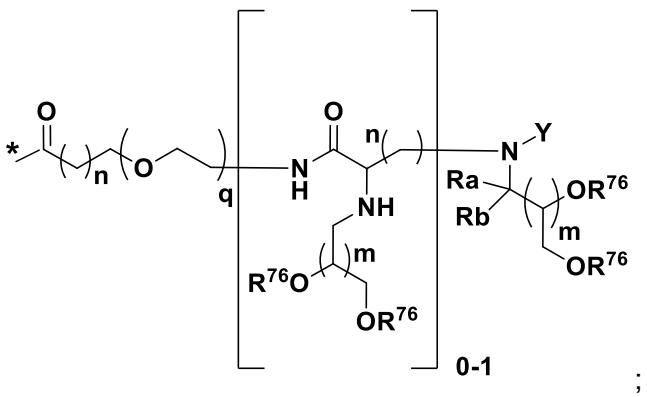

;


; o

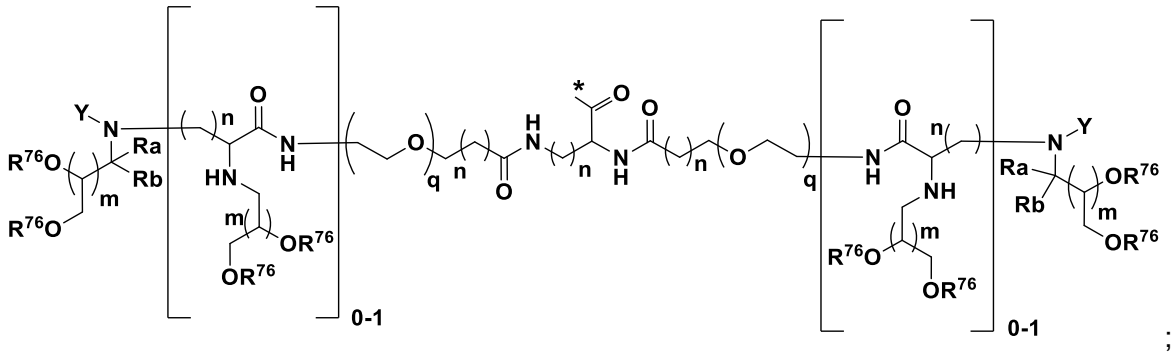


donde: (*) indica el sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible; cada R es independientemente H, alquilo o grupo polihidroxilo; R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato, con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H; y cada n es independientemente entre 1 y 12.

[0134] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:


;

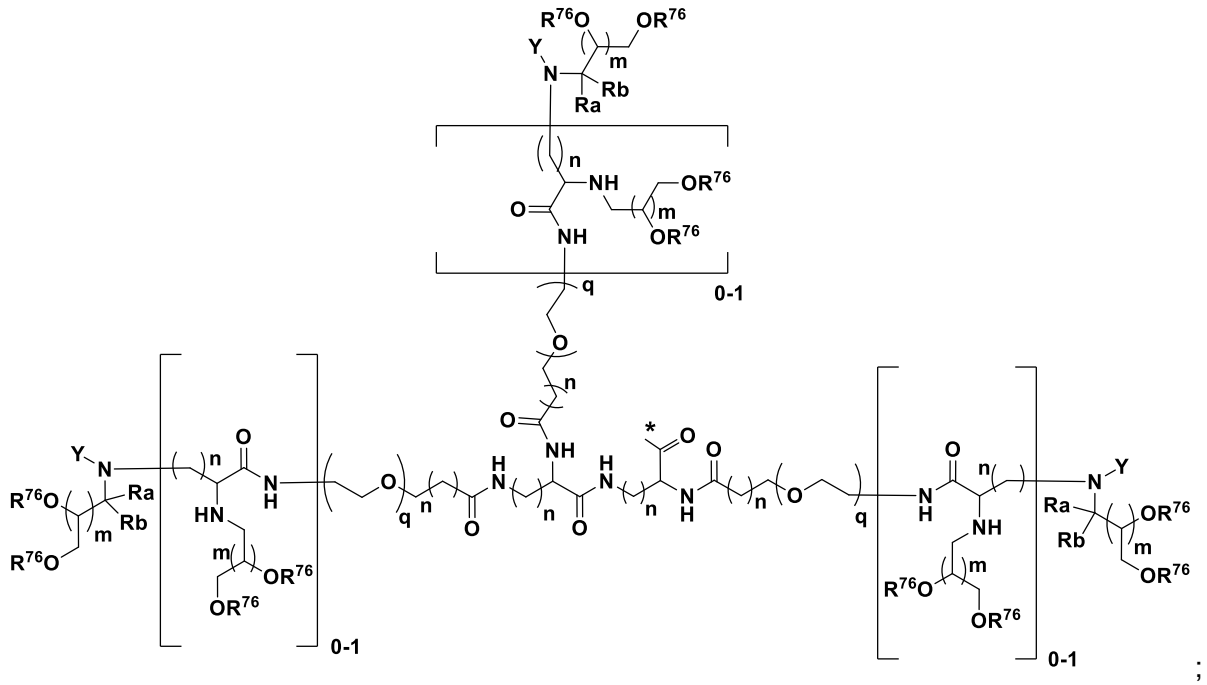
(XVI)



;

(XVII)

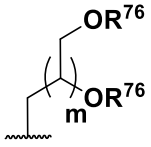
y



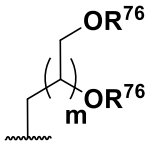
;

(XVIII)

o un estereoisómero o sal de las mismas, donde: cada Y es independientemente R^{76} o

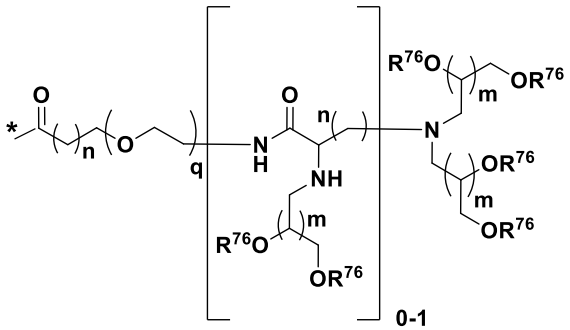


; cada R^{76} es independientemente H, acetilo, -P(=O)(OH)–, o -$(CH_2)_v$-O-S(=O)$_2$(OH); cada uno de R_a y R_b es independientemente H o R_a y R_b se toman junto con el carbono al que están unidos para formar un grupo oxo; cada q es independientemente 2-26; cada m es independientemente entre 1 y 4; cada n es independientemente entre 1 y 4; cada v es independientemente entre 1 y 6; y cada * es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible. En algunas formas de realización, Y es R^{76}. En otras formas de realización, Y es



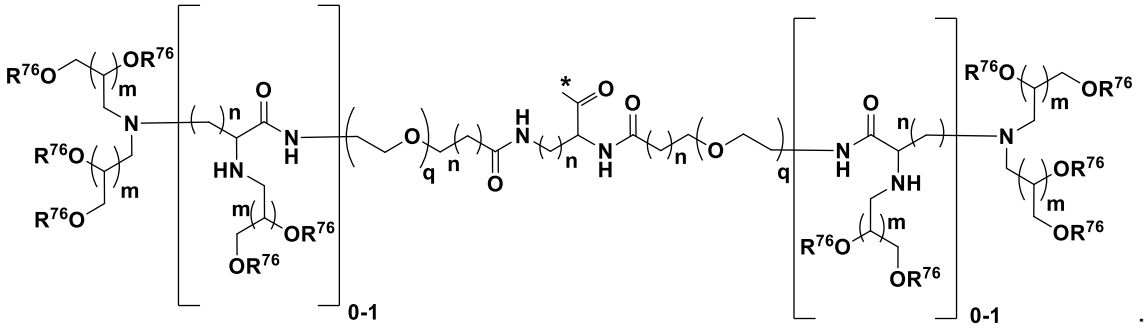
.

[0135] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:



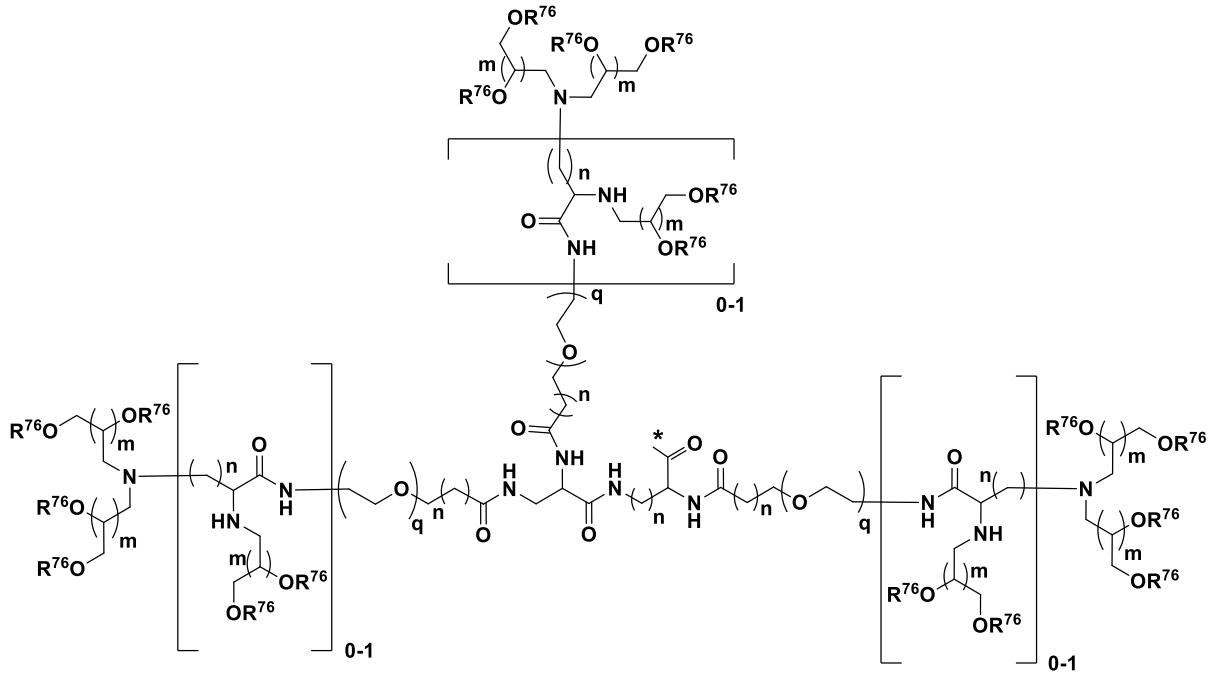
;

(XVIa)



;

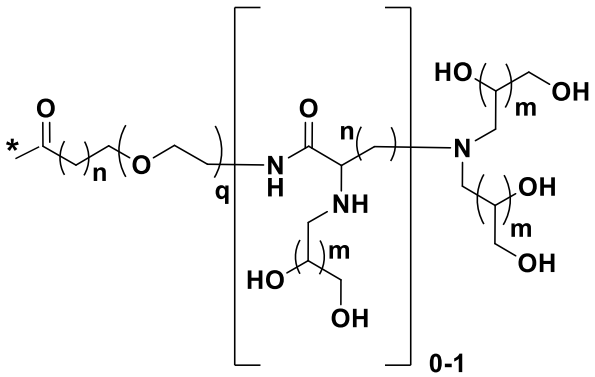
(XVIIa) y



(XVIIIa)

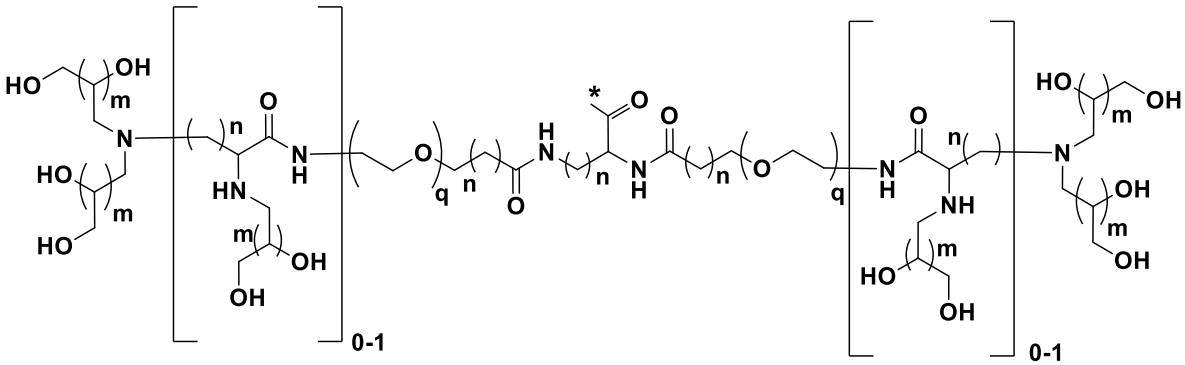
o un estereoisómero o sal de las mismas, donde: cada R^{76} es independientemente H, acetilo, -P(=O)(OH)–, o -$(CH_2)_vS(=O)_2(OH)$; cada q es independientemente 2-26; cada m es independientemente entre 1 y 4; cada n es independientemente entre 1 y 4; cada v es independientemente entre 1 y 6; y cada * es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0136] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:



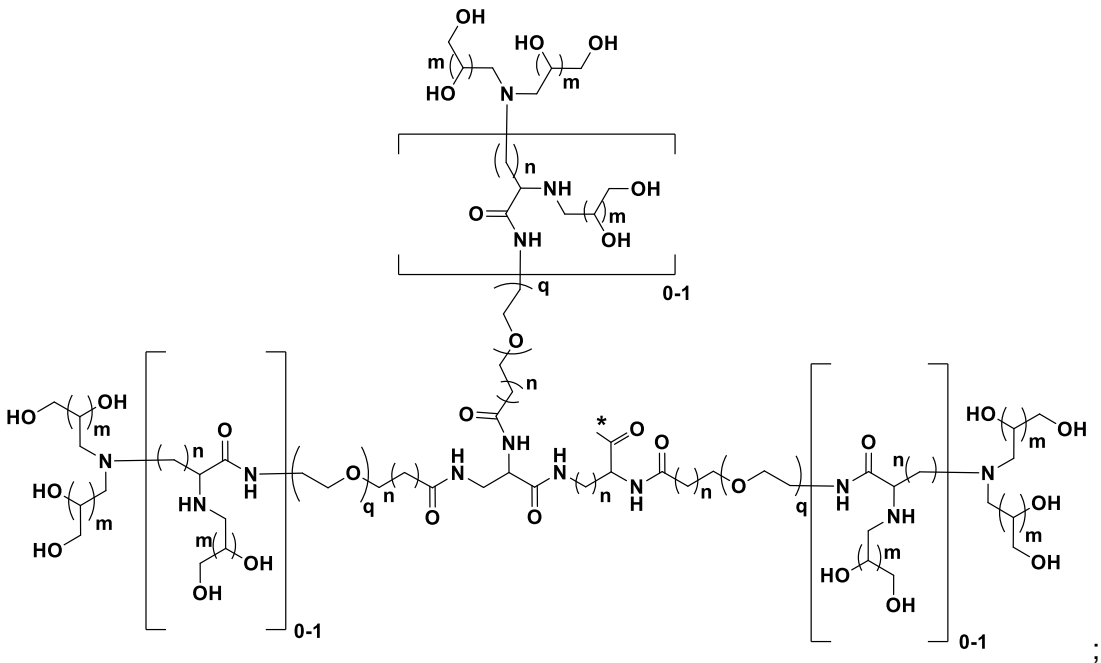
;

(XVIb)



;

(XVIIb) y



;

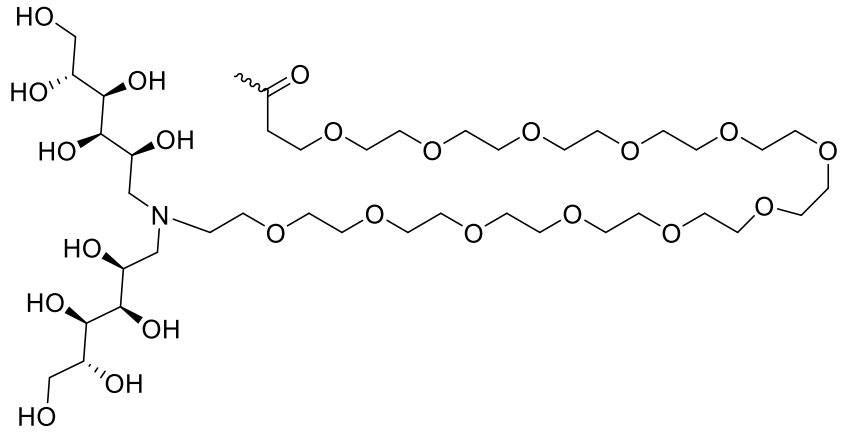
(XVIIIb)

o un estereoisómero o sal de las mismas, donde: cada q es independientemente 2-26; cada m es independientemente entre 1 y 4; cada n es independientemente entre 1 y 4; y cada * es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

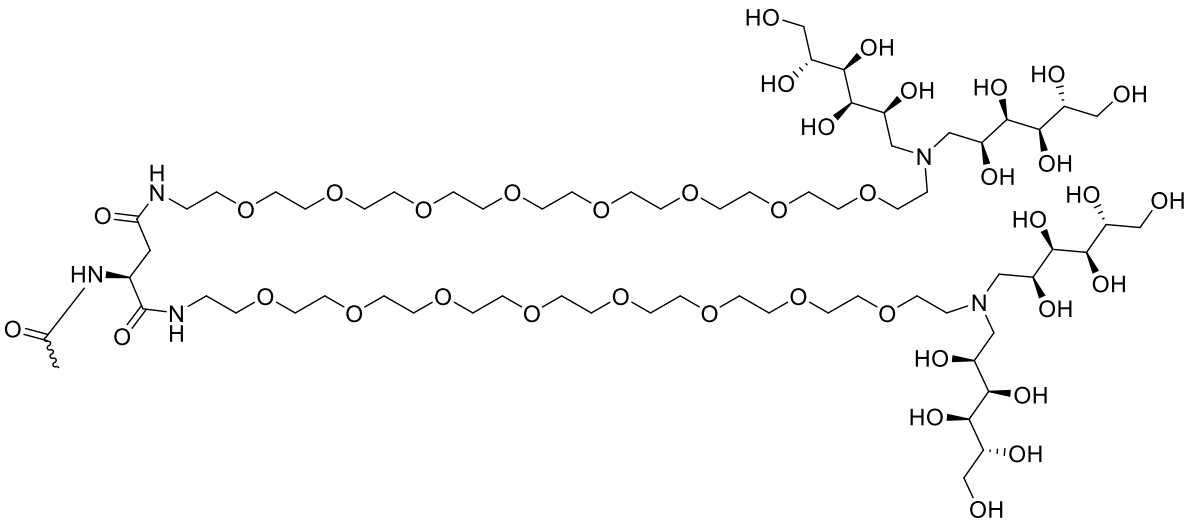
[0137] En algunas formas de realización, cada R_a y R_b como se describe precedentemente es independientemente en cada caso H. En otras formas de realización, R_a y R_b como se describe precedentemente se toman junto con el carbono al que están unidos para formar un grupo oxo.

[0138] En algunas formas de realización, q como se describe precedentemente es 10-20. Por ejemplo, en algunas formas de realización q como se describe precedentemente es 12.

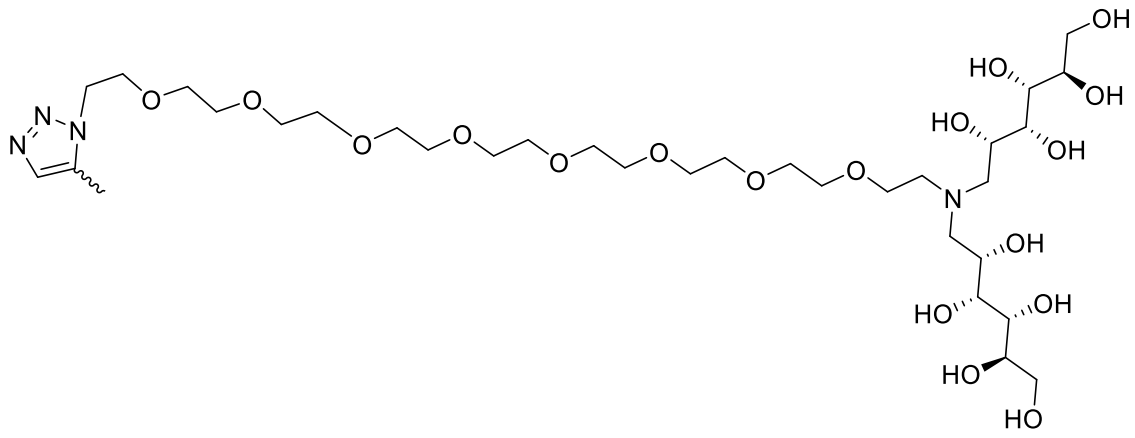
[0139] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



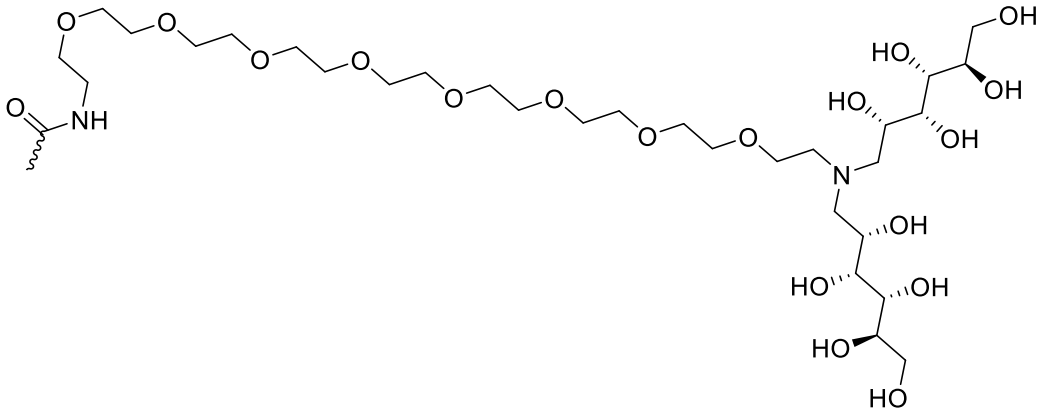
;

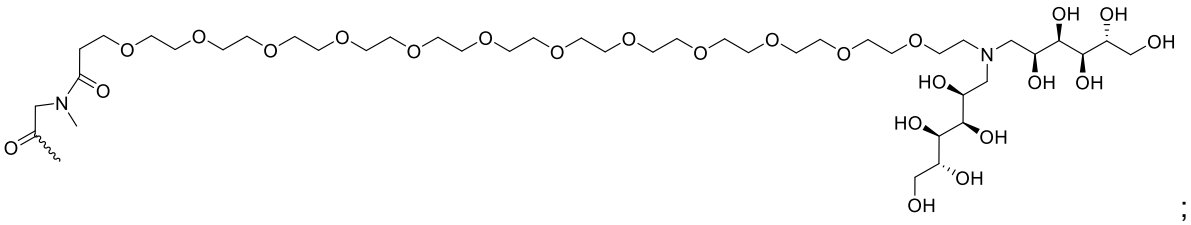


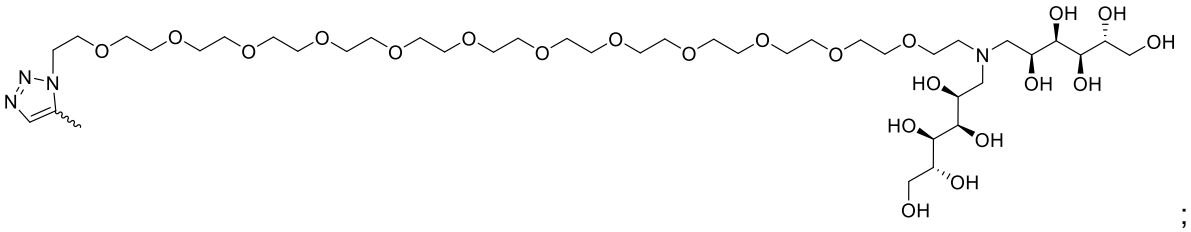
;

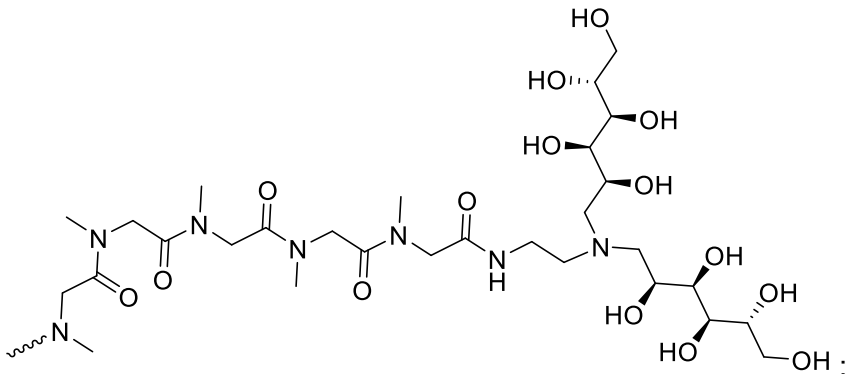


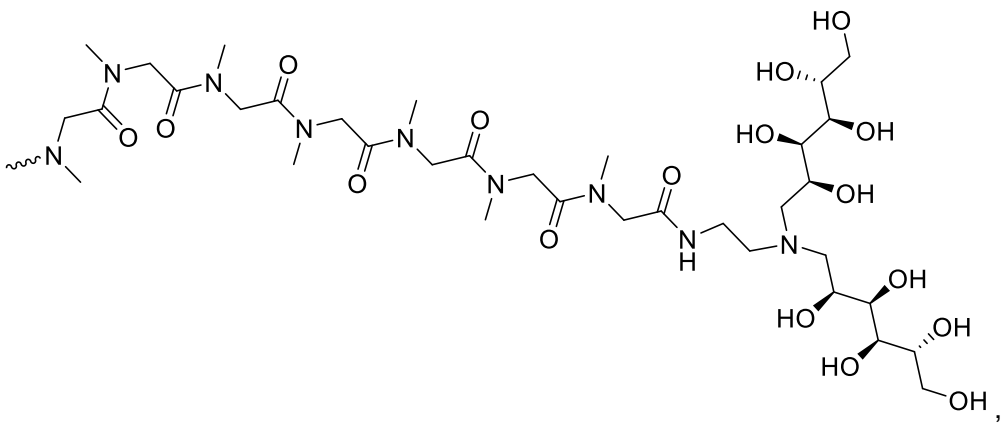
;

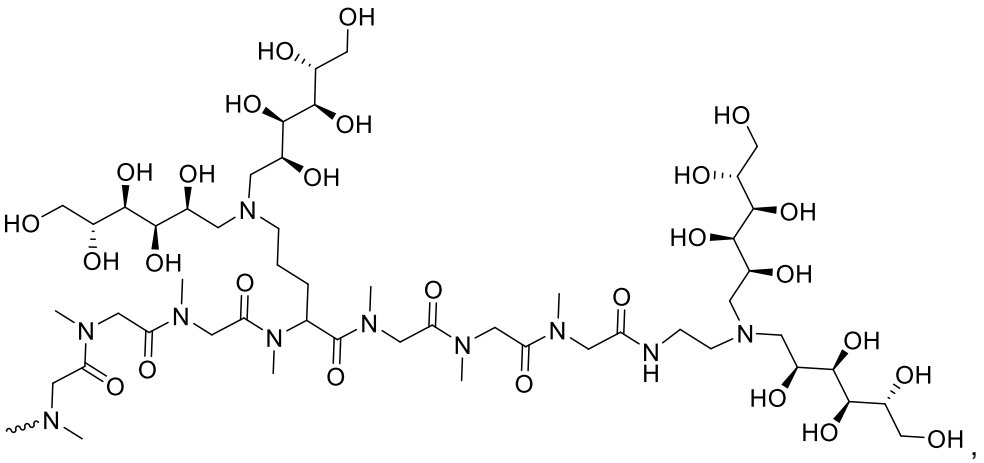

;

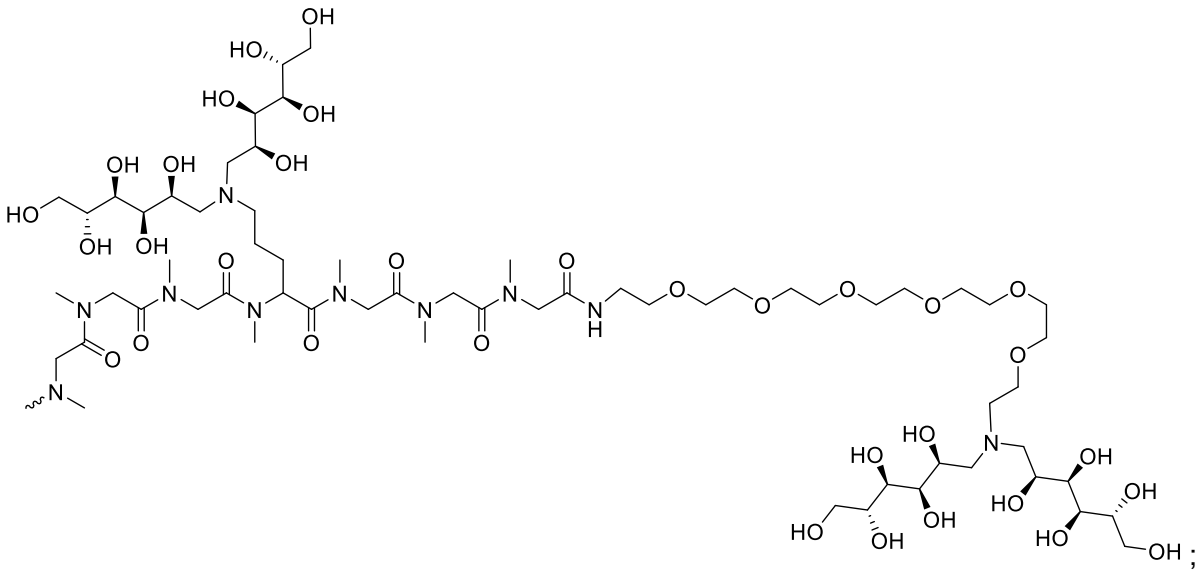

;

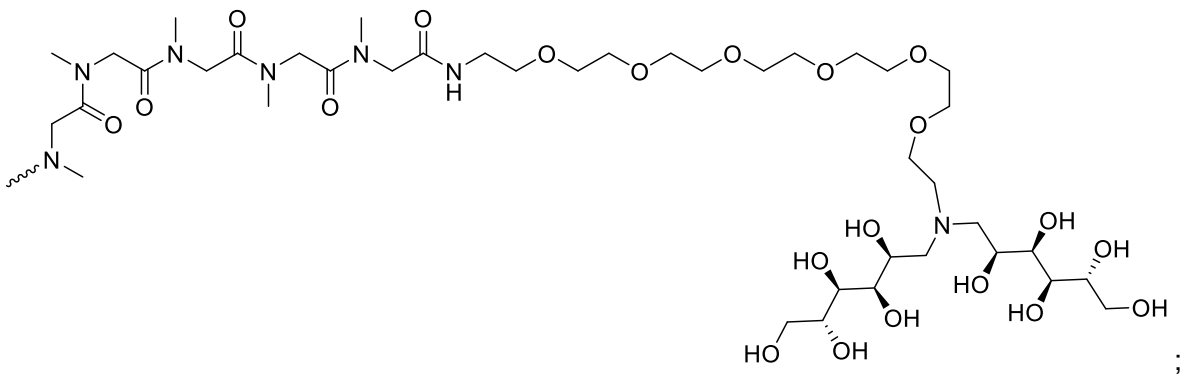

;

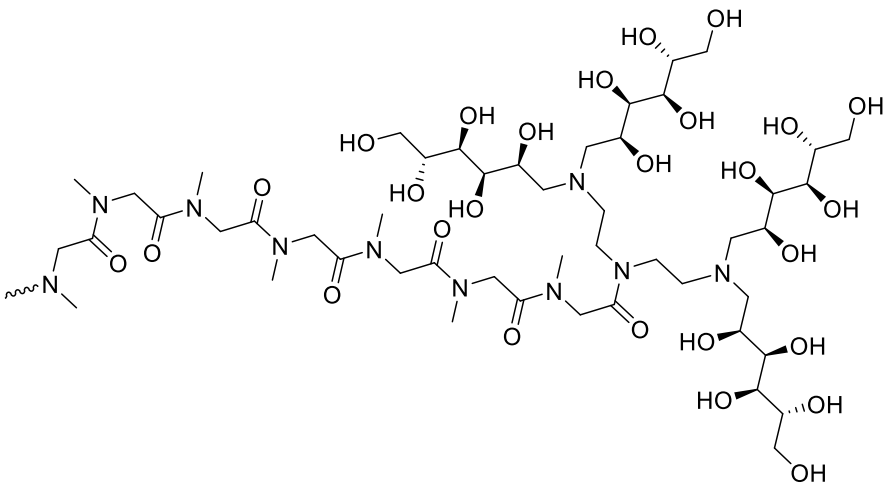

;


,

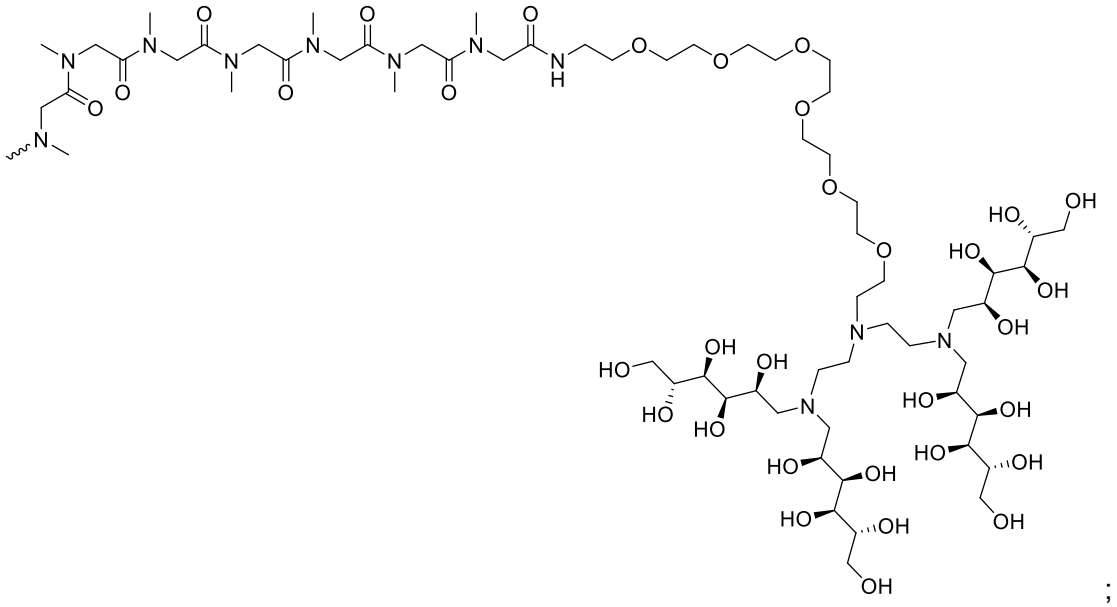




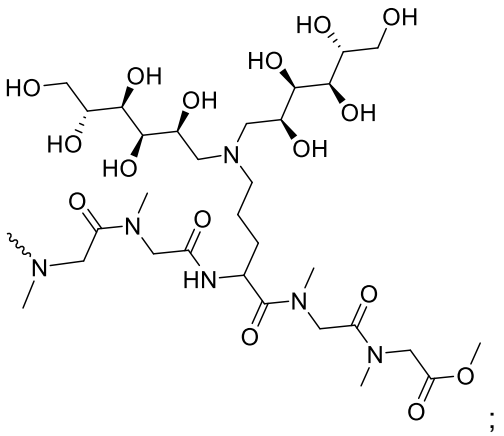




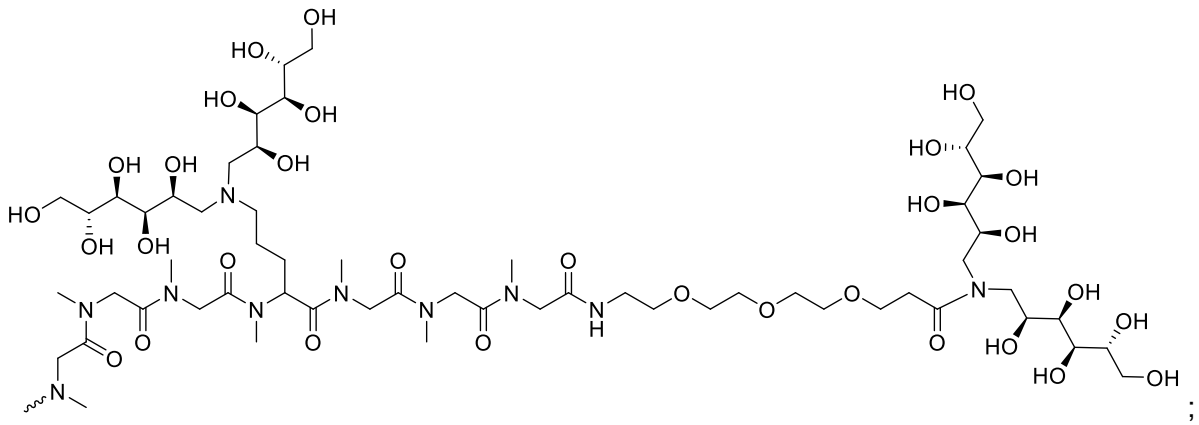
;

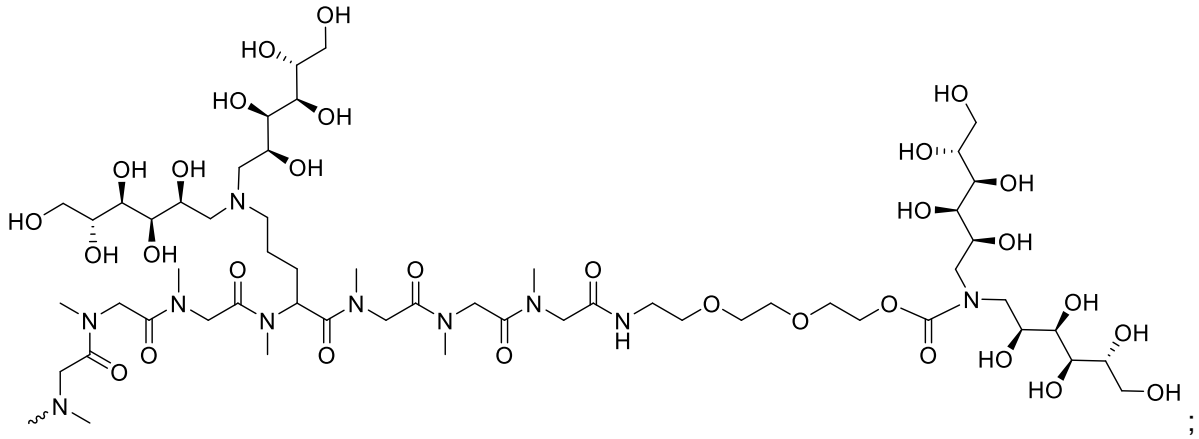


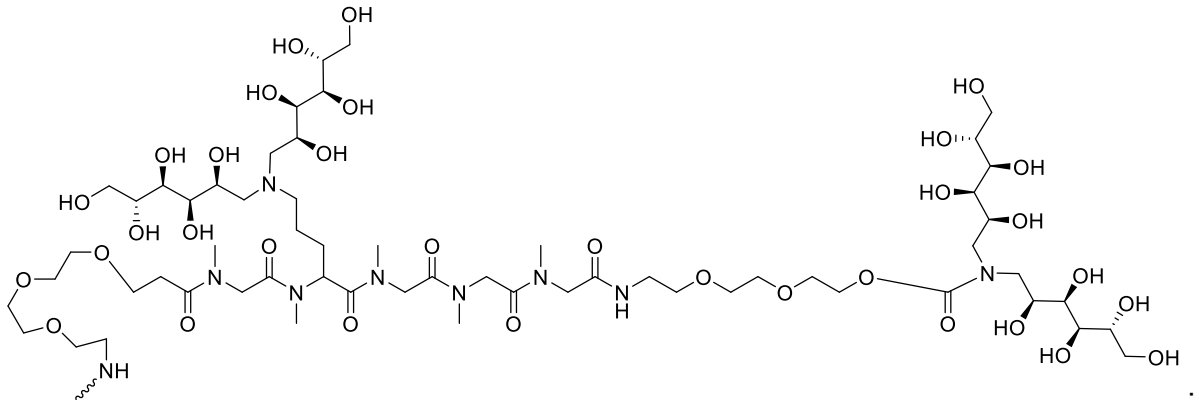
;

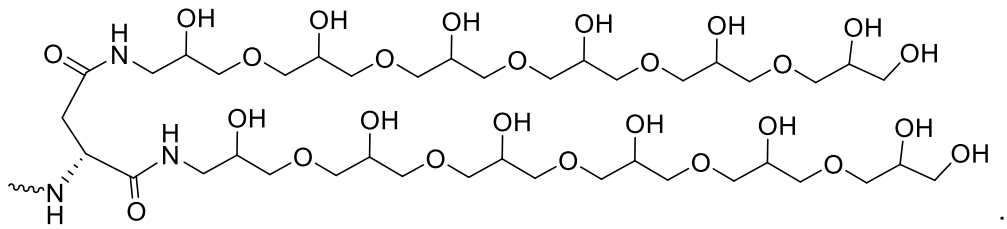


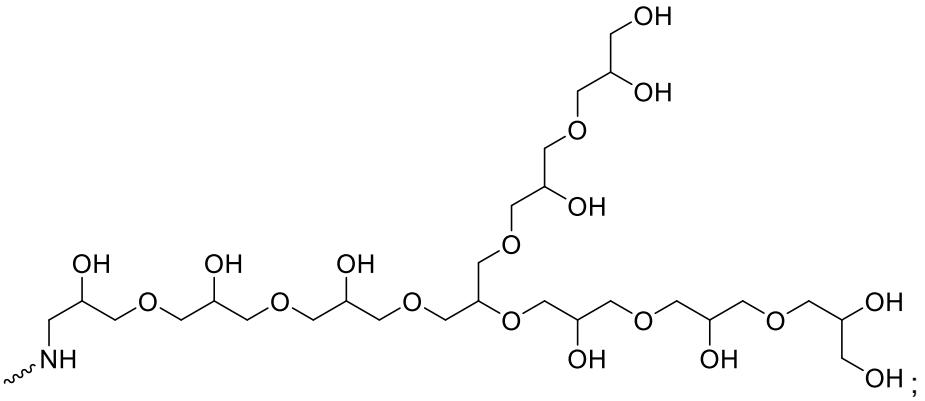
;


;

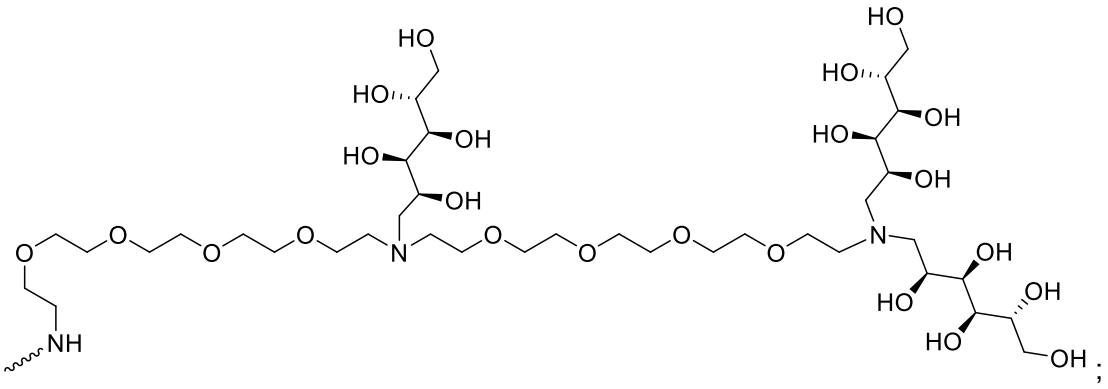

;


;

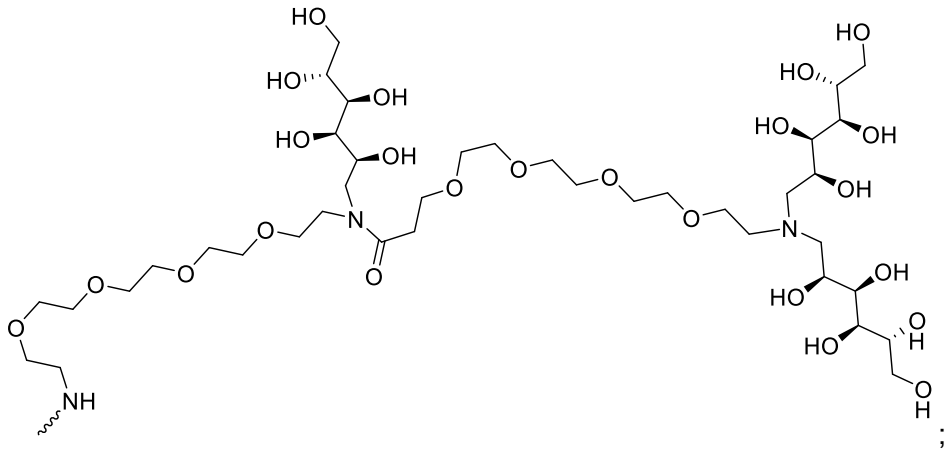

;



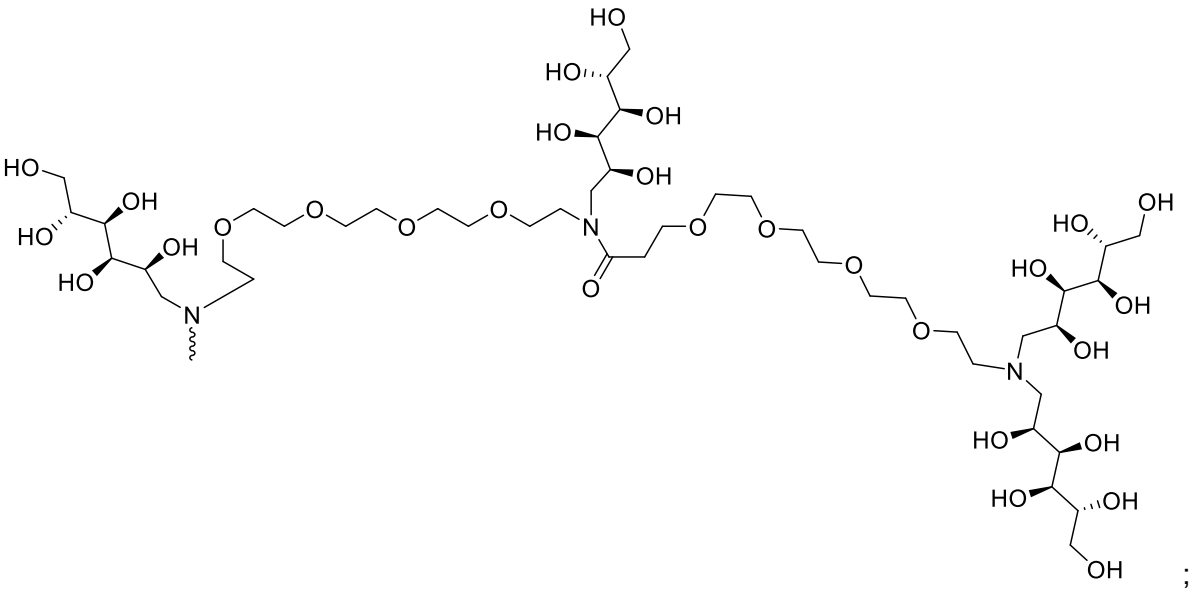
;



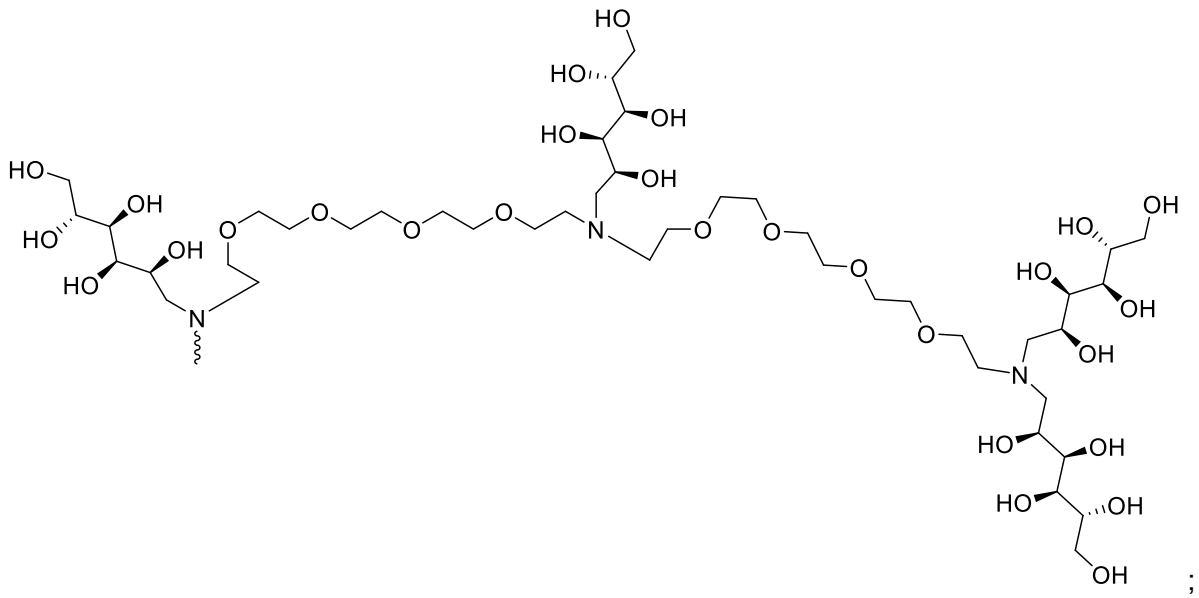
;

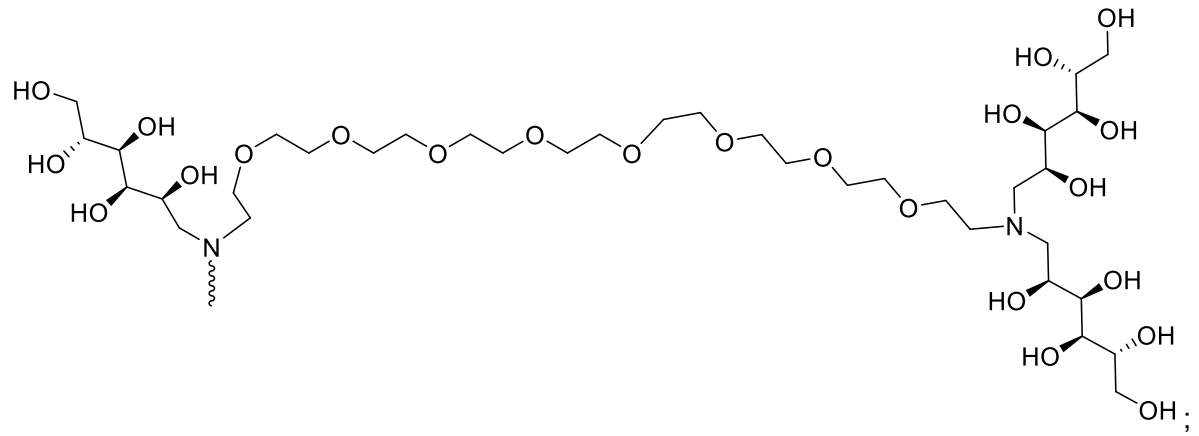


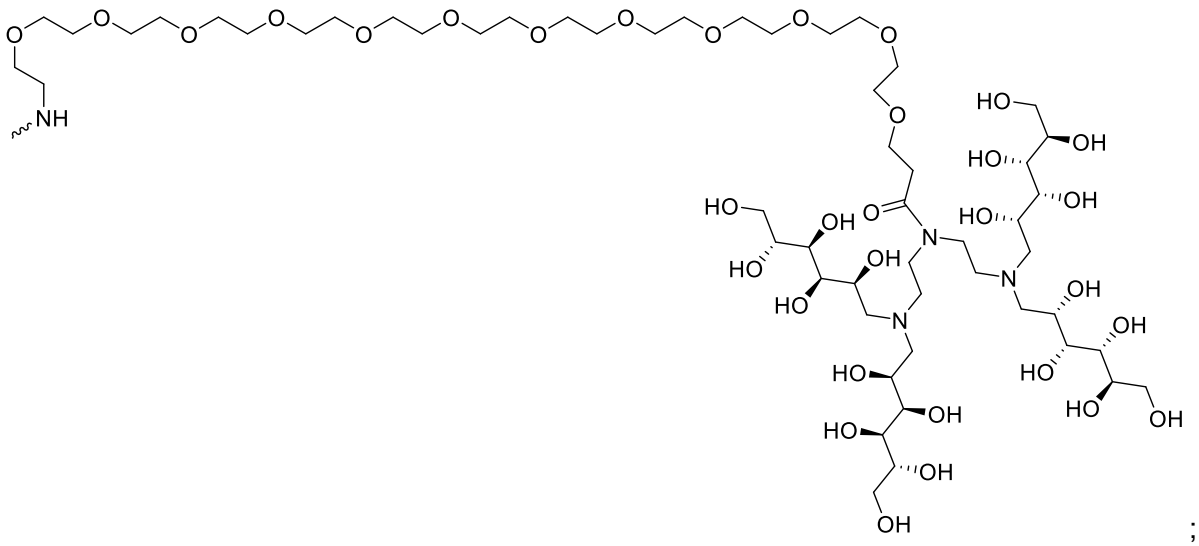
;

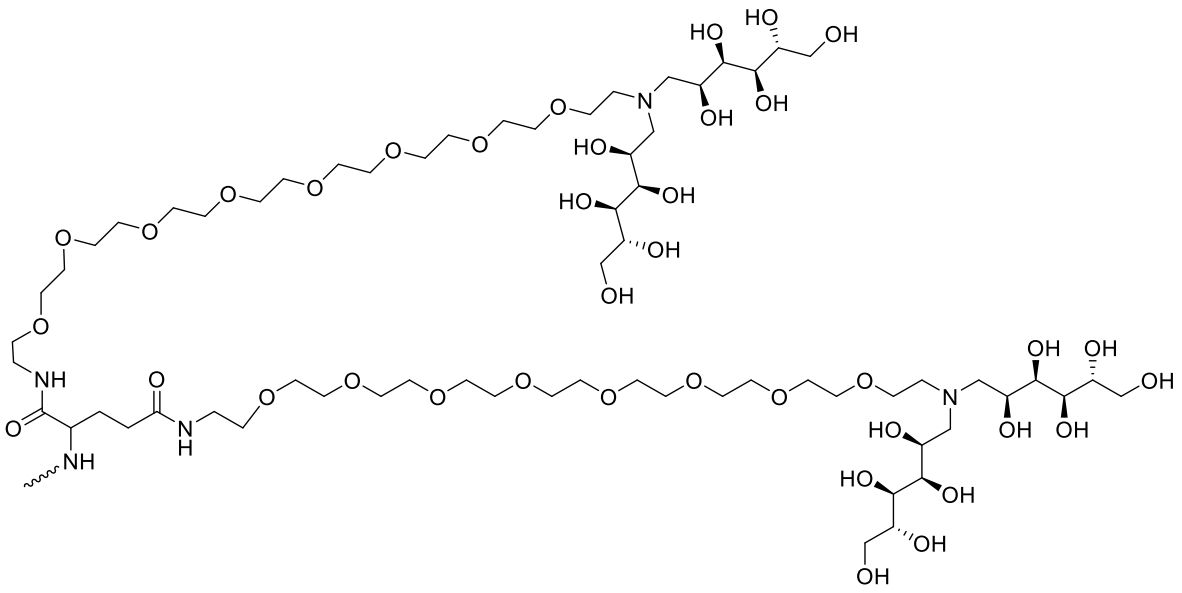


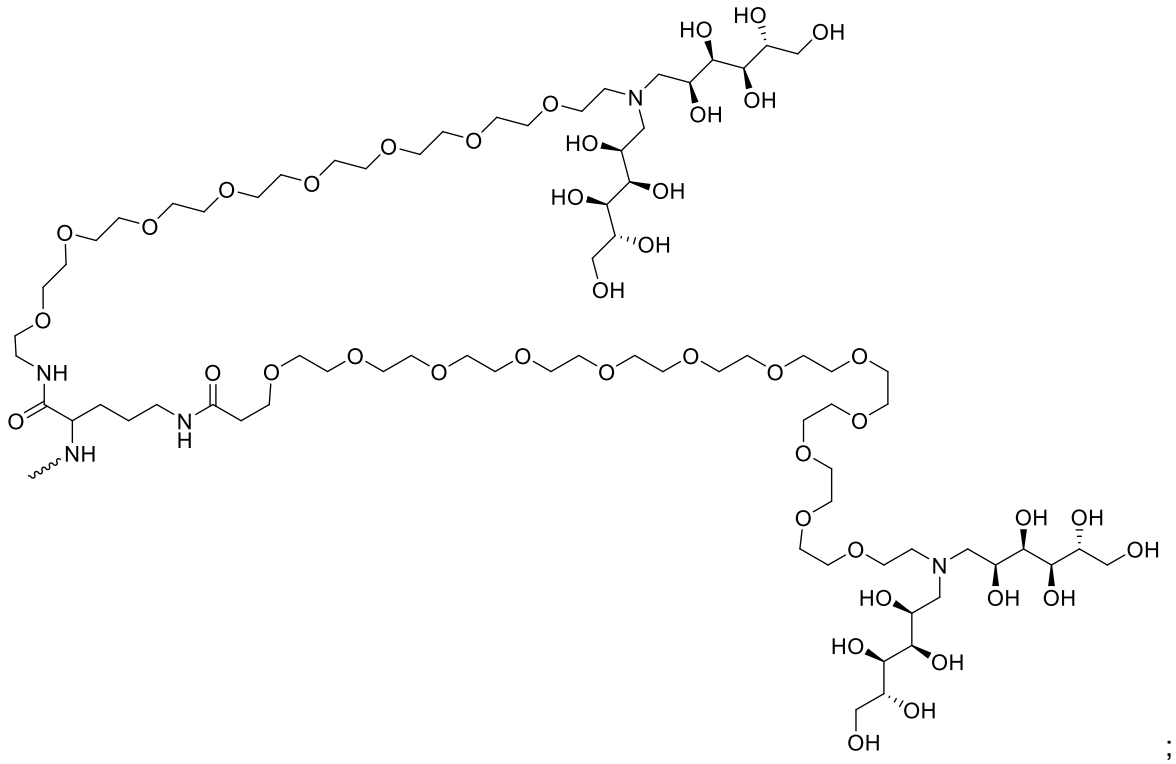
;

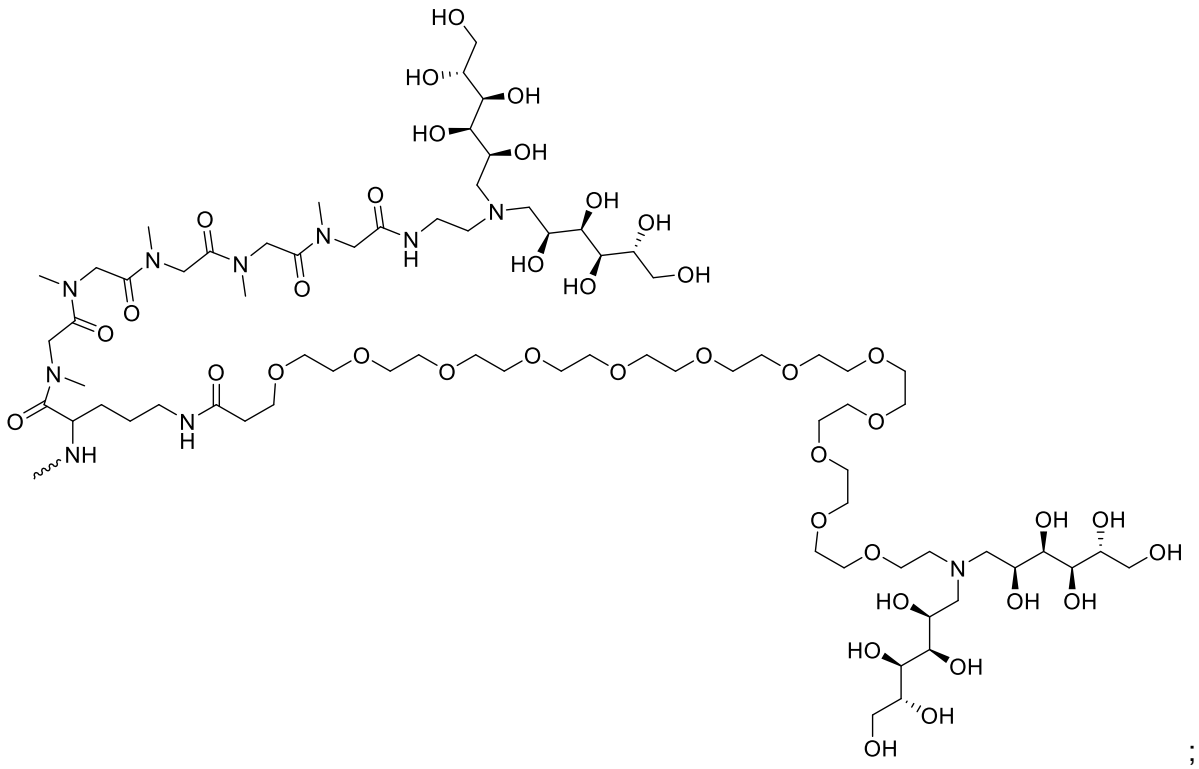

;


;

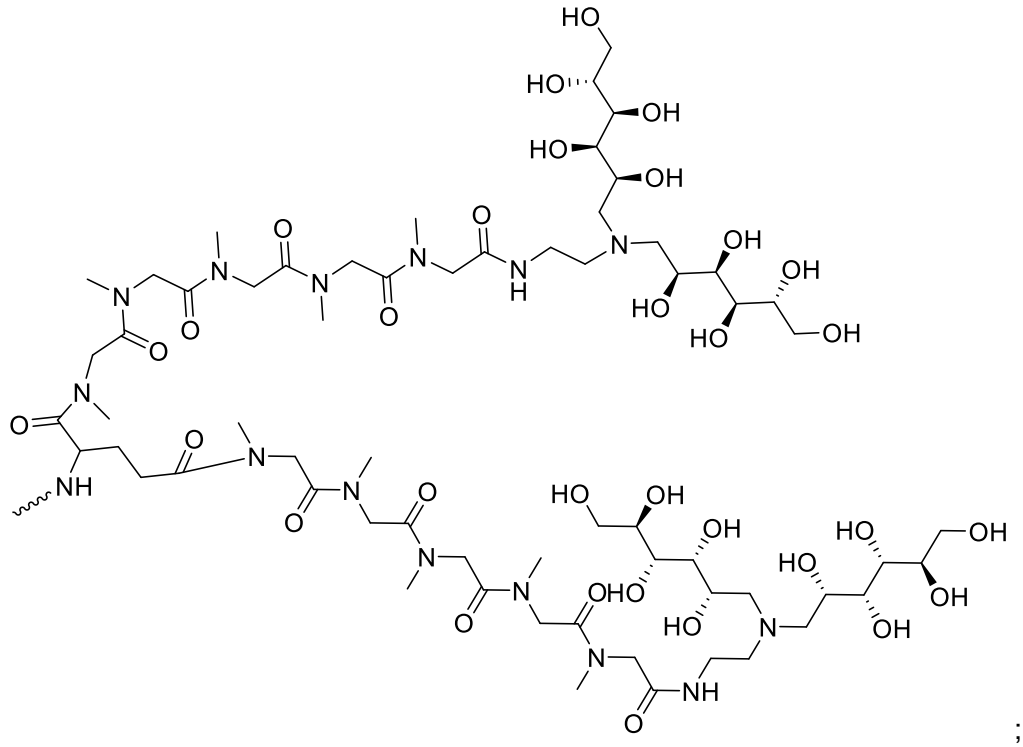

;


;

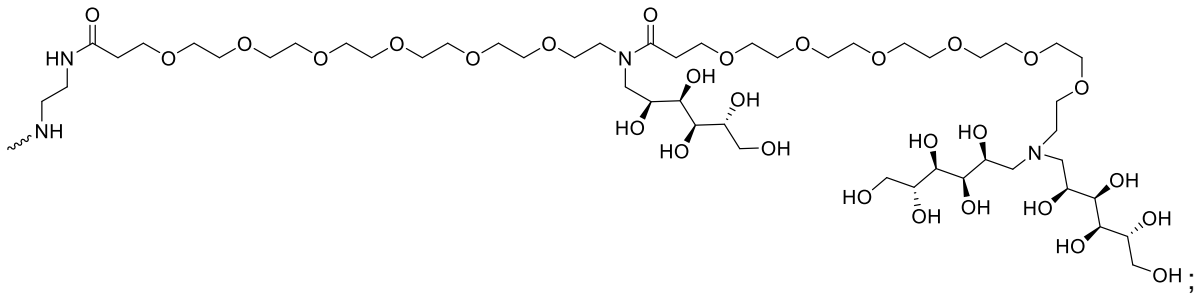

;



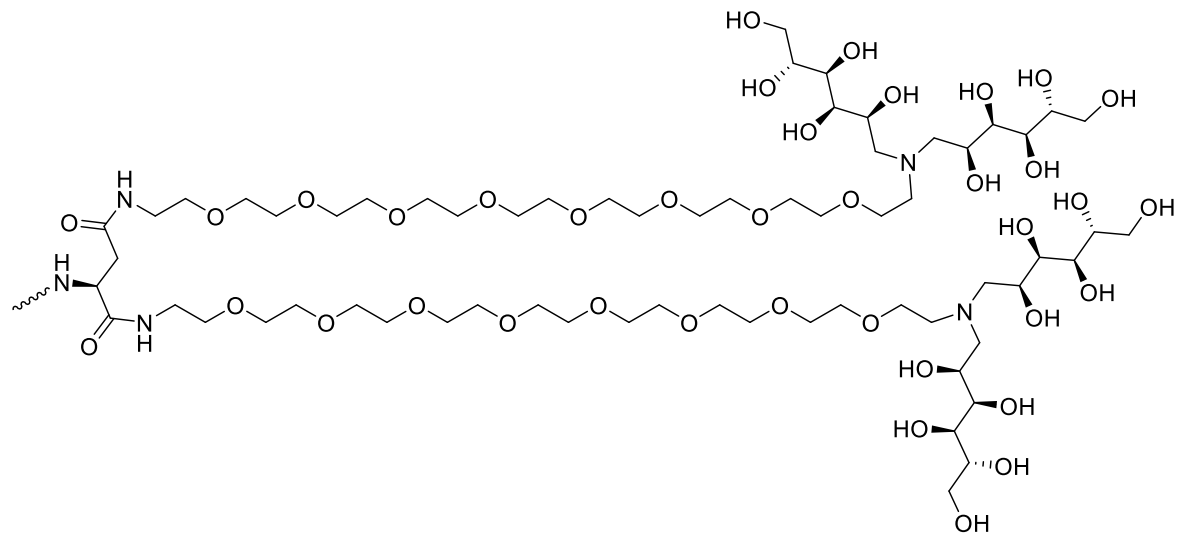
;



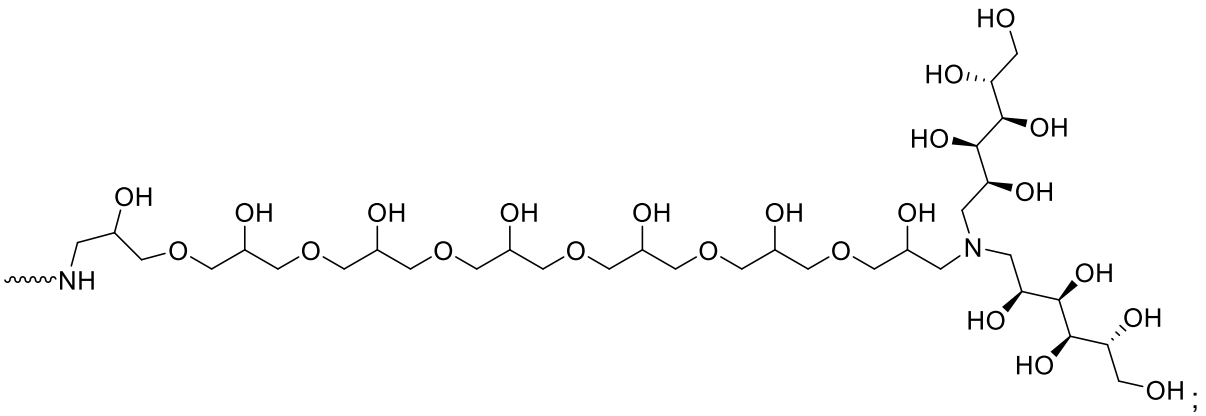
;



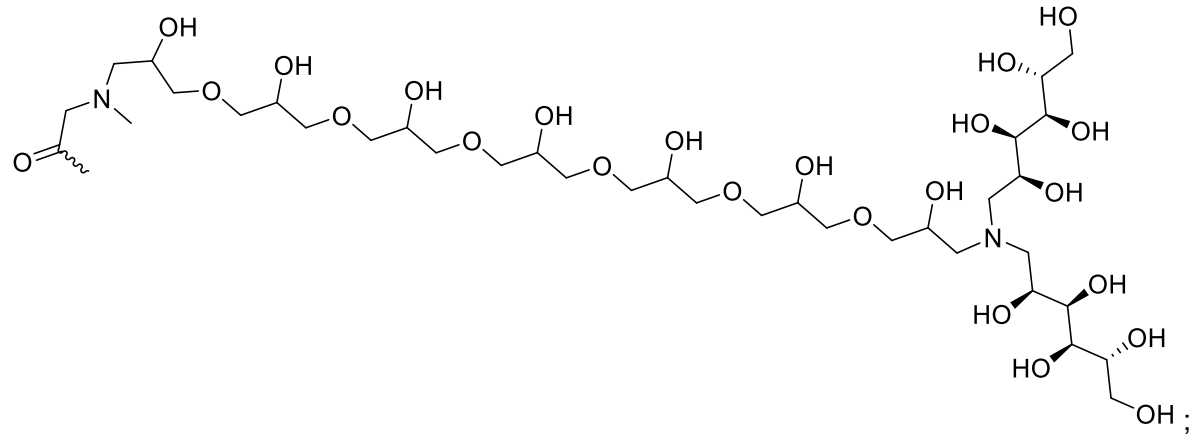
;



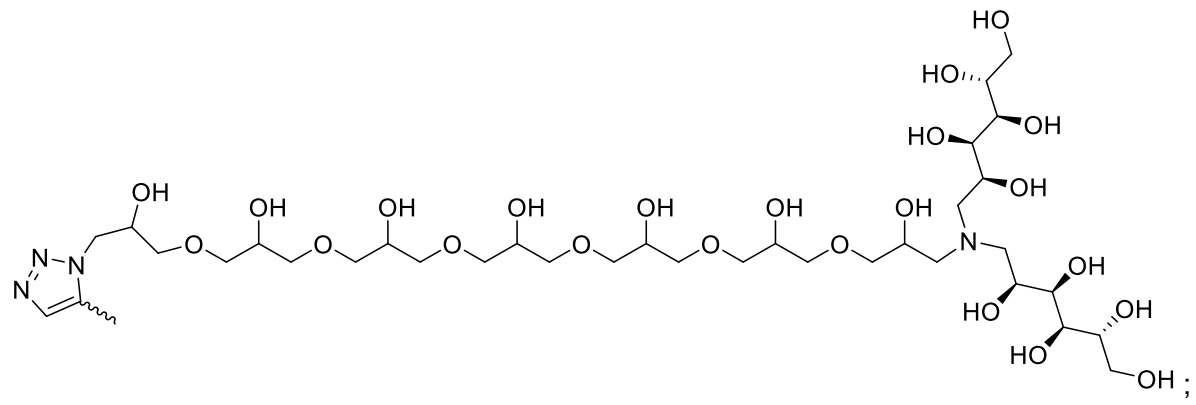
;



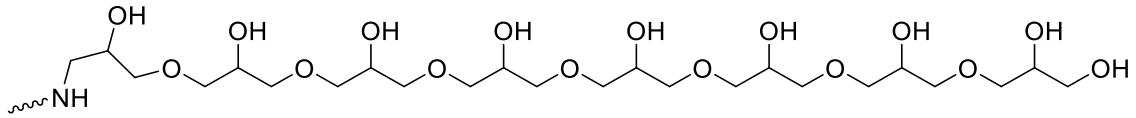
;

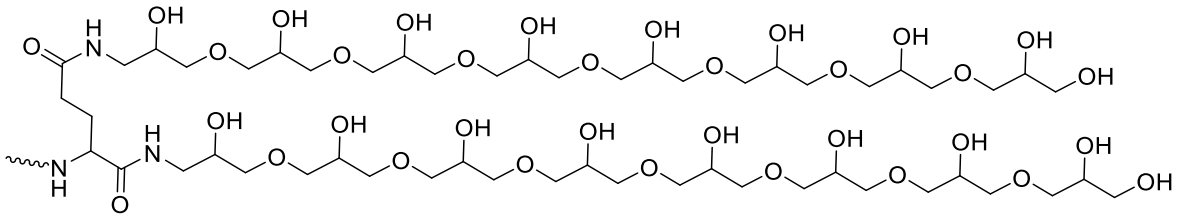


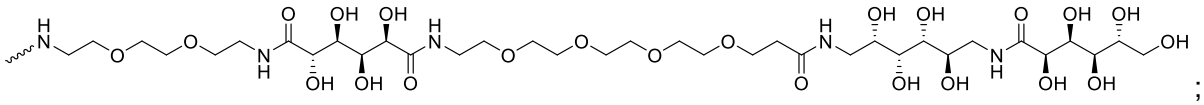
;

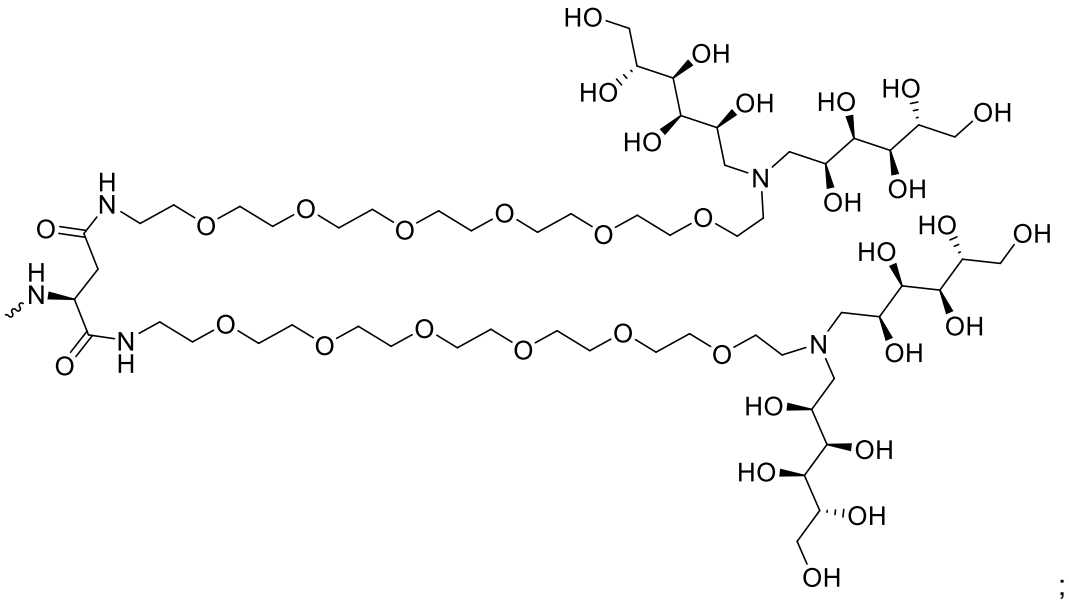


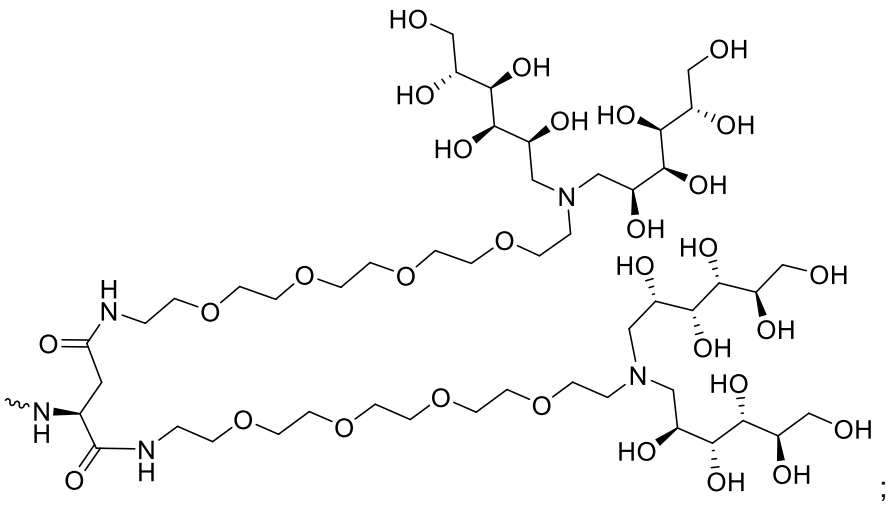
;

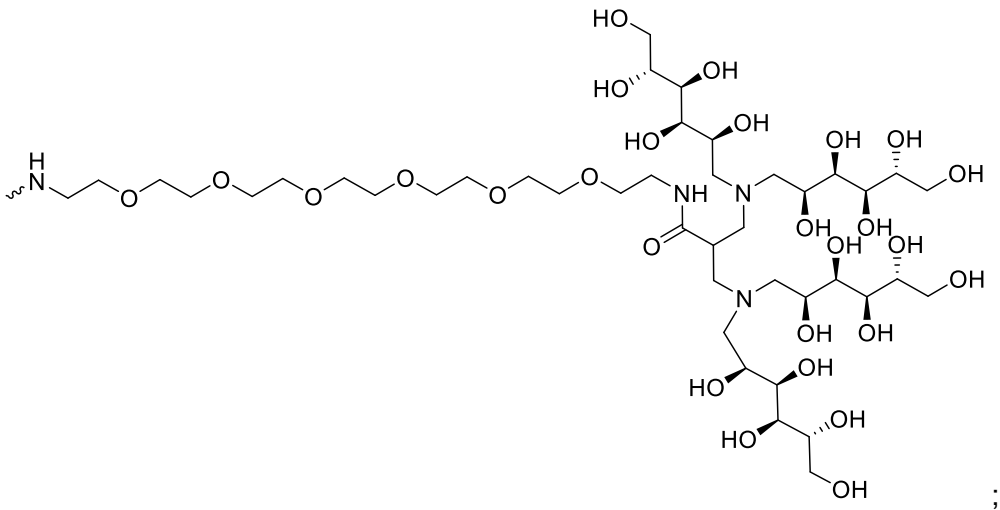

;


;

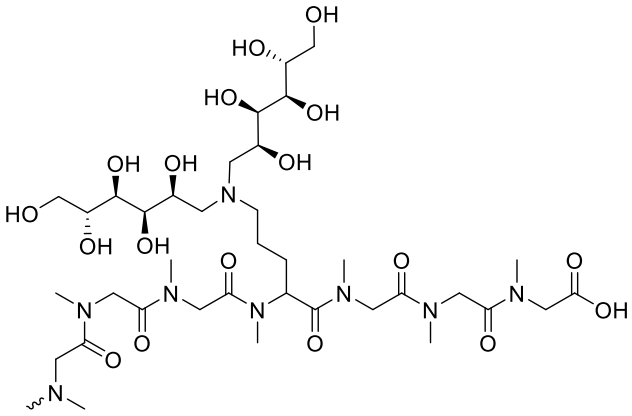

;


;

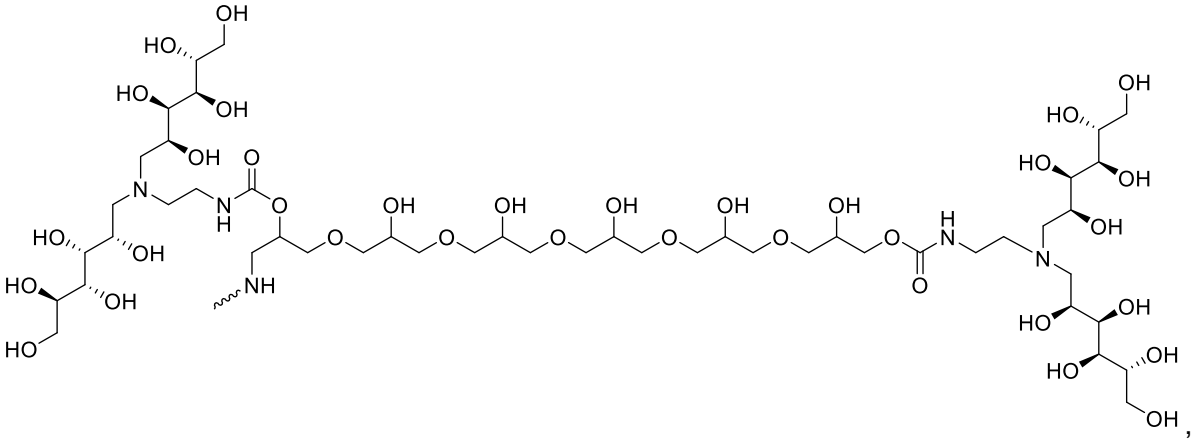

;



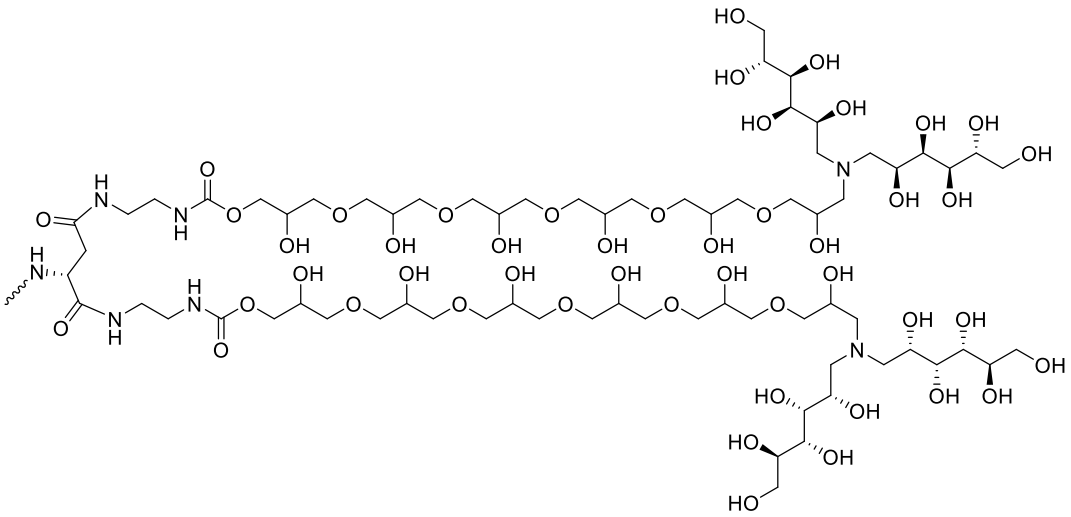
;



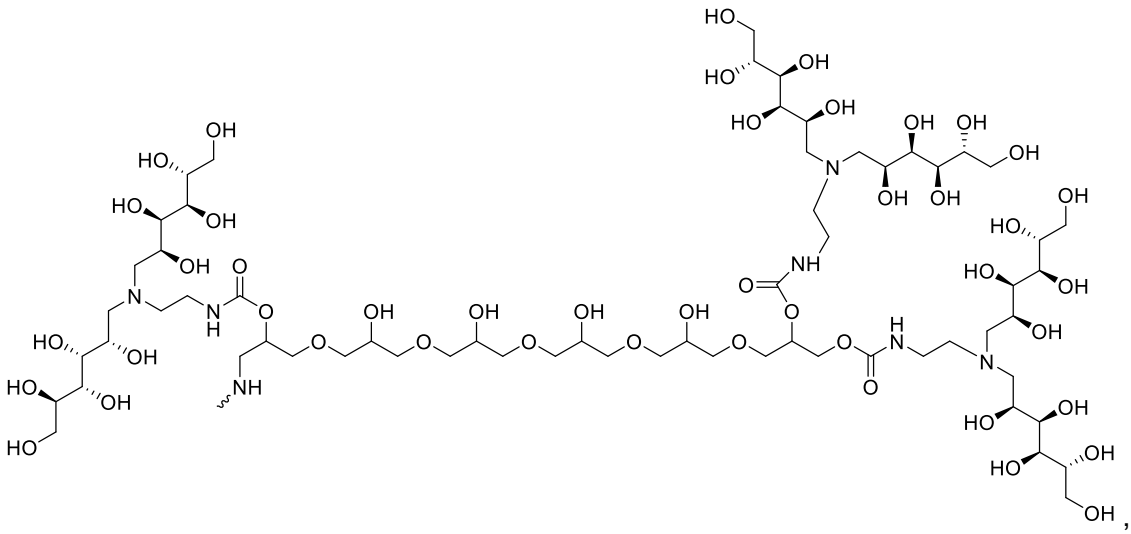
;



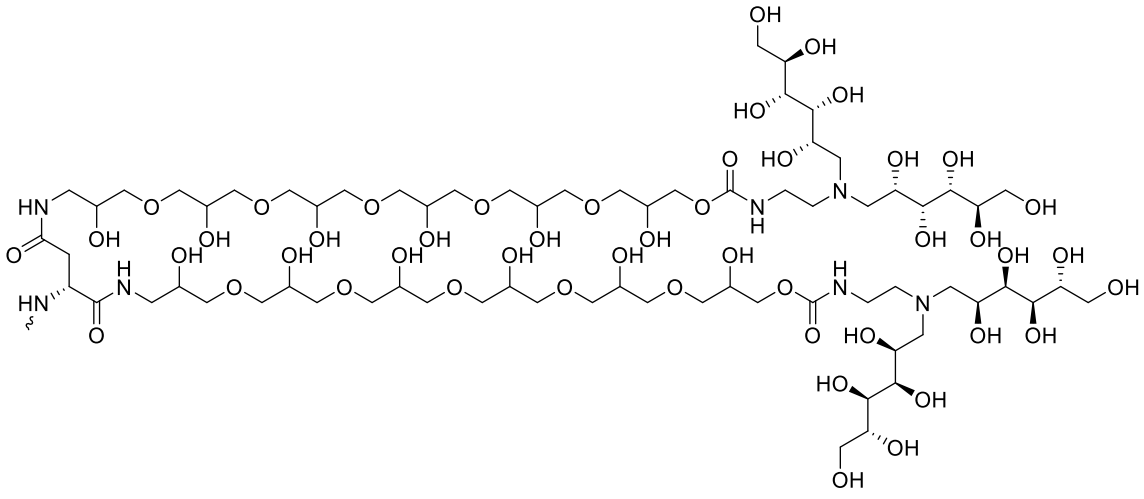
,



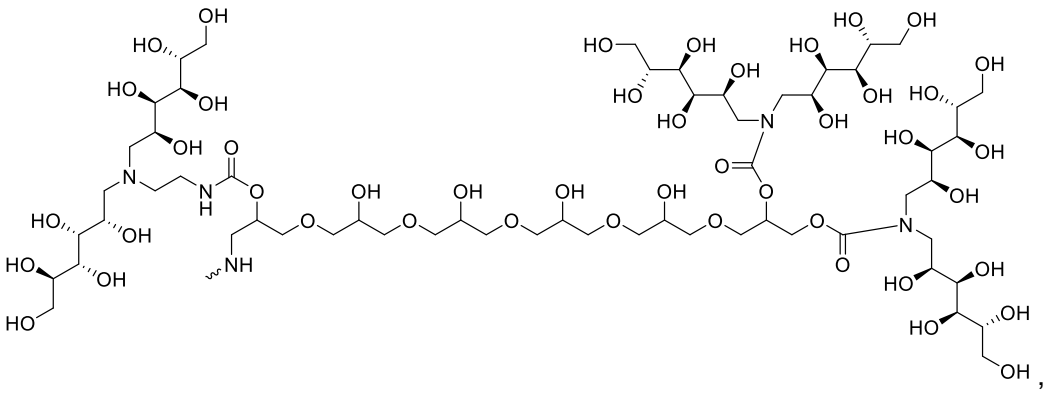
,



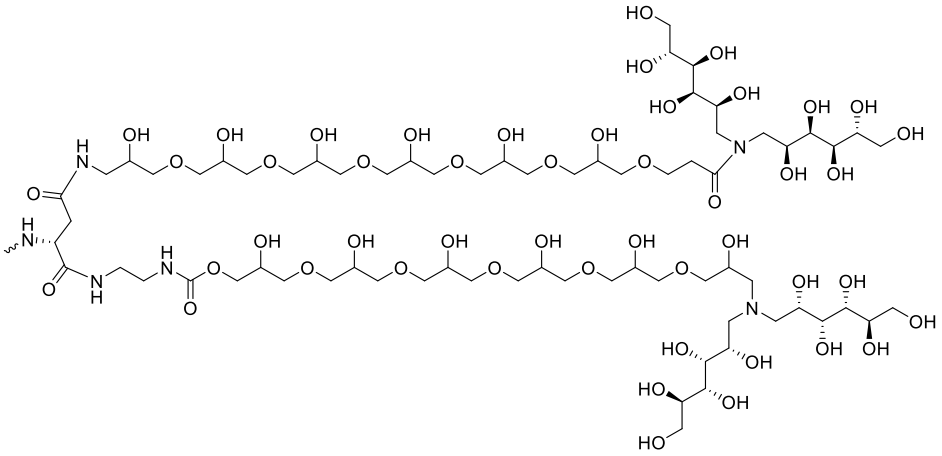
,



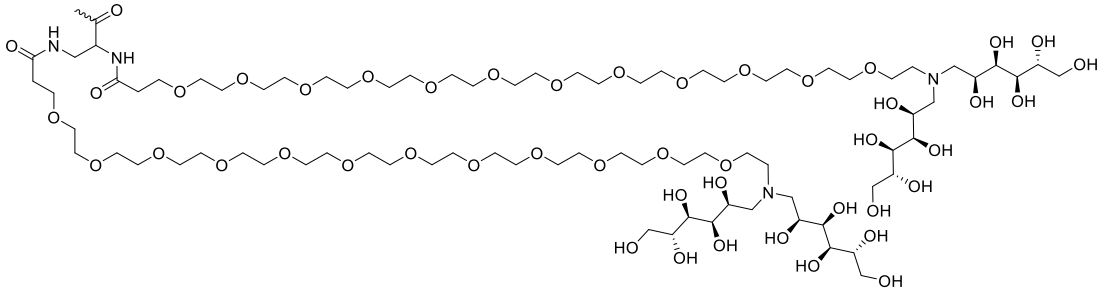
,



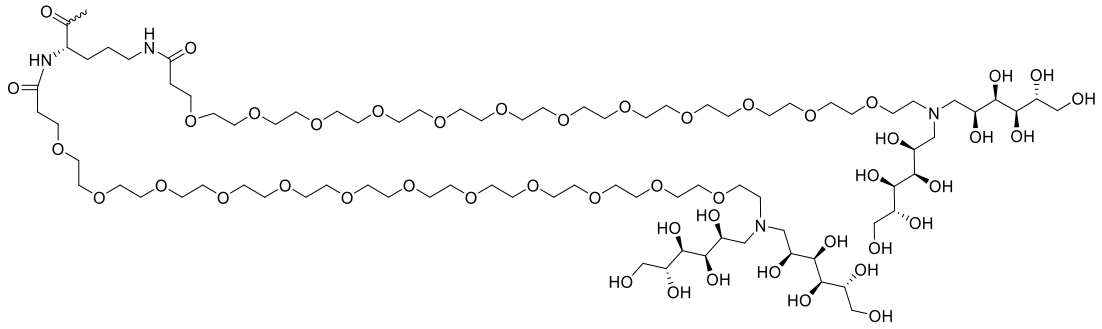
,



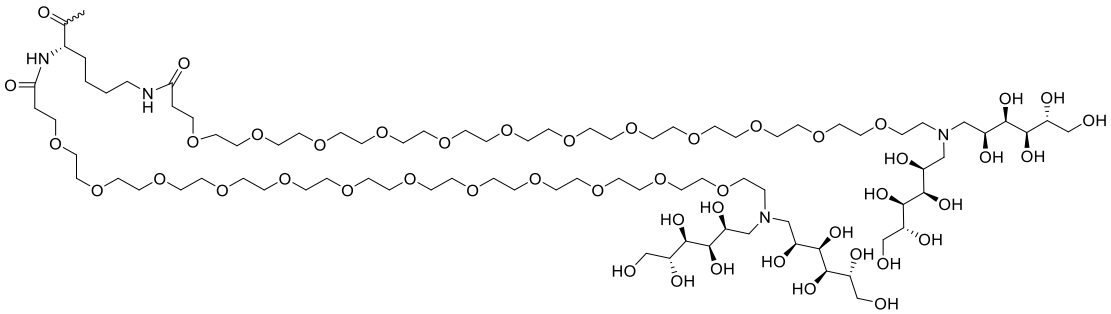
,



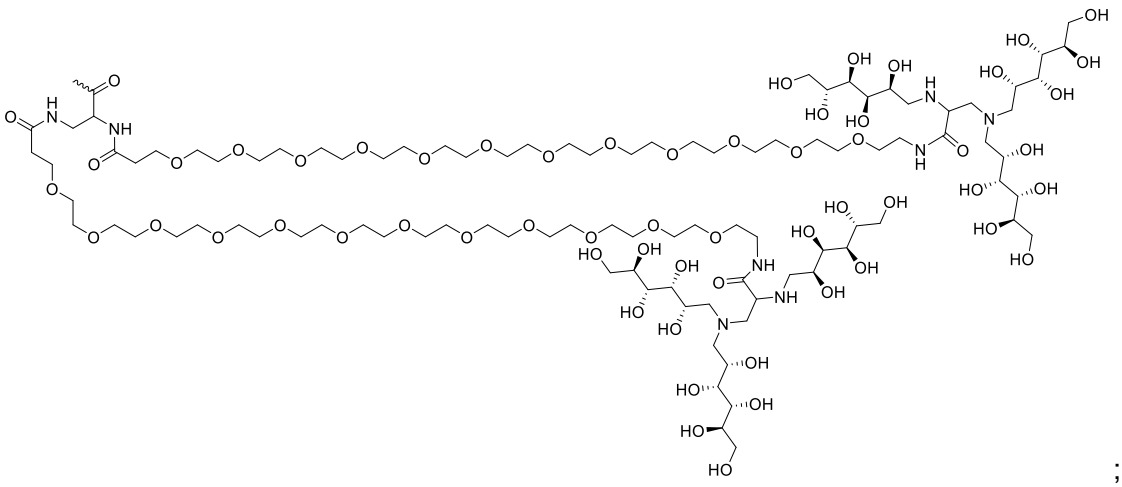
;



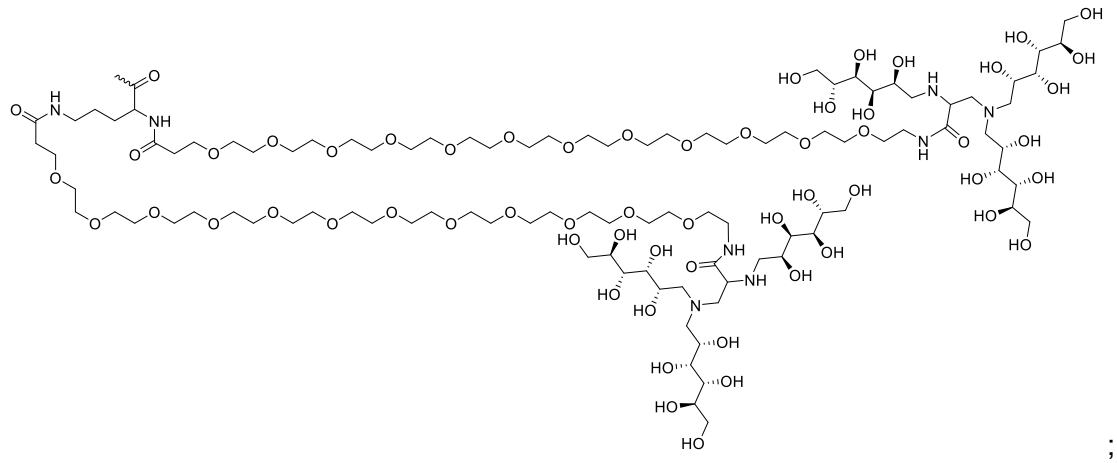
;



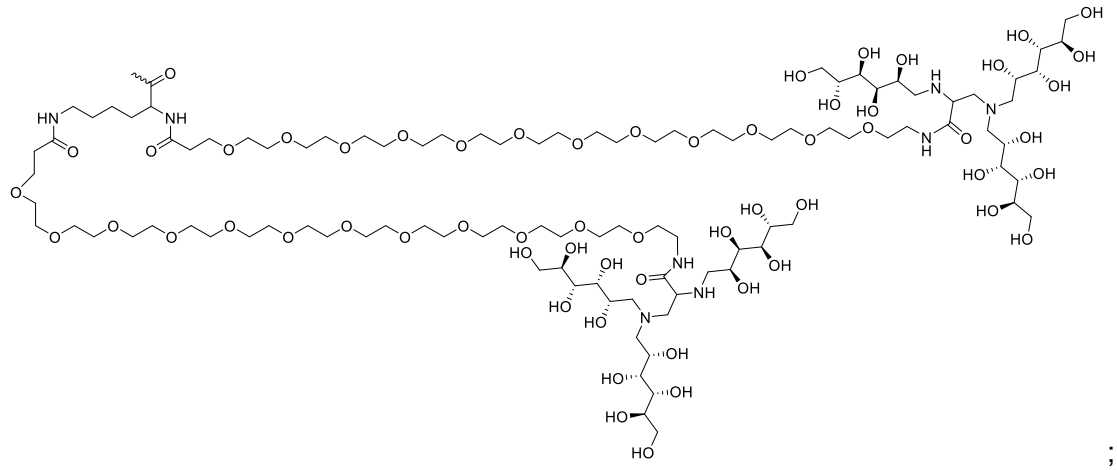
;



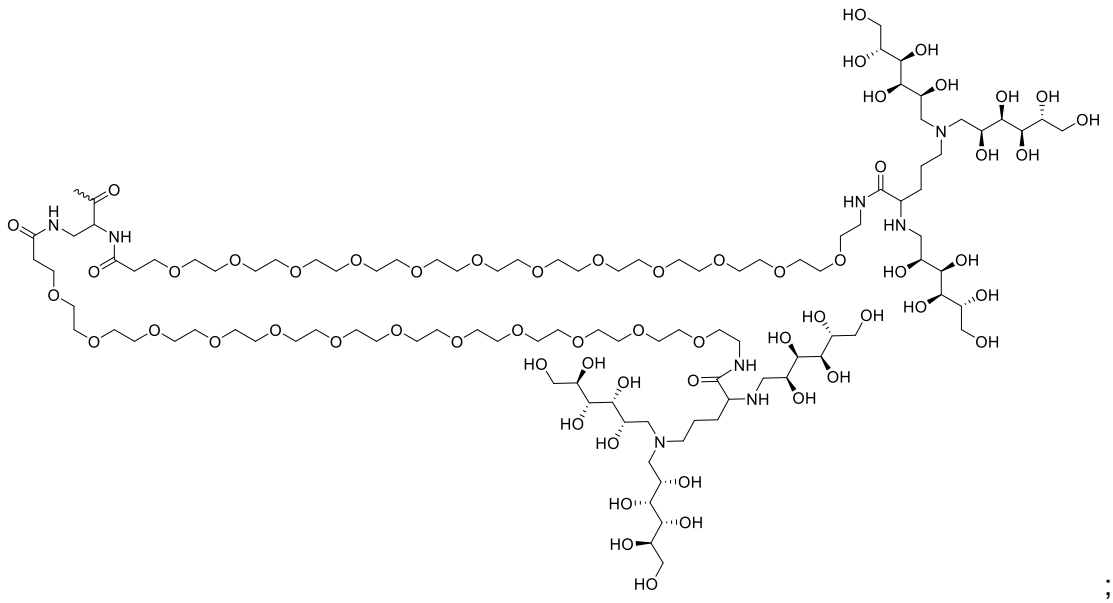
;



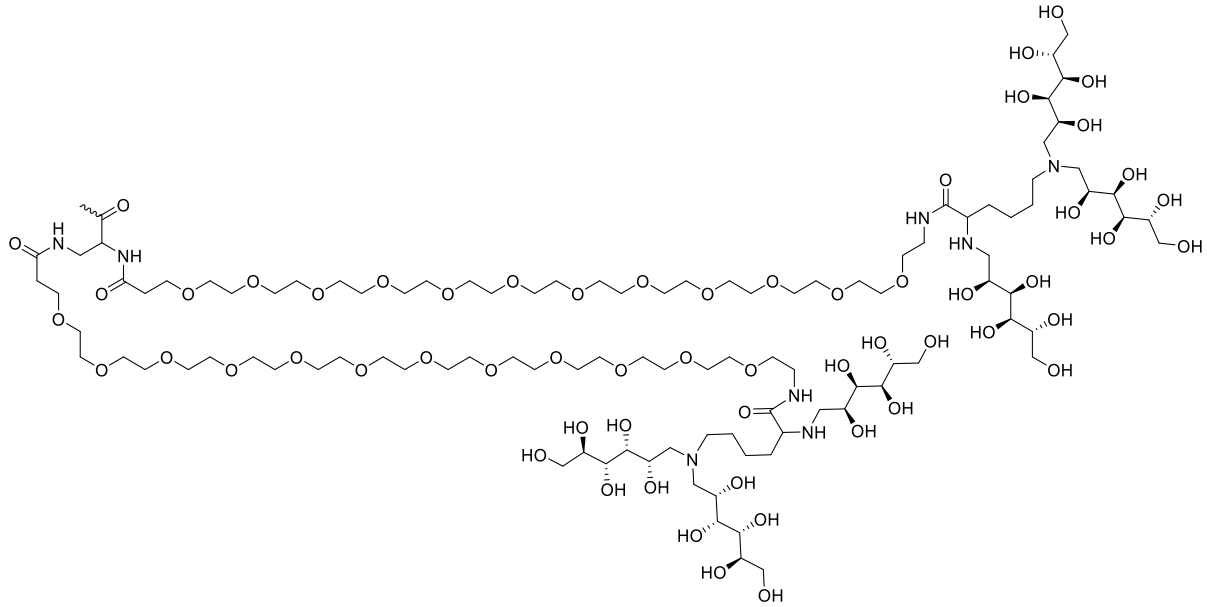
;



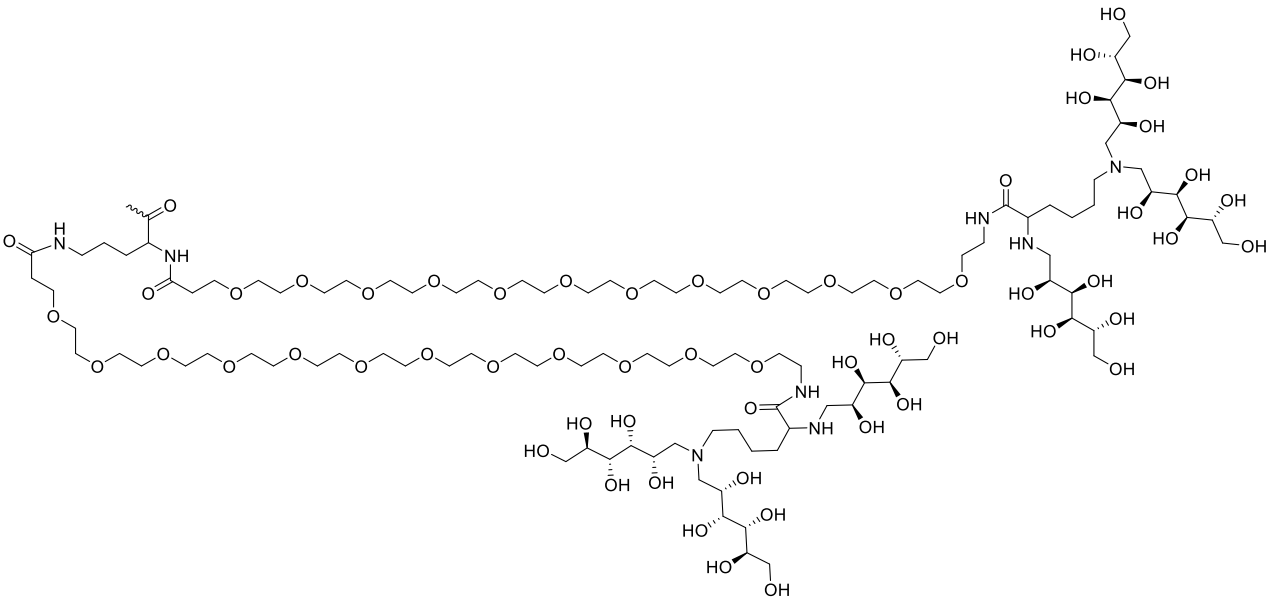
;



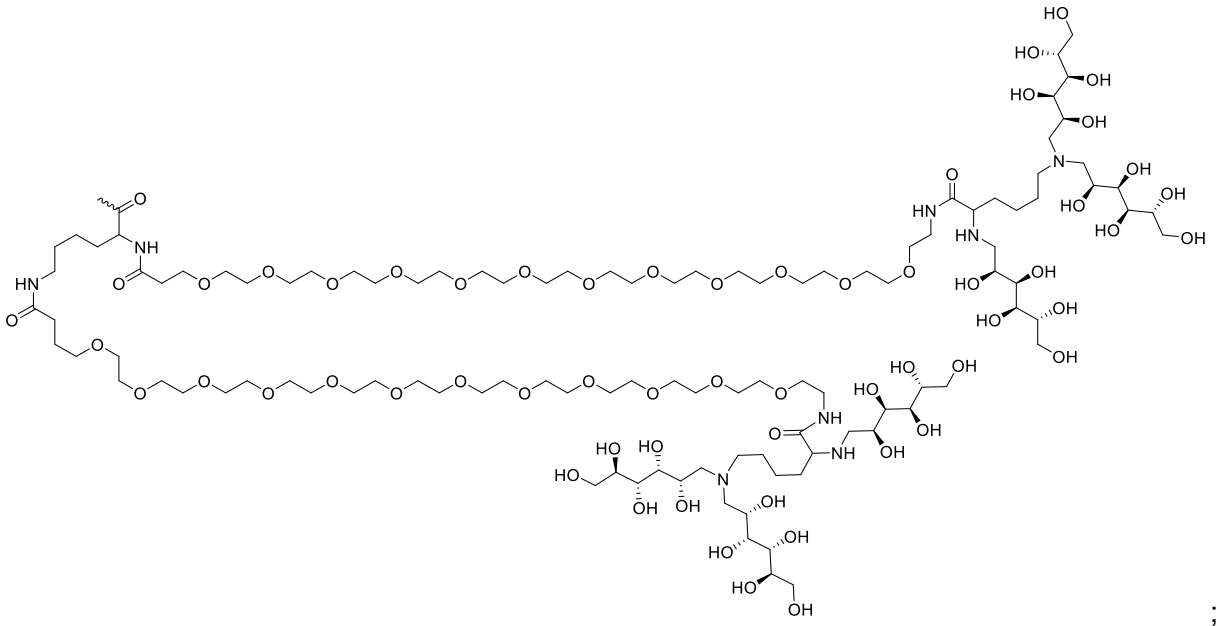
;



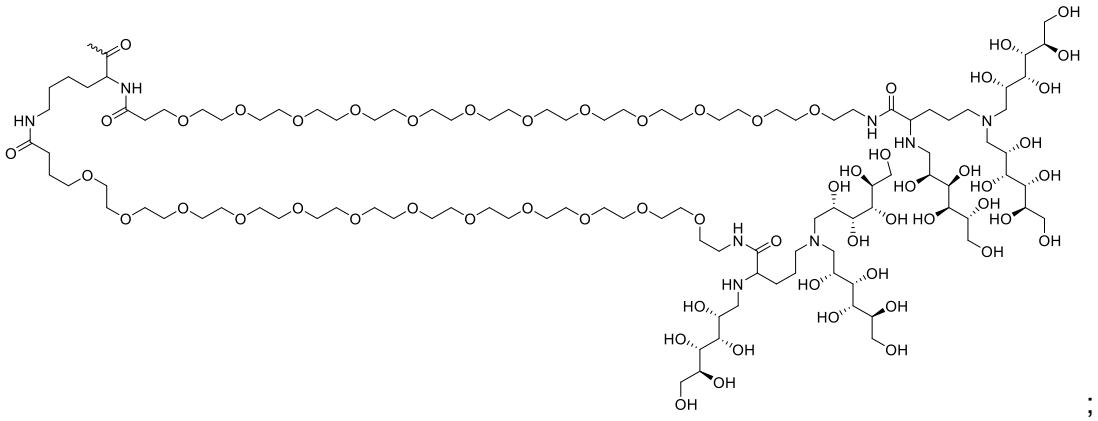
;



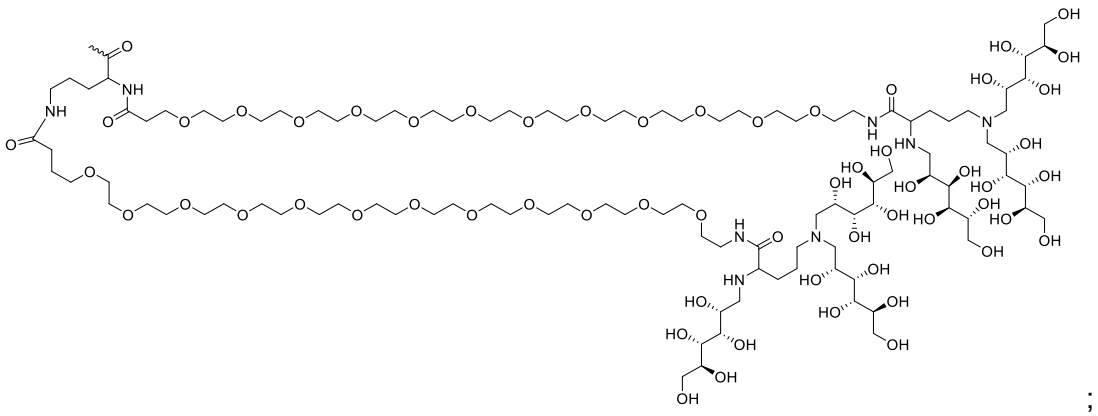
;



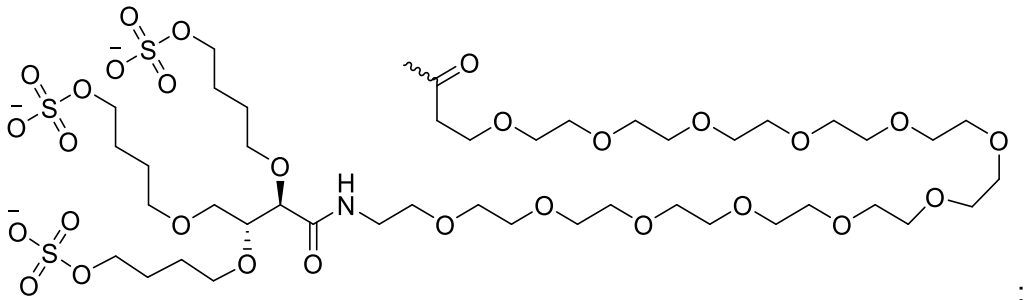
;



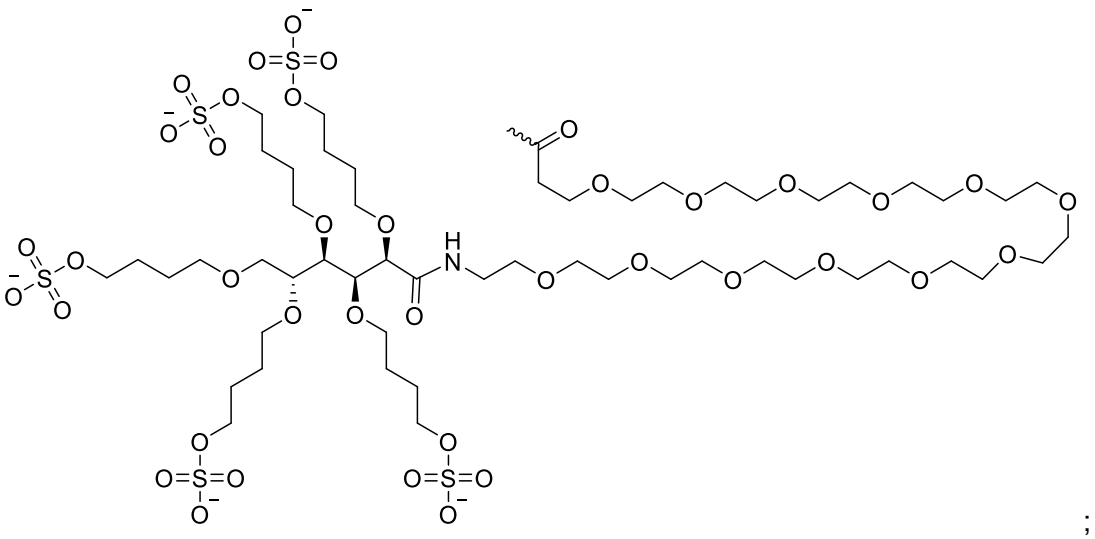
;



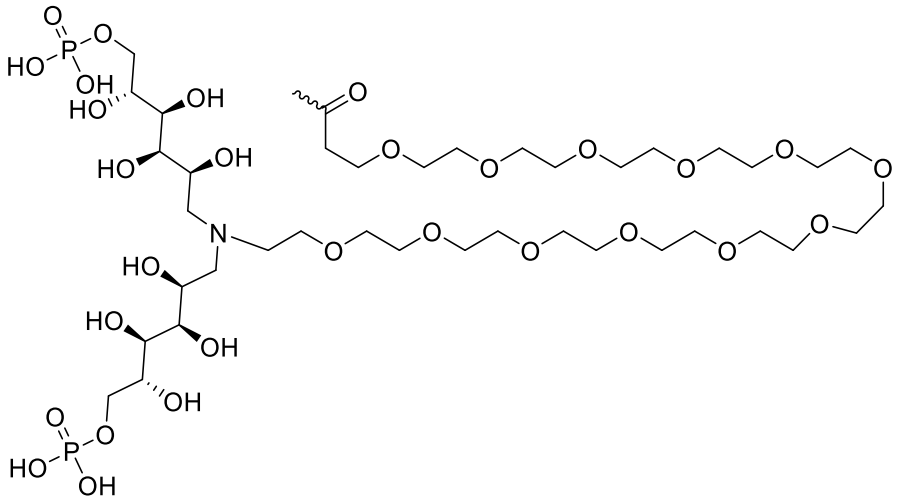
;



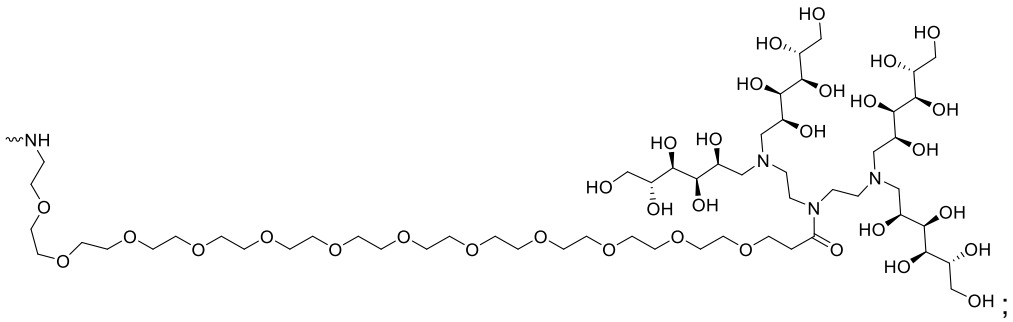
;



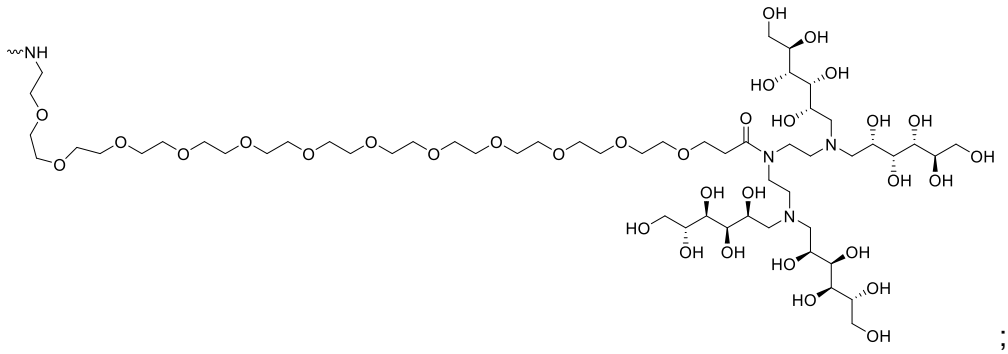
;



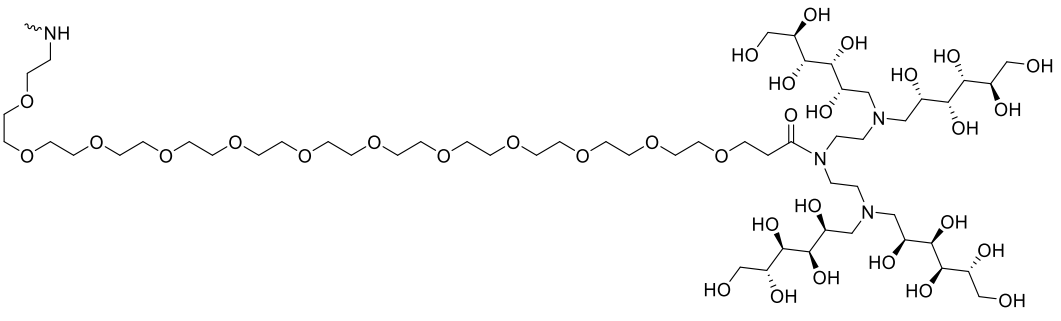
;



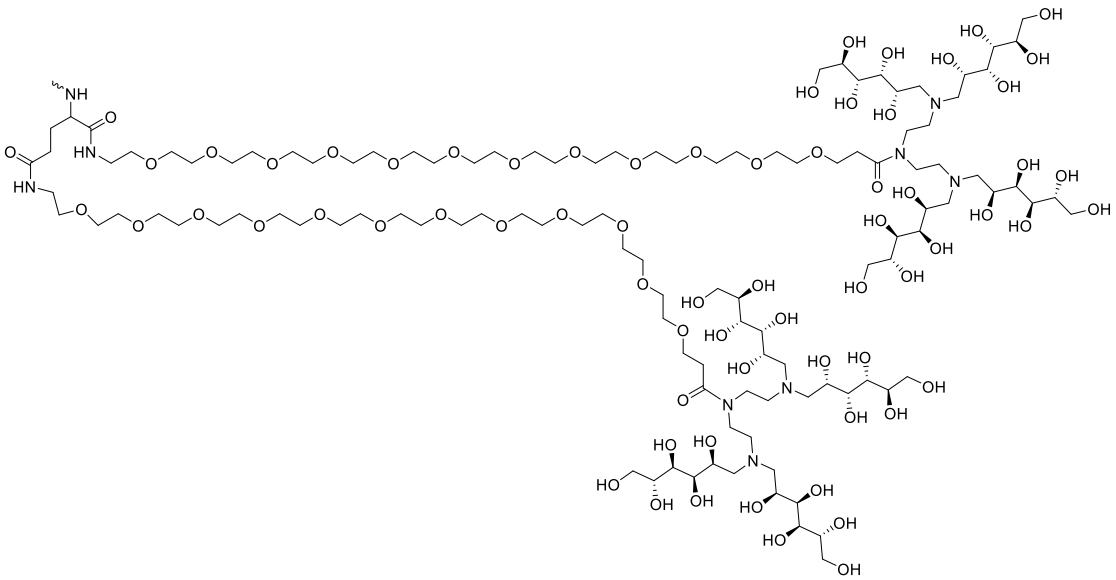
;



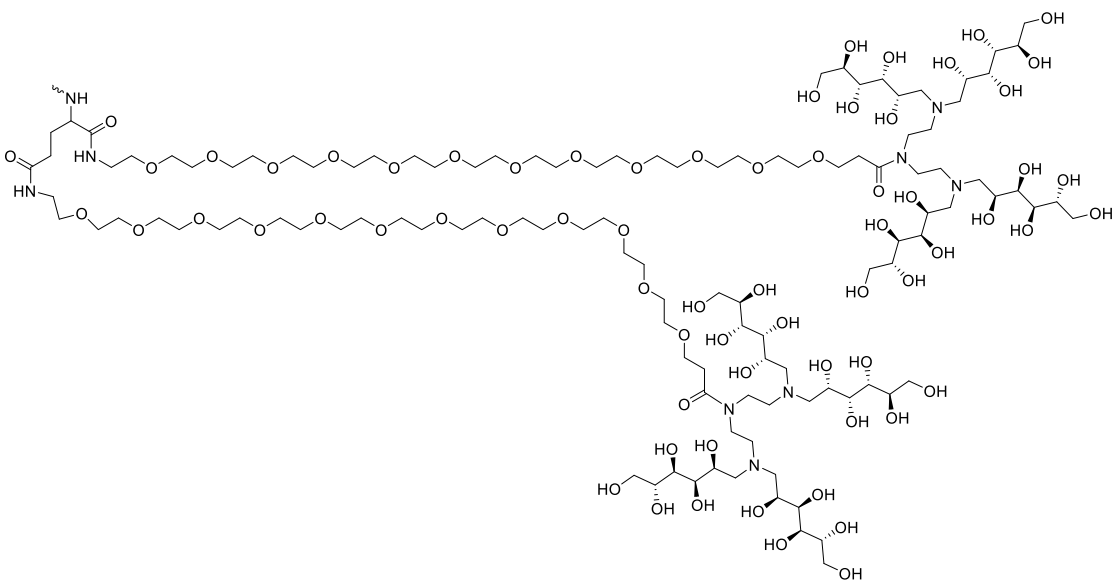
;



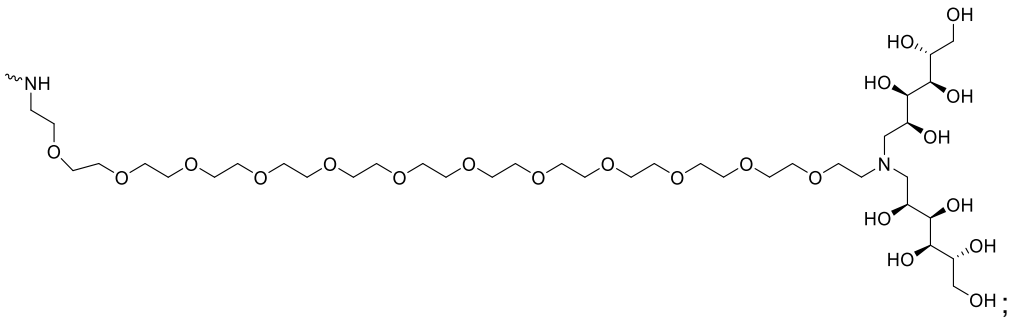
;



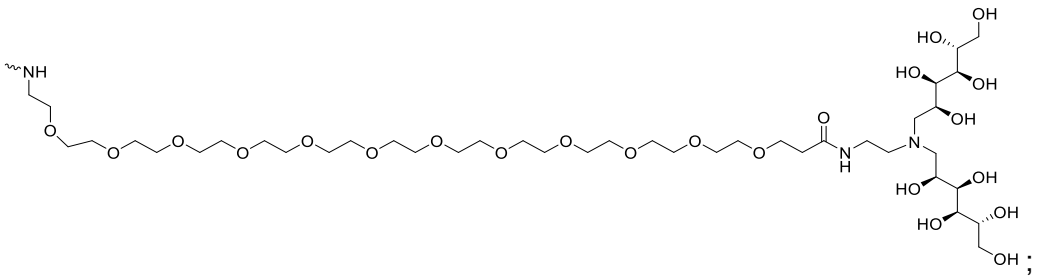
;



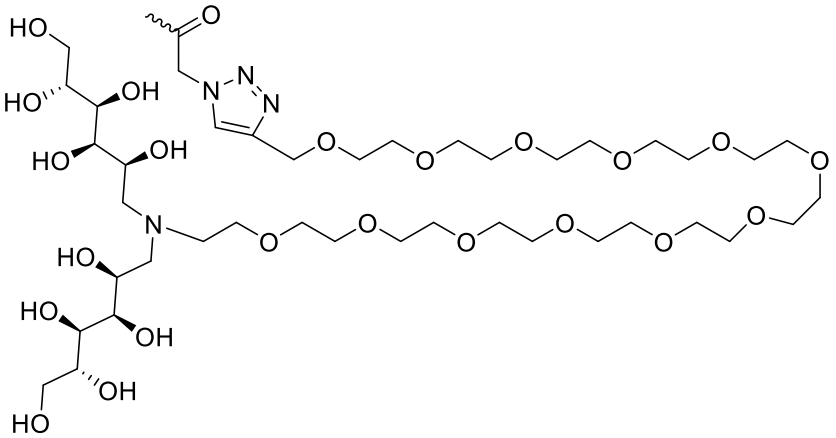
;



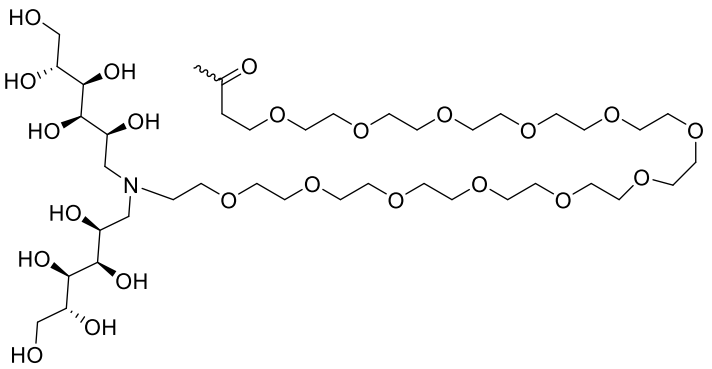
;



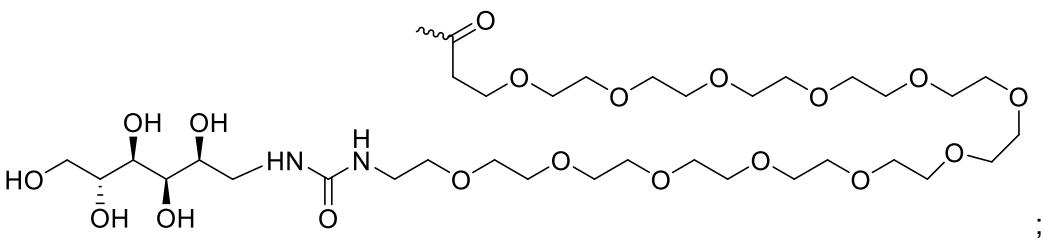
;



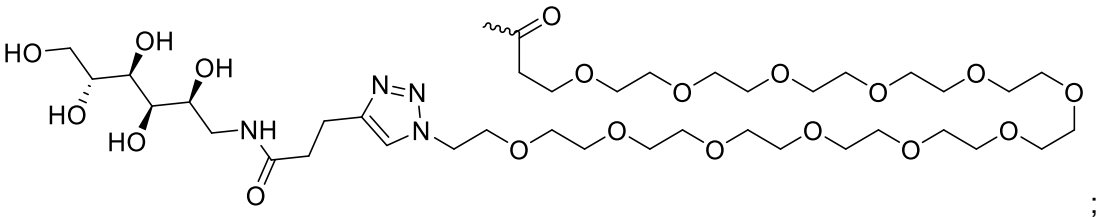
;



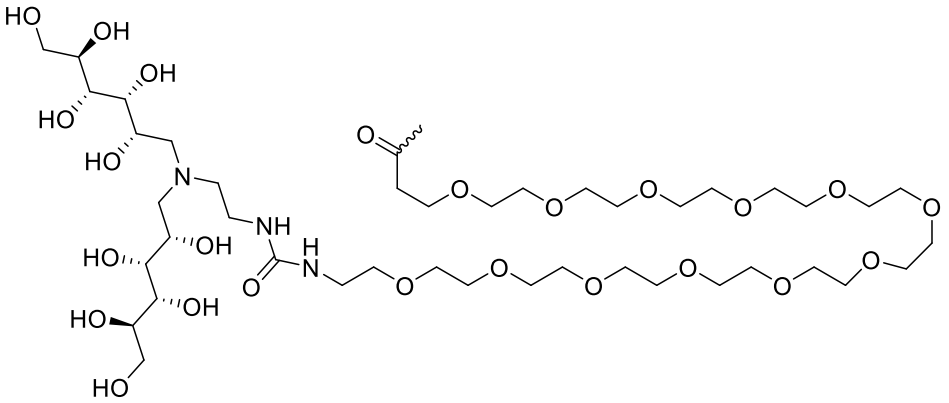
;



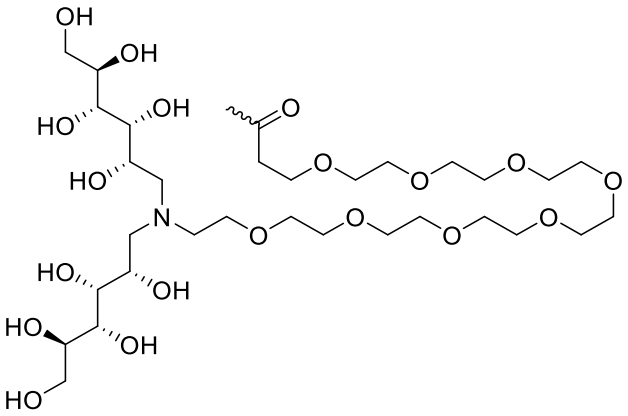
;



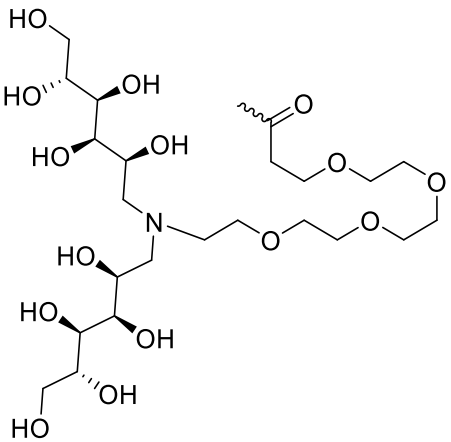
;



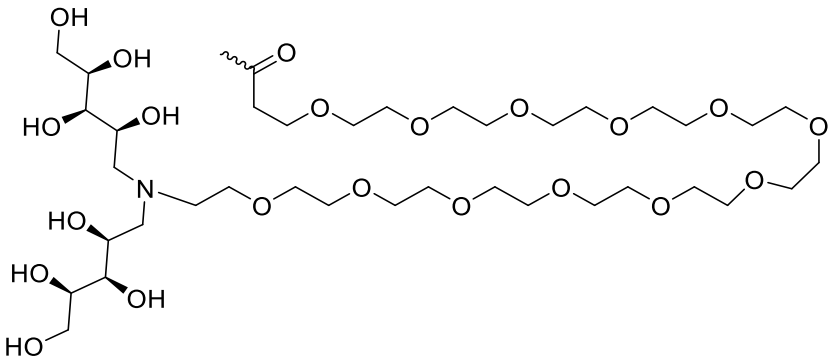
;



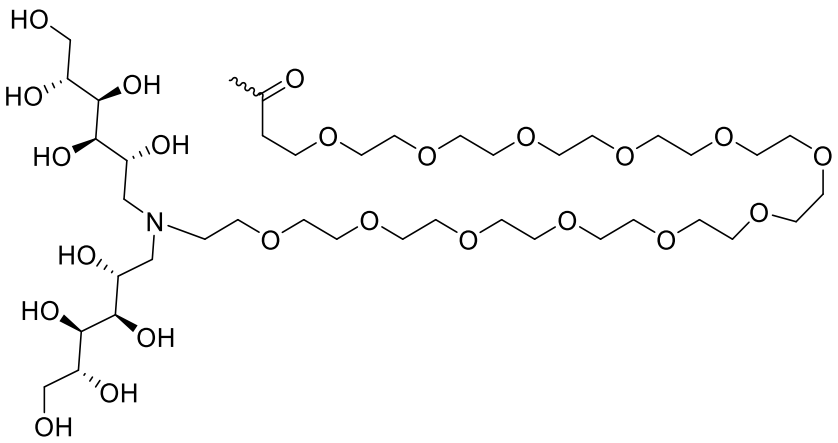
;



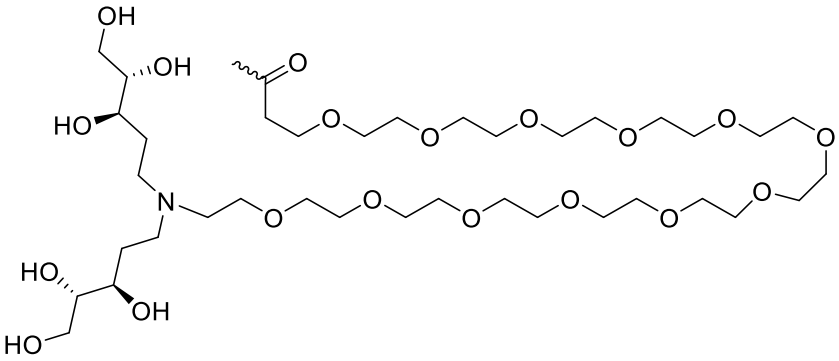
;



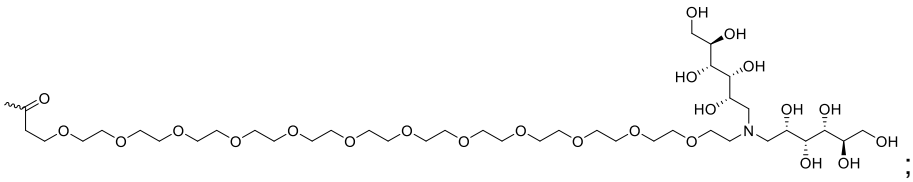
;



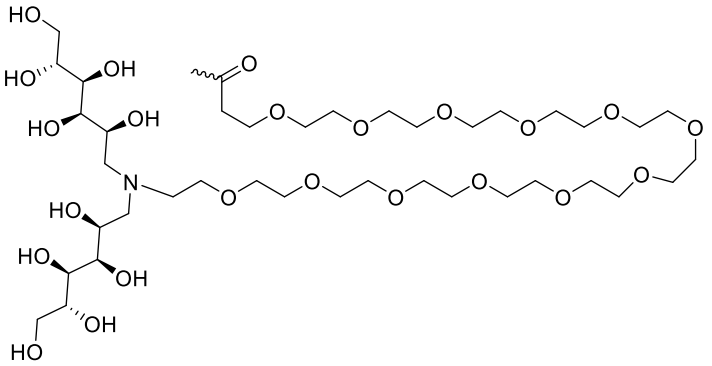
;



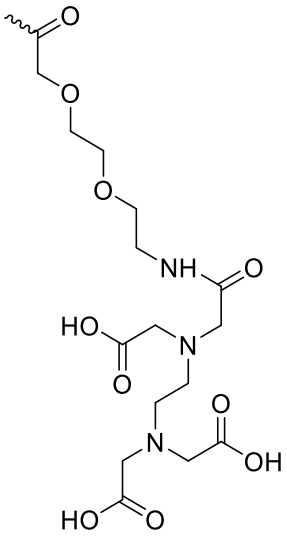
;



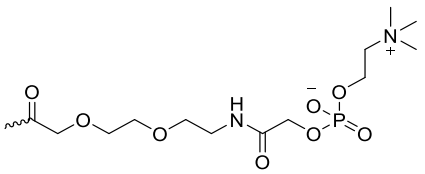
;



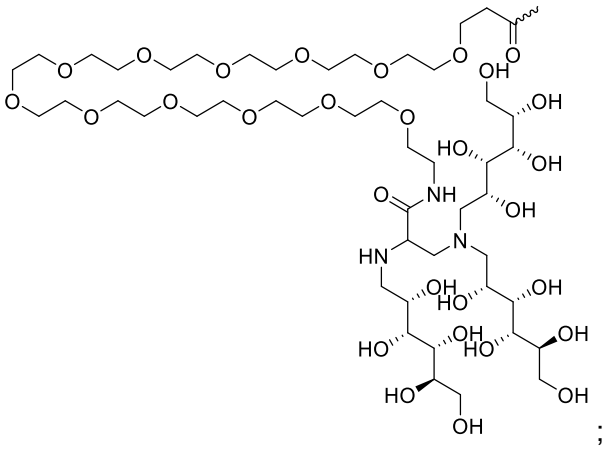
;



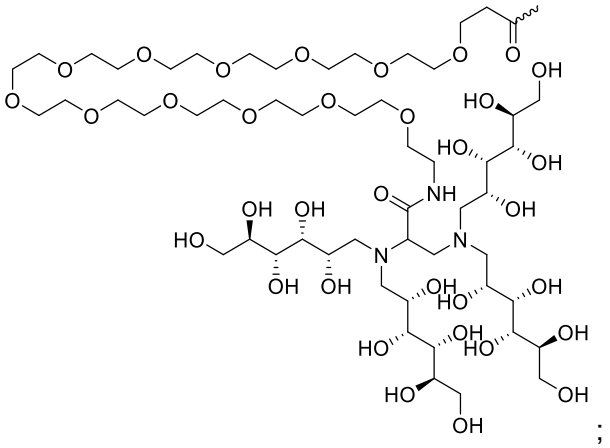
;



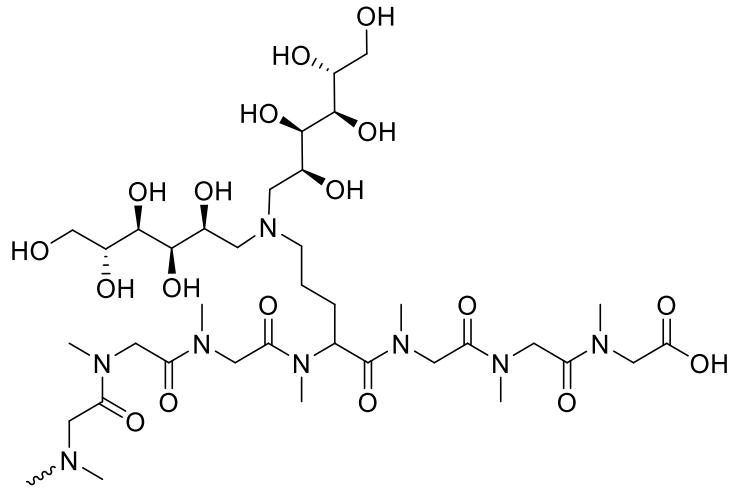
;



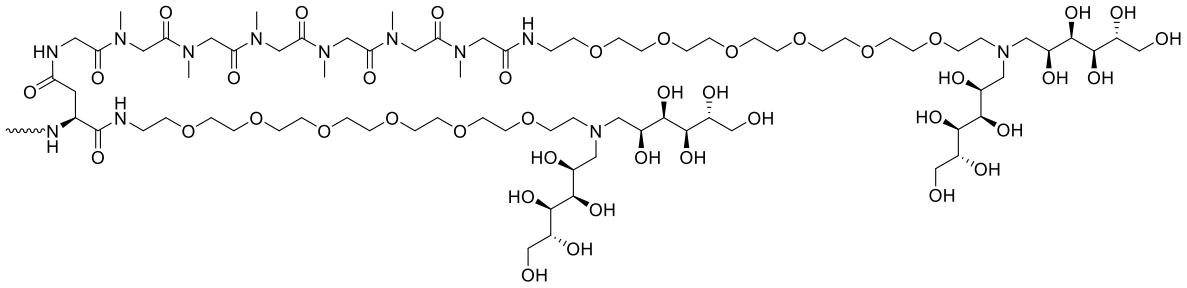
;



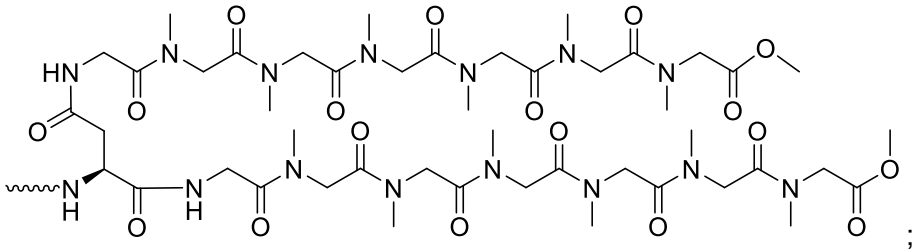
;



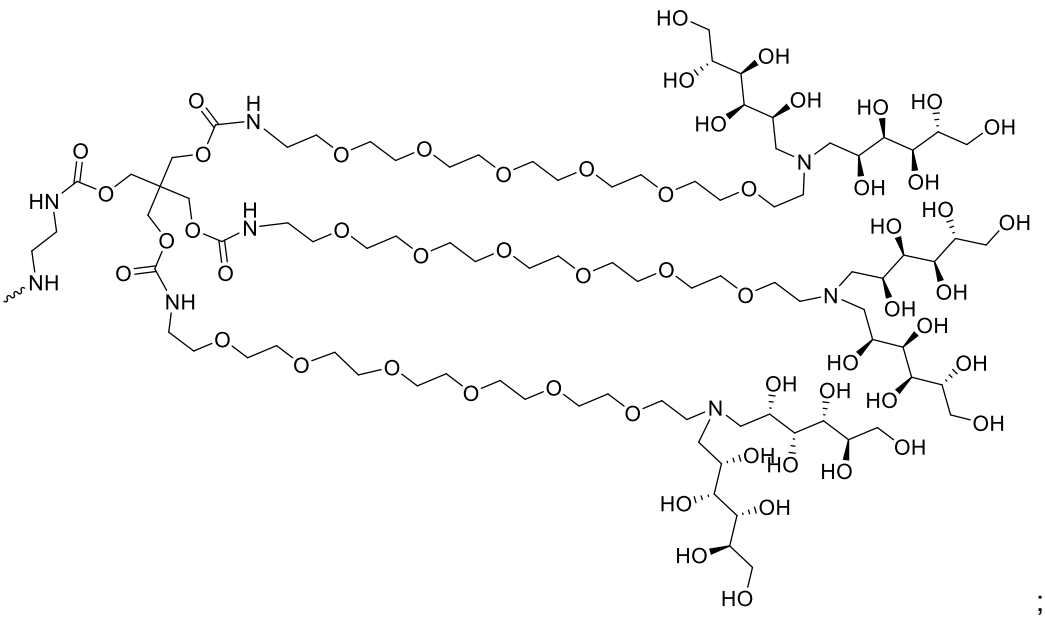
;



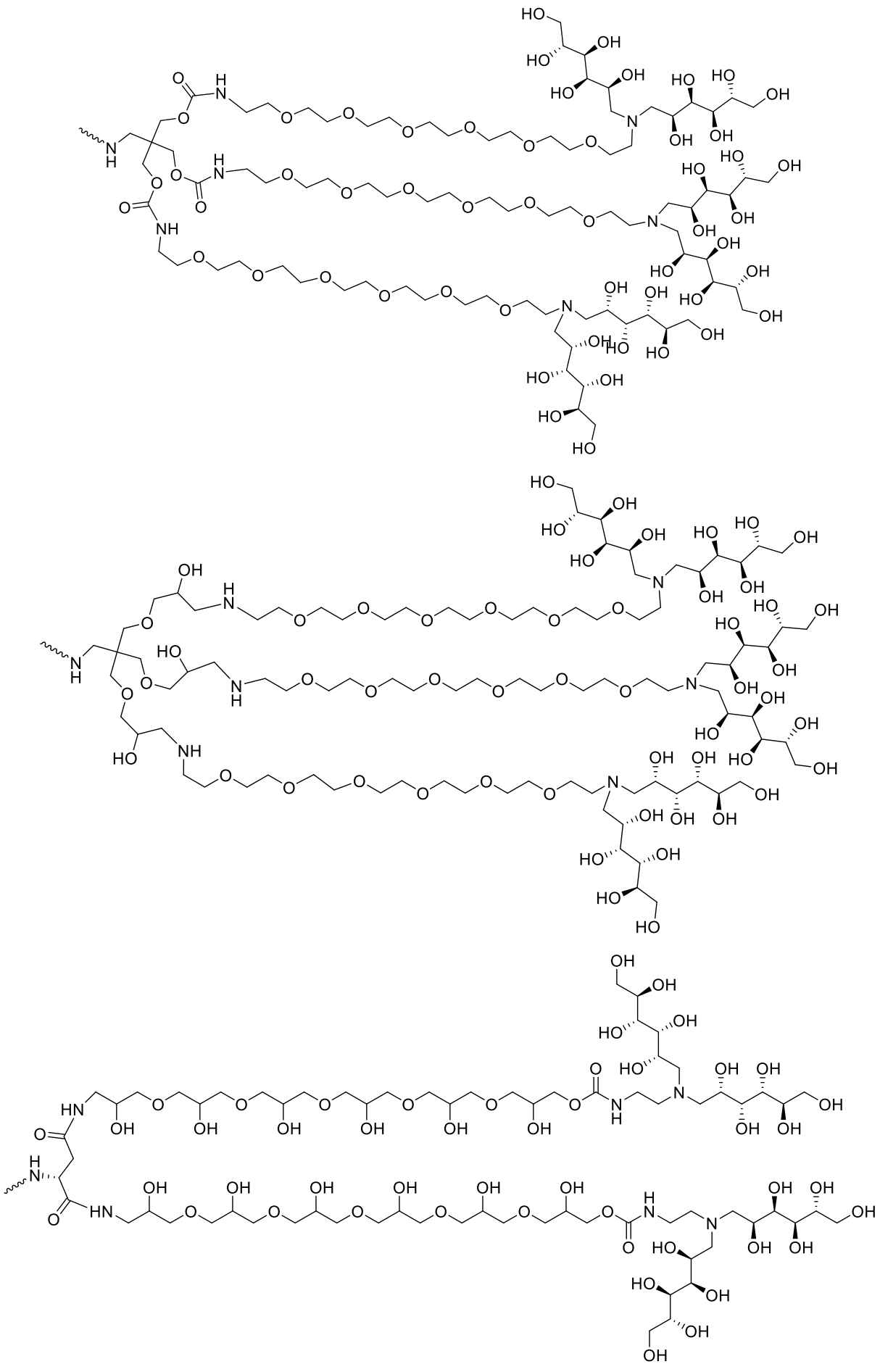
;

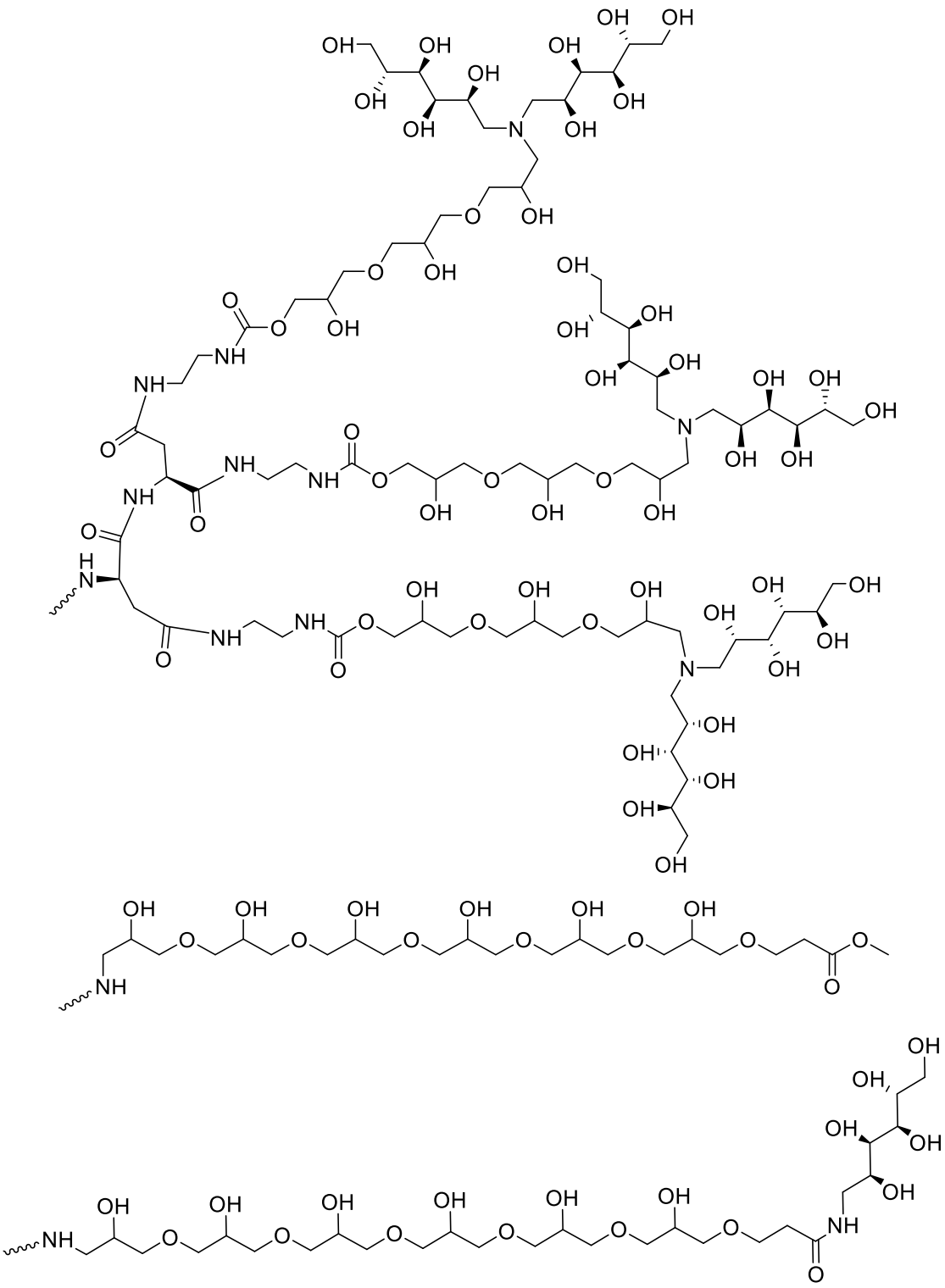


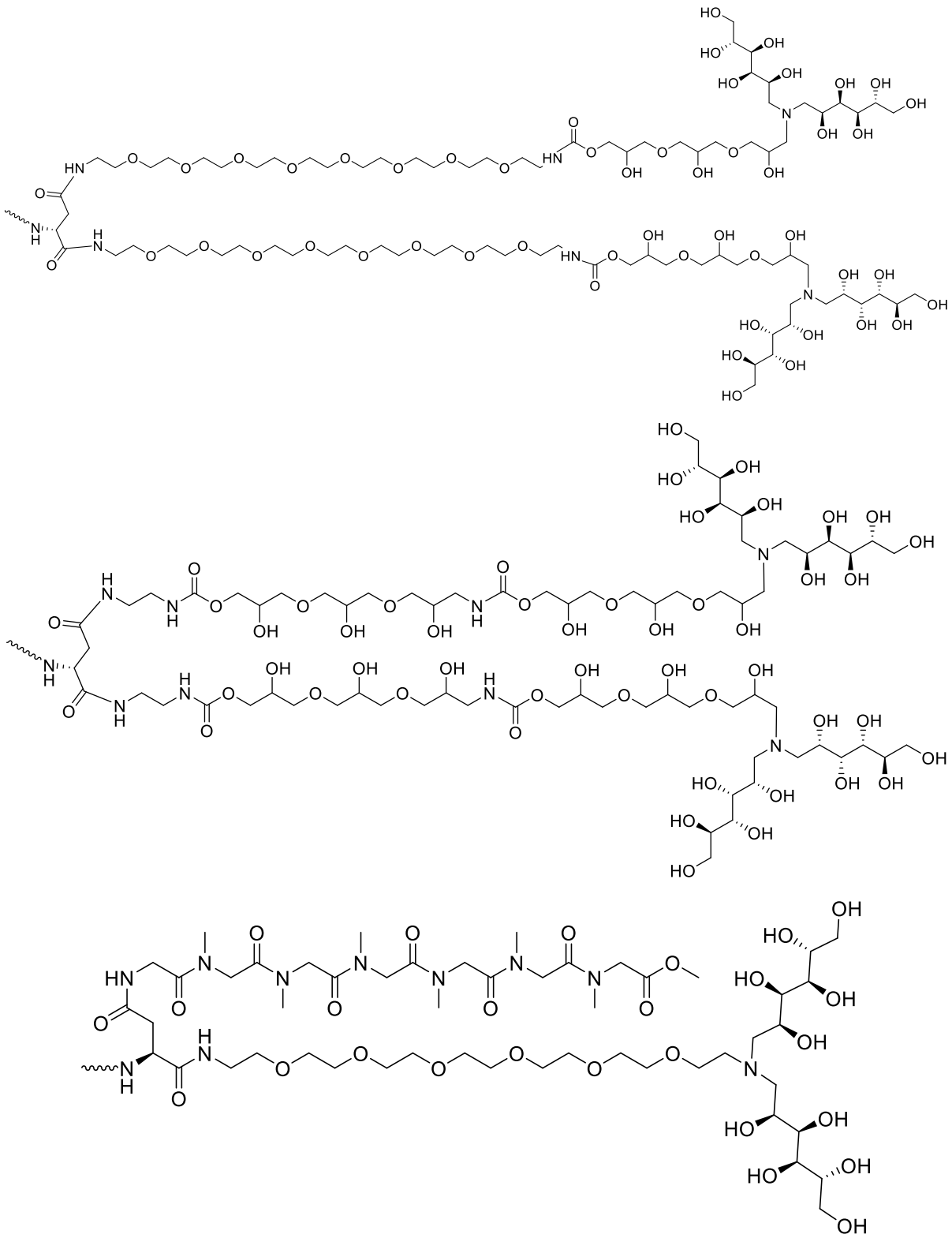
;

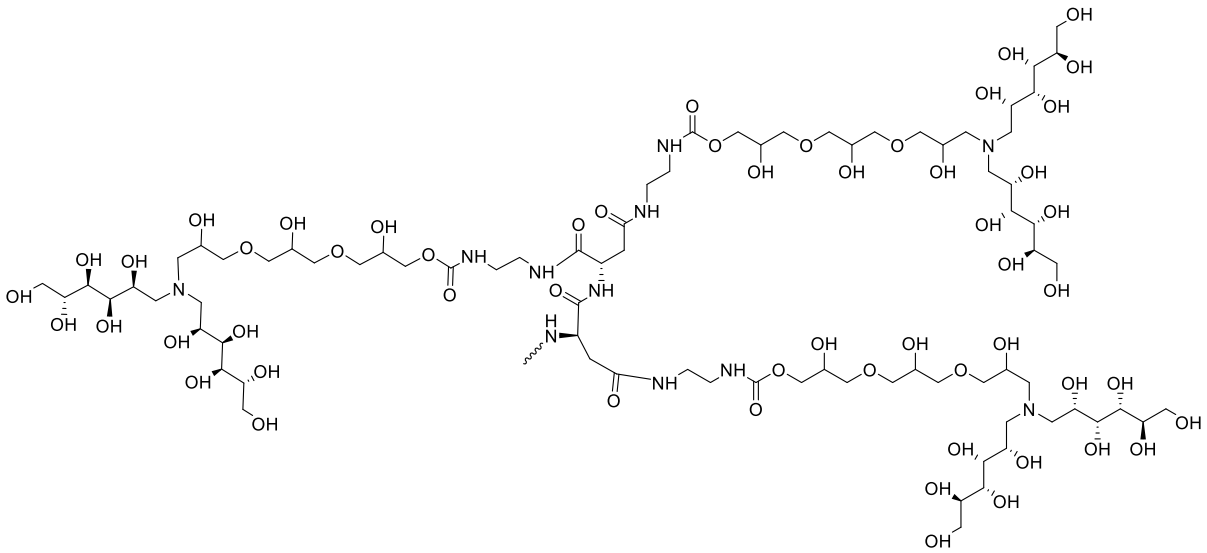


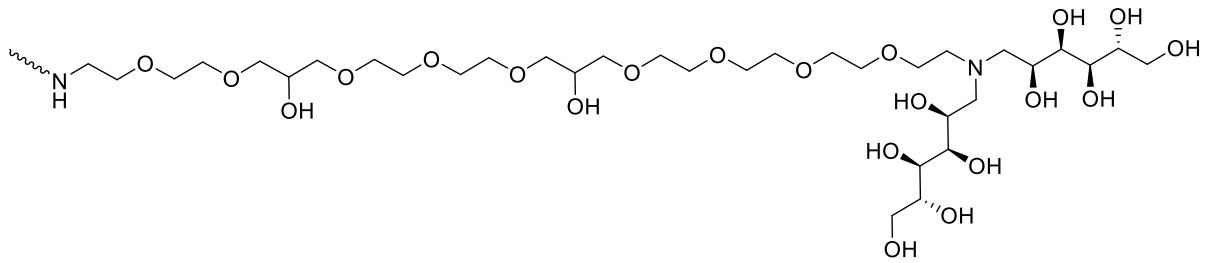
;

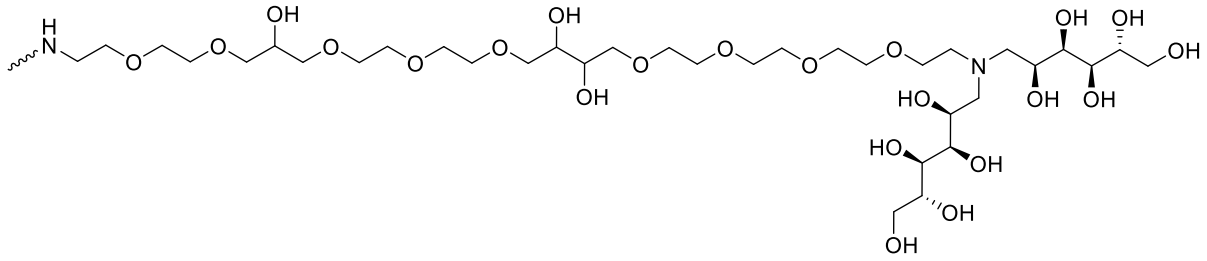


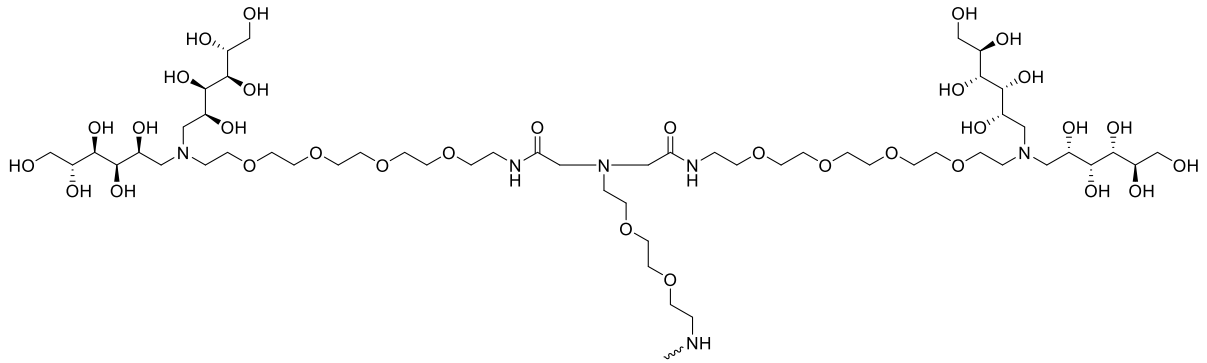


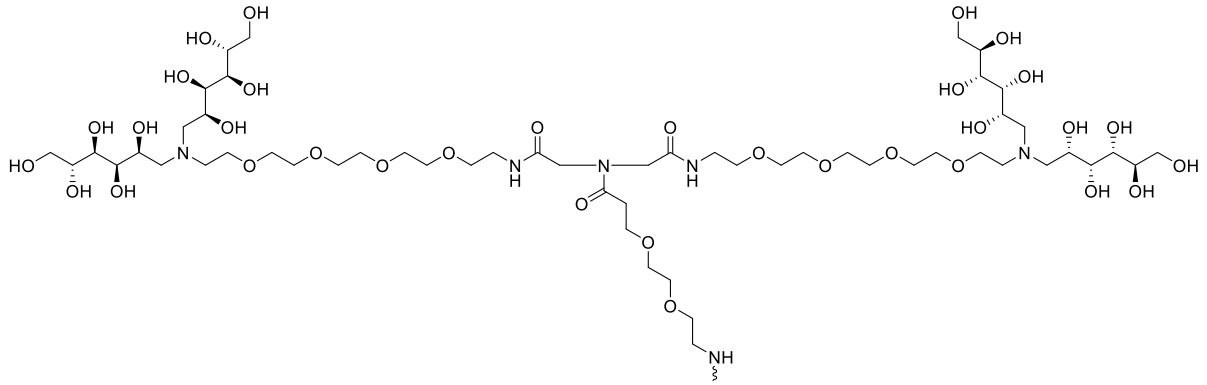


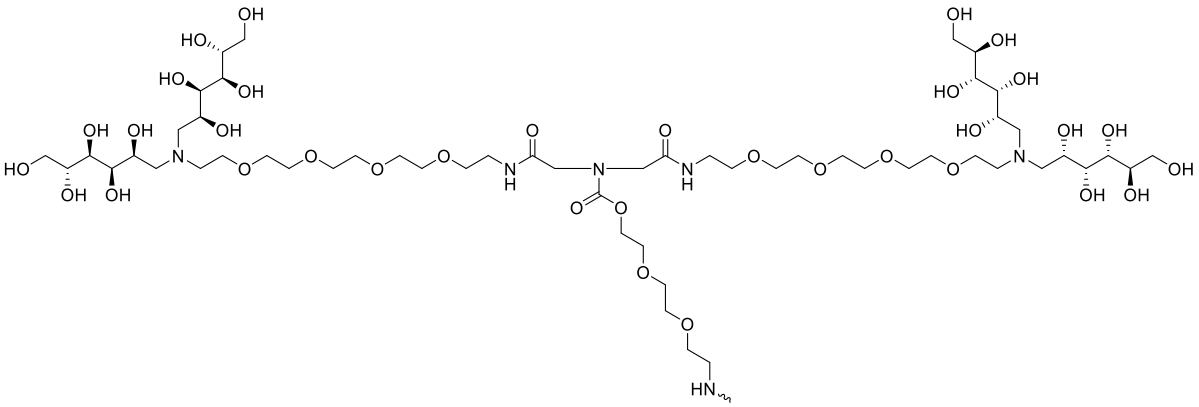


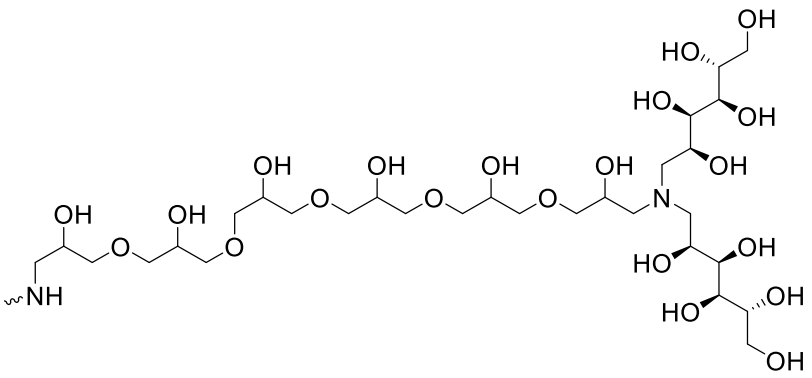


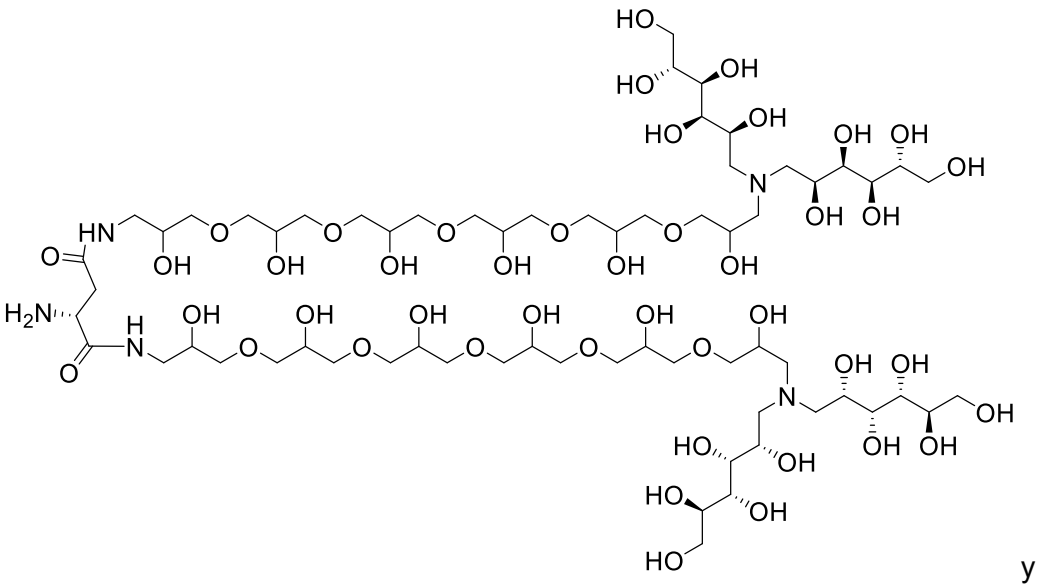




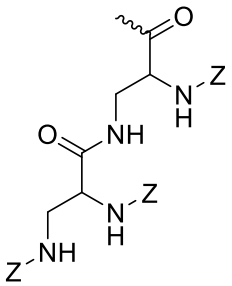




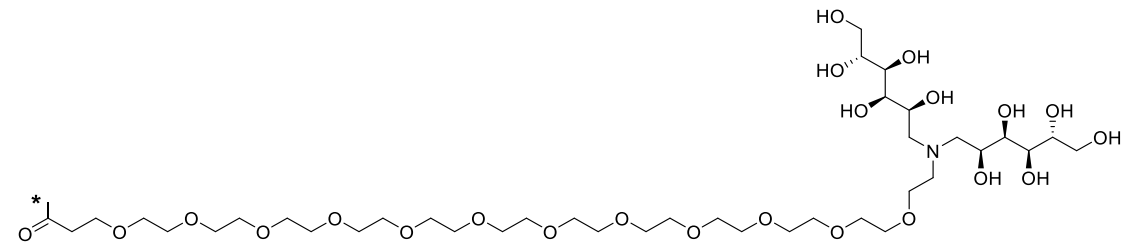


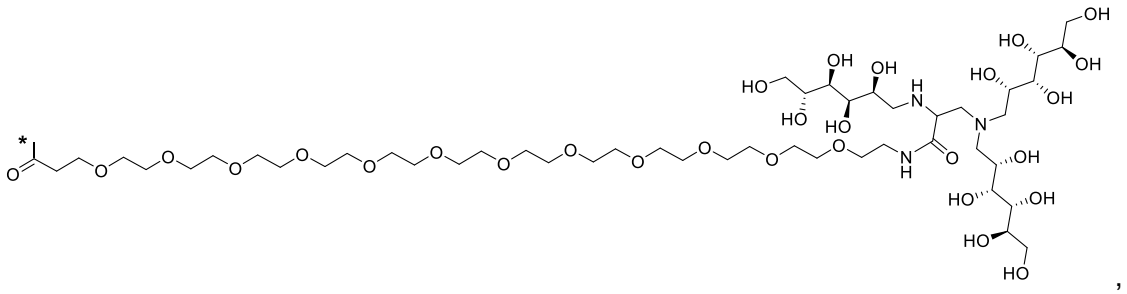


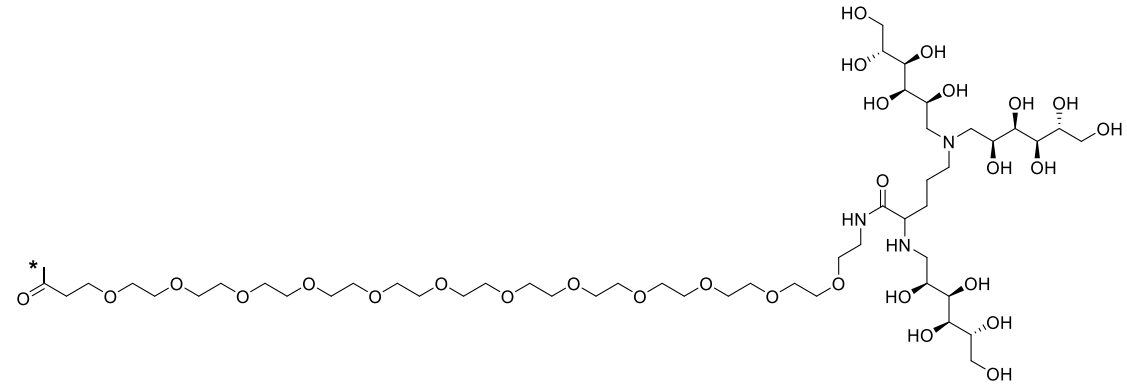
y



donde cada Z se une por * y se selecciona individualmente entre:


,


, y


;

donde cada 〰 es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0140] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que comprende por lo menos una unidad carboxilo que tiene la siguiente fórmula:

$$R^{70} - L^{70} - *$$

(XXXX)

o un estereoisómero o una sal de la misma, donde:

(a) L^{70} se selecciona entre C_1-C_8 alquileno, C_1-C_8 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_8 alquileno-, y -C(O)-C_1-C_8 alquileno-C(O)-, y * es un sitio de unión a R^b, al grupo enzimáticamente escindible, o al resto del grupo polar; R^{70} es ~$NR^{71}(R^{72}$-$R^{73})$, donde R^{71} se selecciona entre H, C_1-C_{12} alquilo, C_1-C_{12} alquilo sustituido, o polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), R^{72} es un enlace o se selecciona entre C_1-C_3 alquileno opcionalmente sustituido, éter opcionalmente sustituido, tioéter opcionalmente sustituido, cetona opcionalmente sustituida, amida opcionalmente sustituida, polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido, y R^{73} es un carboxilo o policarboxilo, donde el policarboxilo comprende entre 1 y 10, o entre 1 y 6, o entre 1 y 4 grupos carboxilo, donde los grupos carboxilo están interconectados por alquilo, alquileno, alquilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquilo, heteroalquileno, amino y/o amida; o

(b) L^{70} se selecciona entre C_1-C_8 alquileno, C_1-C_8 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_8 alquileno-, y -C(O)-C_1-C_8 alquileno-C(O)-, y * es un sitio de unión a R^b, al grupo enzimáticamente escindible, o al resto del grupo polar; R^{70} es ~$NR^{71}(R^{75}\text{-}(R^{73})_2)$, donde R^{71} se selecciona entre H, C_1-C_{12} alquilo, C_1-C_{12} alquilo sustituido, o polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), R^{75} es un C_1-C_3 alquileno ramificado opcionalmente sustituido, éter opcionalmente sustituido, tioéter opcionalmente sustituido, cetona opcionalmente sustituida, amida opcionalmente sustituida, polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido y cada R^{73} es independientemente carboxilo o policarboxilo, donde el policarboxilo comprende entre 1 y 10, o entre 1 y 6, o entre 1 y 4 grupos carboxilo, donde los grupos carboxilo están interconectados por alquilo, alquileno, alquilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquilo, heteroalquileno, amino y/o amida; o

(c) L^{70} se selecciona entre C_1-C_8 alquileno, C_1-C_8 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_8 alquileno-, y -C(O)-C_1-C_8 alquileno-C(O)-, y * es un sitio de unión a R^b, al grupo enzimáticamente escindible, o al resto del grupo polar; R^{70} es ~$N(R^{74}\text{-}R^{73})(R^{72}\text{-}R^{73})$, donde R^{72} y R^{74} se seleccionan independientemente en cada caso entre C_1-C_3 alquileno opcionalmente sustituido, éter opcionalmente sustituido, tioéter opcionalmente sustituido, cetona opcionalmente sustituida, amida opcionalmente sustituida, polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido, y cada R^{73} es independientemente carboxilo o policarboxilo, donde el policarboxilo comprende entre 1 y 10, o entre 1 y 6, o entre 1 y 4 grupos carboxilo, donde los grupos carboxilo están interconectados por alquilo, alquileno, alquilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquilo, heteroalquileno, amino y/o amida.

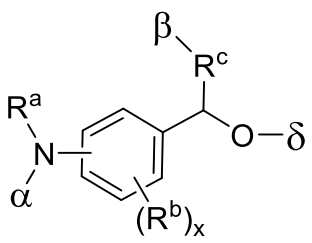
[0141] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que incluye la unidad Polímero y una unidad sacárido. En otras formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que incluye por lo menos dos unidades Polímero. En otras formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que incluye la unidad Polímero y una unidad carboxilo. En otras formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden por lo menos dos grupos polares. En otras formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que incluye la unidad Polímero, la unidad sacárido y la unidad carboxilo. En aun otras formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo polar que incluye por lo menos dos unidades Polímero, por lo menos una unidad sacárido y por lo menos una unidad carboxilo.

[0142] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden por lo menos uno de los grupos polares unidos al grupo enzimáticamente escindible. Por

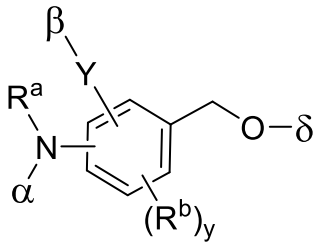
ejemplo, en algunas formas de realización se proveen compuestos conectores que comprenden por lo menos un grupo polar y un grupo enzimáticamente escindible que comprende por lo menos dos aminoácidos.

Unidad conectora

[0143] En algunas formas de realización, la unidad conectora tiene una de las siguientes estructuras (i) o (ii):



(i)



(ii) ,

donde:

α— es un sitio de unión a un grupo enzimáticamente escindible;

β— es un sitio de unión al por lo menos un grupo polar;

δ— es H, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a un grupo conector unido a por lo menos una de las unidades de fármaco;

cada R^a es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

cada R^b es independientemente halo, C_1-$_6$ alquilo, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a por lo menos uno de los grupos polares;

x es 0, 1, 2, 3 o 4;

y es 0, 1, 2 o 3;

R^c es un enlace, -C(O)-, -S(O)-, -SO_2-, C_1-$_6$ alquileno, C_1-$_6$ alquinileno, triazolilo, o combinaciones de los mismos; y

Y es un enlace, -O-, -S-, -N(R^a)-, -C(O)-, -S(O)-, -SO_2-C_1-C_6 alquileno, C_1-C_6 alquenileno, C_1-C_6 alquinileno, un grupo que contiene triazolilo, o combinaciones de los mismos.

[0144] En algunas formas de realización, la unidad conectora tiene entre 1 y 4 sitios de unión para una unidad de fármaco. En algunas formas de realización, la unidad conectora tiene entre 1 y 3 o entre 1 y 2 sitios de unión para una unidad de fármaco (D).

[0145] En algunas formas de realización, una unidad conectora incluye por lo menos un grupo polar, como por ejemplo una unidad Polímero. En algunas formas de realización, el grupo polar incluye por lo menos una unidad Polímero y opcionalmente una unidad sacárido y/o unidad carboxilo o combinaciones de los mismos. En algunas formas de realización, la unidad Polímero comprende una poliamida, un poliéter, o una combinación de los mismos, donde el poliéter comprende un grupo hidroxilo, un grupo polihidroxilo, un grupo sacárido, un grupo carboxilo, o combinaciones de los mismos.

[146] En algunas formas de realización, la unidad conectora es una subunidad de un conector

escindible. Tal como se usa en la presente, el término “escindible” se refiere a un proceso o reacción metabólico dentro de una célula o en el entorno extracelular, con lo cual se rompe la unión covalente entre una unidad de fármaco (por ejemplo, un agente citotóxico) y la unidad conectora o una porción de la misma, dando como resultado una unidad de fármaco libre, o un metabolito de la unidad de conector-fármaco, disociada del resto de la unidad conectora.

[147] En algunas formas de realización, la unidad conectora incluye una subunidad de un conector escindible por proteasas. En algunas formas de realización, la unidad conectora es un conector escindible por proteasas que es escindible en condiciones intracelulares, de manera tal que la escisión de la unidad conectora, o dentro de la misma, libera la unidad de fármaco de la unidad conectora o del resto de la unidad conectora en entorno intracelular. Por ejemplo, en algunas formas de realización, la unidad conectora se puede clivar mediante un agente de escisión que está presente en el entorno intracelular (por ejemplo, dentro de un lisosoma o endosoma o cavéola). Tal como se usa en la presente, los términos “escindible en condiciones intracelulares”, "escindido intracelularmente” y "escisión intracelular" se refieren a un proceso o reacción metabólico dentro de una célula, con lo cual se rompe la unión covalente entre una unidad de fármaco (por ejemplo, un agente citotóxico) y la unidad conectora o una porción de la misma, dando como resultado la unidad de fármaco libre, o un metabolito de la unidad conectora-unidad de fármaco disociada del resto de la unidad conectora en el interior de la célula. Una ventaja de usar liberación proteolítica intracelular de la unidad de fármaco es que la actividad de la unidad de fármaco típicamente es atenuada cuando está conjugada y típicamente las estabilidades en suero de los conjugados son altas.

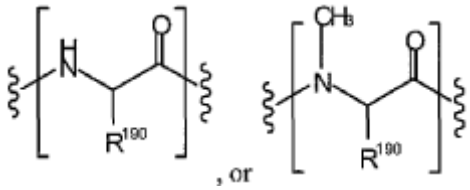
[148] En algunas formas de realización, un enlace entre la unidad conectora y la unidad de fármaco puede ser escindido por medio de escisión enzimática dentro de la unidad conectora mediante una o más enzimas, incluyendo una proteasa asociada a tumores, para liberar la unidad de fármaco. La unidad conectora puede ser, por ejemplo, un conector de peptidilo que es escindido por una peptidasa intracelular o una enzima proteasa, que incluye, pero en un sentido no taxativo, una proteasa lisosómica o endosómica. Una proteasa o agentes de escisión pueden incluir las catepsinas B, C y D y la plasmina, todas las cuales hidrolizan derivados dipeptídicos de los fármacos para dar como resultado la liberación del fármaco activo en el interior de las células diana (véase, por ejemplo, Dubowchik y Walker, 1999, *Pharm*. *Therapeutics* 83: 67-123). Los conectores de peptidilo pueden ser escindibles por enzimas que están presentes en las células diana que expresan el antígeno. Por ejemplo, se puede usar una unidad conectora que es escindible por la proteasa dependiente de tiol, catepsina-B, de gran expresión en tejidos cancerosos (por ejemplo, que tiene un péptido Phe-Leu, Val-Ala, Val-Cit o Gly-Phe-Leu-Gly).

[149] Típicamente, una unidad conectora tiene por lo menos un aminoácido o por lo menos dos aminoácidos que forman un sitio de reconocimiento para una proteasa u otro agente de escisión. En determinadas formas de realización, la unidad conectora tiene un dipéptido,

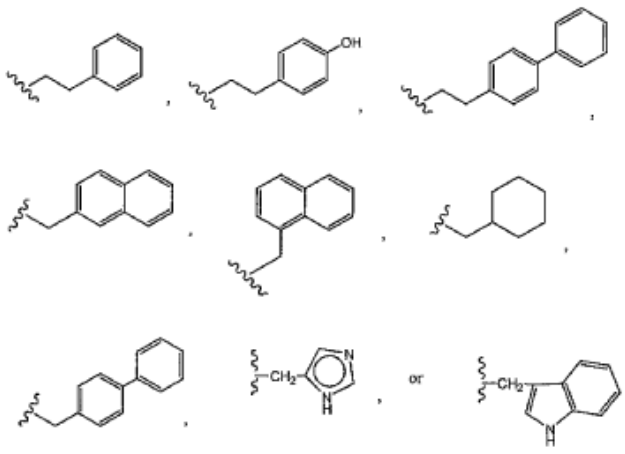
tripéptido, tetrapéptido o pentapéptido. En determinadas formas de realización, una unidad conectora puede comprenden solamente aminoácidos naturales. En algunas formas de realización, una unidad conectora, por ejemplo, puede tener un péptido Phe-Leu, Val-Ala o Val-Cit que está unido a un grupo PABA de la estructura (i) o (ii). Otras de dichas unidades conectoras escindibles se describen, por ejemplo, en la Patente de los EEUU N°: 6.214.345, WO 2004/010957, US 20150297748, US 2008/0166363, US 20120328564 y US 20200347075, cada una de las cuales e incorpora en la presente a modo de referencia. En algunas formas de realización, una unidad conectora que es escindible por una proteasa intracelular comprende un péptido Val-Cit o un péptido Phe-Lys o un conector Gly-Gly-Phe-Gly (véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente de los EEUU N°: 2015/0297748).

[150] En algunas formas de realización, una unidad conectora contiene uno o más de los siguientes: glicina y/o L-aminoácidos, tales como arginina, glutamina, fenilalanina, tirosina, triptofano, lisina, alanina, histidina, serina, prolina, ácido glutámico, ácido aspártico, treonina, cisteína, metionina, leucina, asparagina, isoleucina y valina, que forman un sitio de reconocimiento y escisión para una proteasa u otra enzima de escisión.

[151] En algunas formas de realización, un aminoácido de una unidad conectora presenta la fórmula indicada a continuación entre corchetes:



en donde R_{190} es hidrógeno, metilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, bencilo, p-hidroxibencilo, -CH_2OH, -$CH(OH)CH_3$, -$CH_2CH_2SCH_3$, -CH_2CONH_2, -CH_2COOH -$CH_2CH_2CONH_2$, -CH_2CH_2COOH, -$(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, -$(CH_2)_3NH_2$, -$(CH_2)_3NHCOCH_3$, -$(CH_2)_3NHCHO$, -$(CH_2)_4NHC(=NH)NH_2$, -$(CH_2)_4NH_2$, -$(CH_2)_4NHCOCH_3$, -$(CH_2)_4NHCHO$, -$(CH_2)_3NHCONH_2$, -$(CH_2)_4NHCONH_2$, -$CH_2CH_2CH(OH)CH_2NH_2$, 2-piridilmetilo-, 3-piridilmetilo-, 4-piridilmetilo-, fenilo, ciclohexilo,



[152] En algunas formas de realización, una unidad conectora incluye uno o más de los siguientes L-aminoácidos (naturales): alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, histidina,

glicina, ácido glutámico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, serina, tirosina, treonina, isoleucina, triptofano y valina. En algunas formas de realización, una unidad conectora no contiene cisteína. En algunas formas de realización, un conector de peptidilo no contiene prolina.

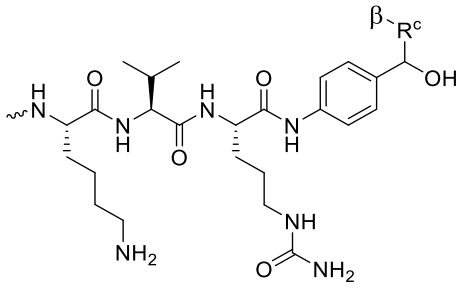
[153] En algunas formas de realización, una unidad conectora incluye uno o más de los siguientes aminoácidos: alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, histidina, glicina, ácido glutámico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, serina, tirosina, treonina, isoleucina, prolina, triptofano, valina, ornitina, penicilamina, β-alanina, ácido aminoalcanoico, ácido aminoalquinoico, ácido amino alcandioico, ácido aminobenzoico, ácido amino-heterociclo-alcanoico, ácido heterociclo-carboxílico, citrulina, estatina, ácido diaminoalcanoico y derivados de los mismos.

[154] En algunas formas de realización, una unidad conectora incluye un conector escindible por proteasas que comprende un espaciador o extensor de maleimidocaproilo tiol reactivo, un aminoácido o un péptido y un grupo autodestructivo. En algunas formas de realización, una unidad conectora incluye un conector escindible por proteasas que comprende un espaciador de maleimidocaproilo tiol reactivo, un dipéptido de valina-citrulina y un grupo autodestructivo de p-amino-benciloxicarbonilo.

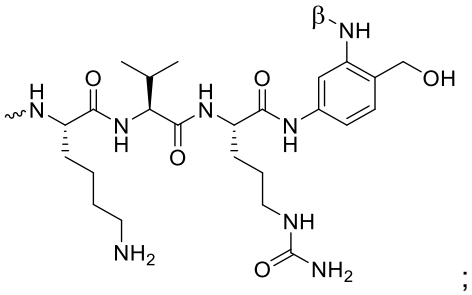
[155] En algunas formas de realización, una unidad conectora incluye una unidad autoestabilizante que comprende un grupo maleimida como se describe en WO 2013/173337.

[156] En algunas formas de realización, la unidad conectora incluye una unidad glucurónido escindible, véase, por ejemplo, US 2014/0031535.

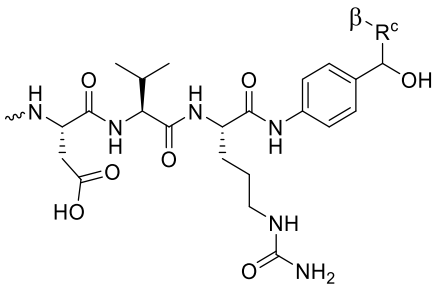
[157] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que presentan una de las siguiente estructuras:



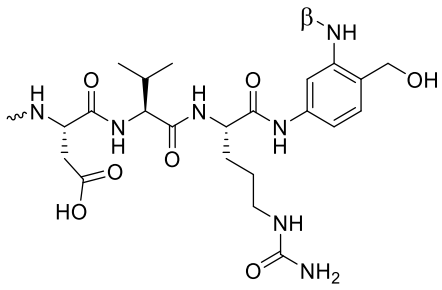
;



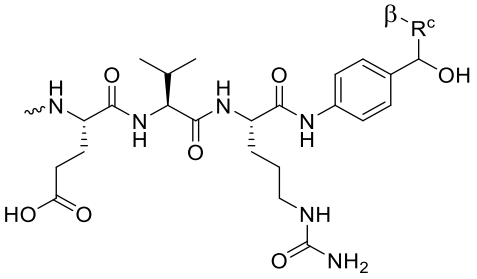
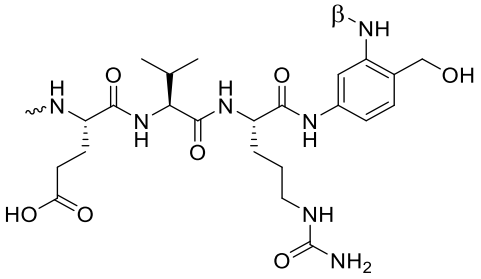
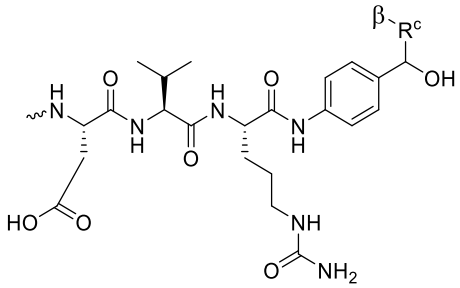
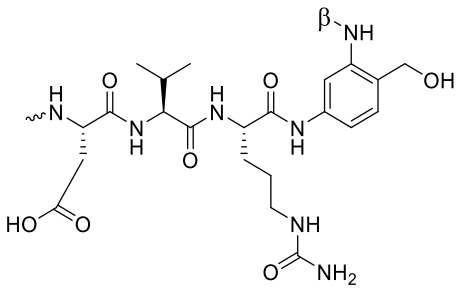
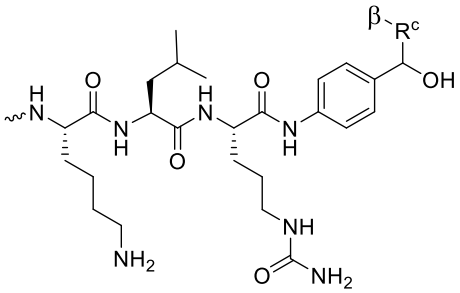
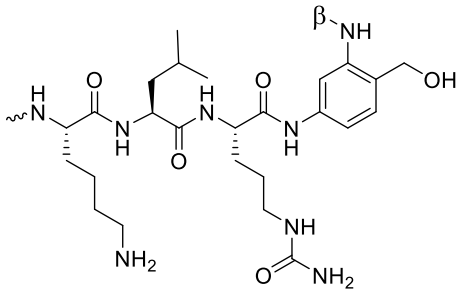
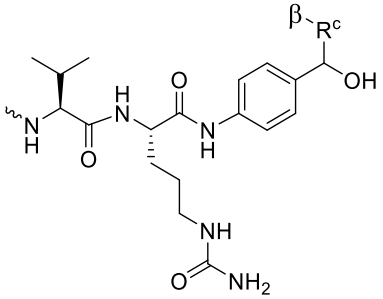
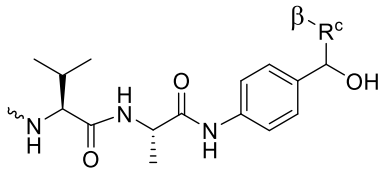
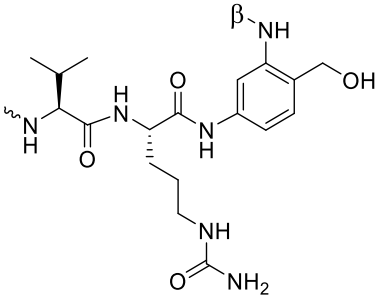
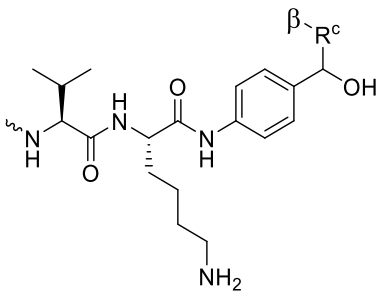
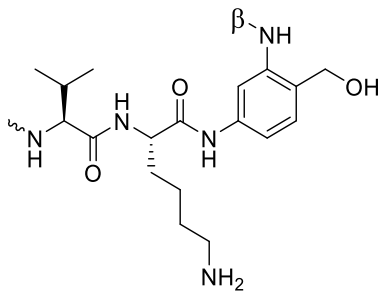
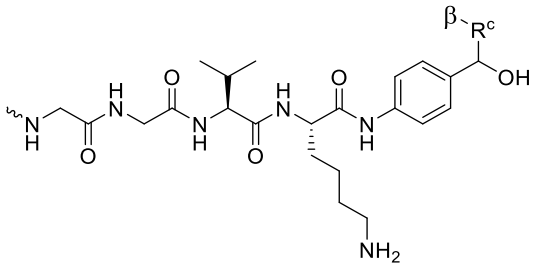
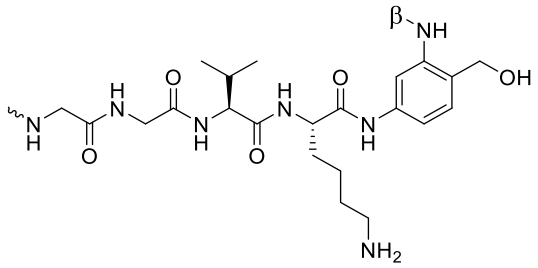
;

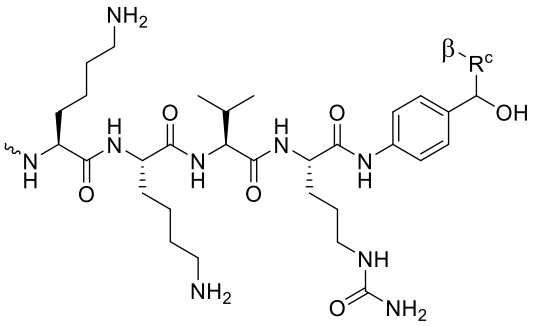
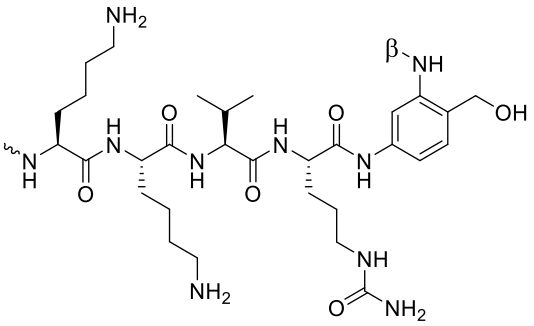
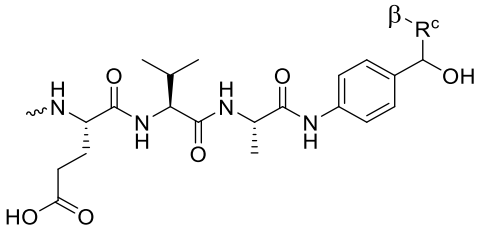
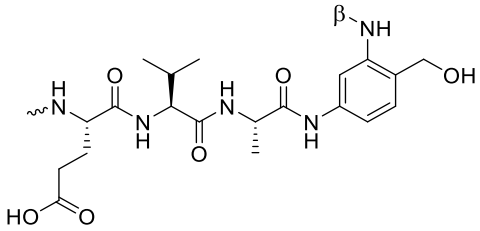
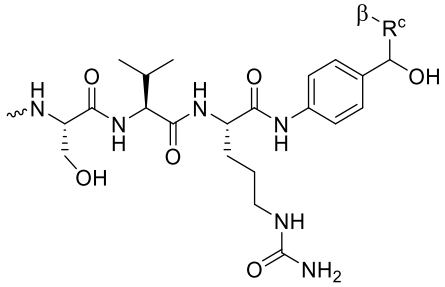
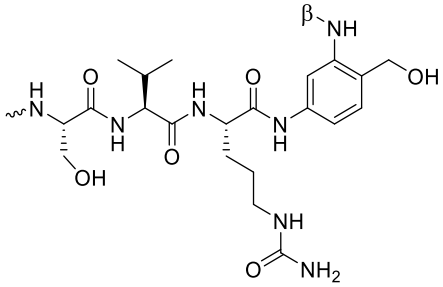
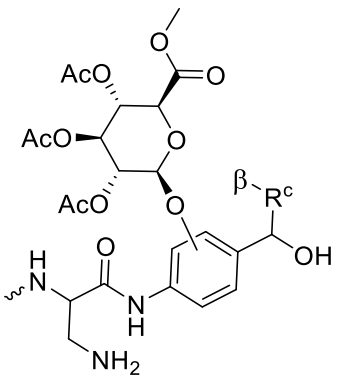
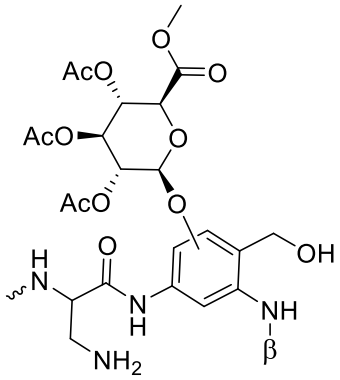
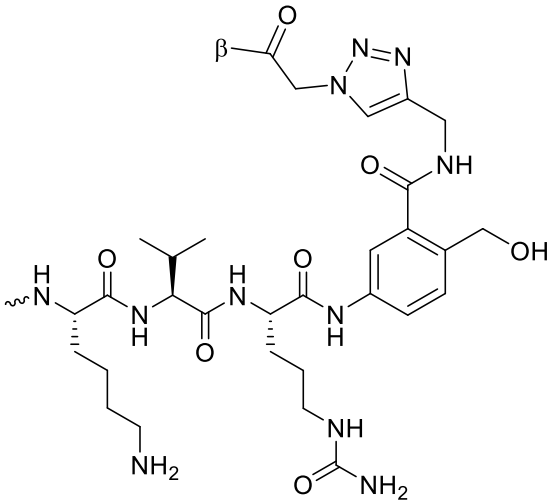
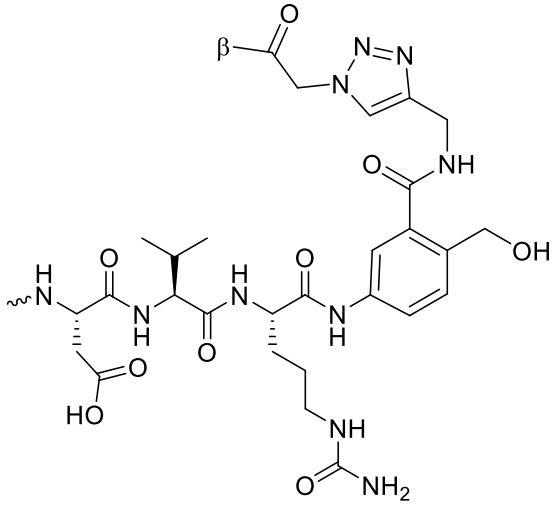


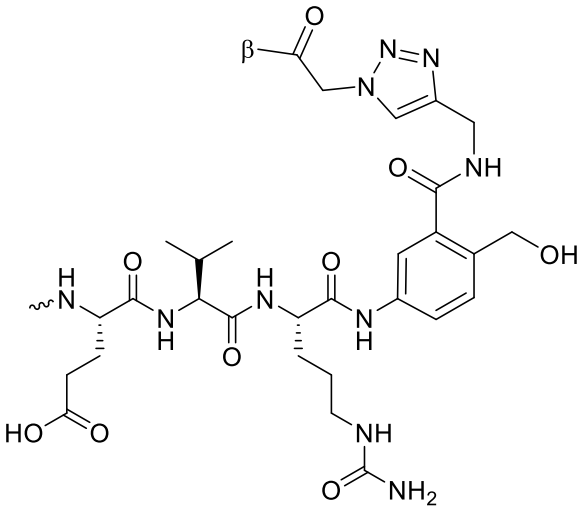
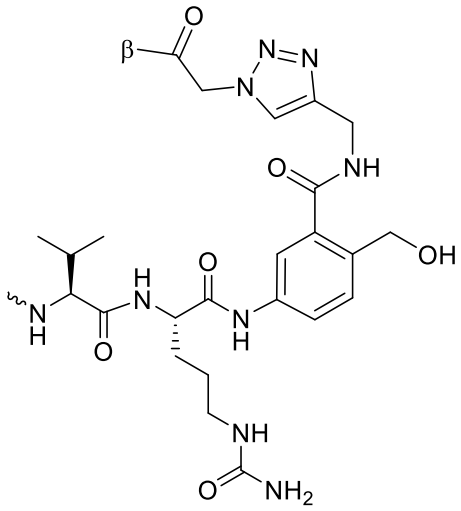
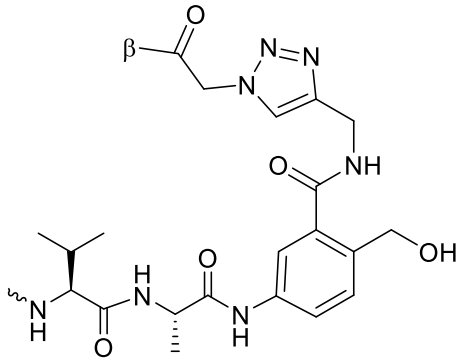
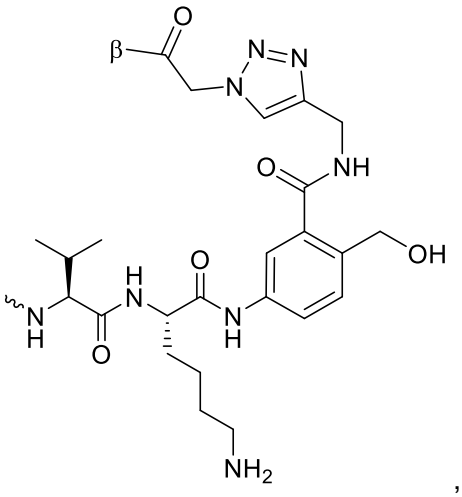
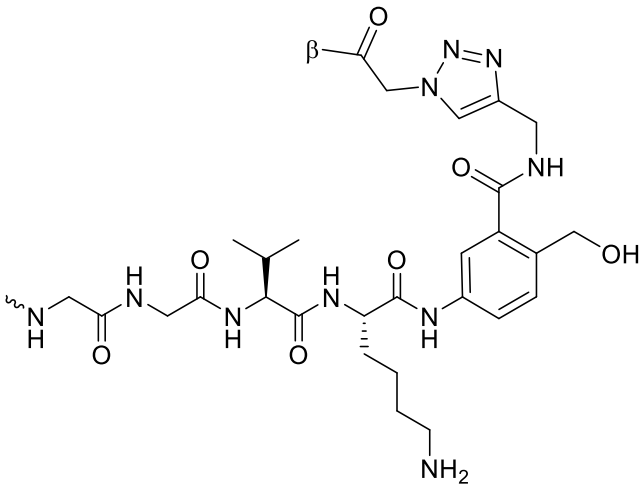
;

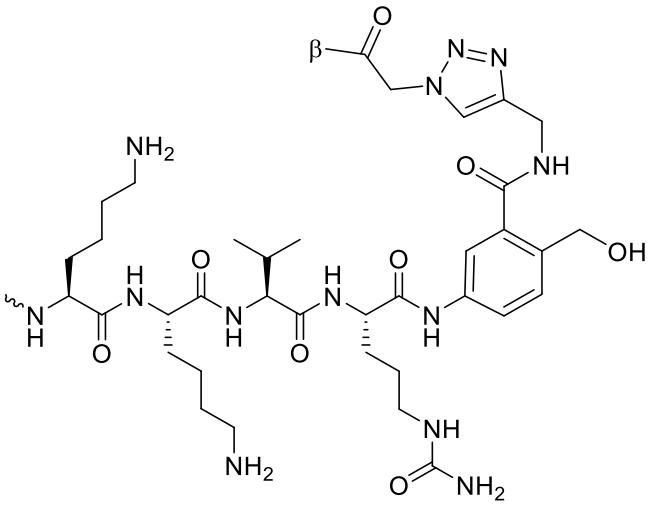


;

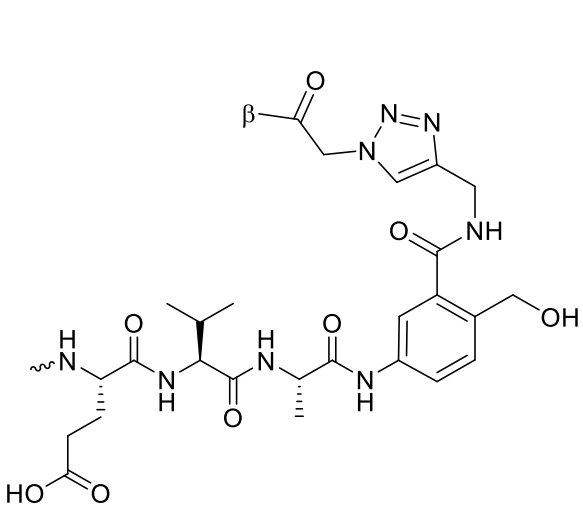

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;


;

;

;

;

;

;

o

,

,

,

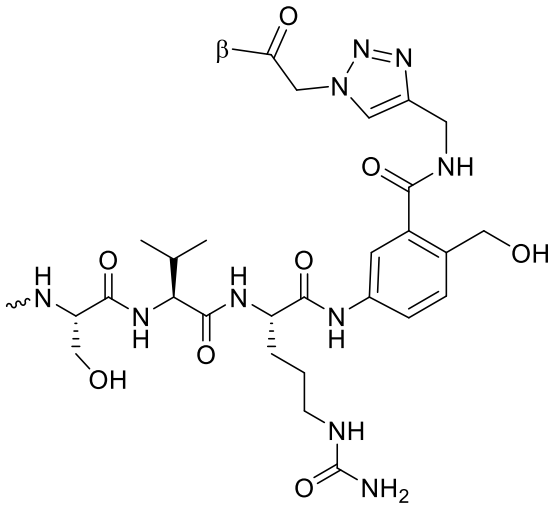

,

,

,

,

,



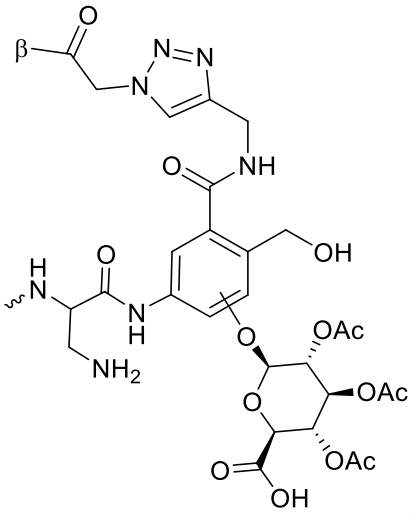
,



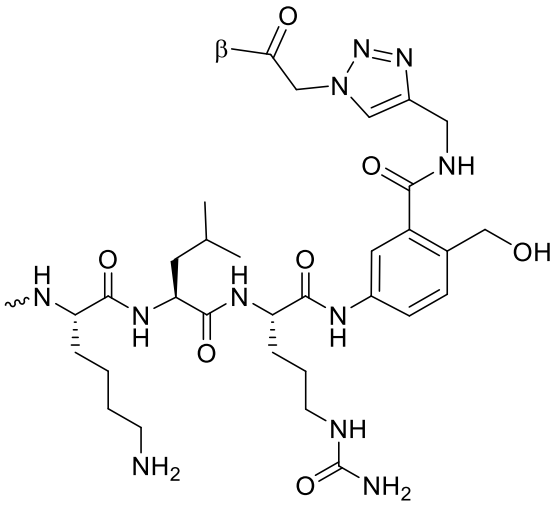
,



,



,



,

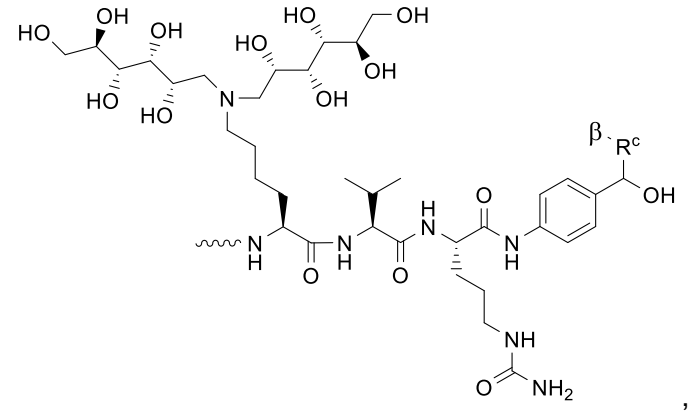
en donde: R^c es un enlace o C_{1-6} alquileno; la línea ondeada en el grupo amino indica un sitio de unión para un grupo extensor; o, antes de unirse al grupo extensor, indica H; β— es el sitio de unión a por lo menos un grupo polar; y el H bencílico en el OH bencílico está reemplazado opcionalmente por un enlace a por lo menos una de las unidades de fármaco o al grupo conector unido a por lo menos una de las unidades de fármaco.

[0158] En algunas formas de realización, por lo menos una de las unidades de fármaco está

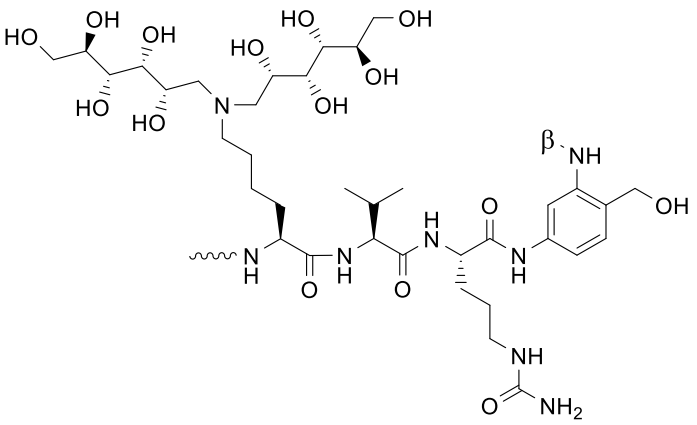
unida directamente al O bencílico en δ. En algunas formas de realización, por lo menos una de las unidades de fármaco está unida directamente por medio de un grupo conector. Un grupo conector puede ser cualquier grupo adecuado para la unión de dicha por lo menos una unidad de fármaco al -O- bencílico que permite la liberación de una unidad de fármaco activa, o la liberación de un derivado activo del grupo conector-unidad de fármaco. En algunas formas de realización, un grupo conector es -NH-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-, la unidad de fármaco es exatecano y la unidad de fármaco liberada es DXd. (Véase., por ejemplo, la publicación de la Solicitud de Patente de los EEUU N°: 2019/000898). En otras formas de realización, el grupo conector es -C(O)-NH-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-.

[159] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores, en donde la unidad conectora es una unidad conectora escindible. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el grupo enzimáticamente escindible comprende un péptido que es escindible mediante una proteasa intracelular. En algunas formas de realización, la proteasa intracelular es Catepsina B. En formas de realización más específicas, el péptido escindible comprende un péptido de valina-citrulina, un péptido de valina-alanina, un péptido de valina-lisina, un péptido de fenilalanina-lisina o un péptido de glicina-glicina-fenilalanina-glicina.

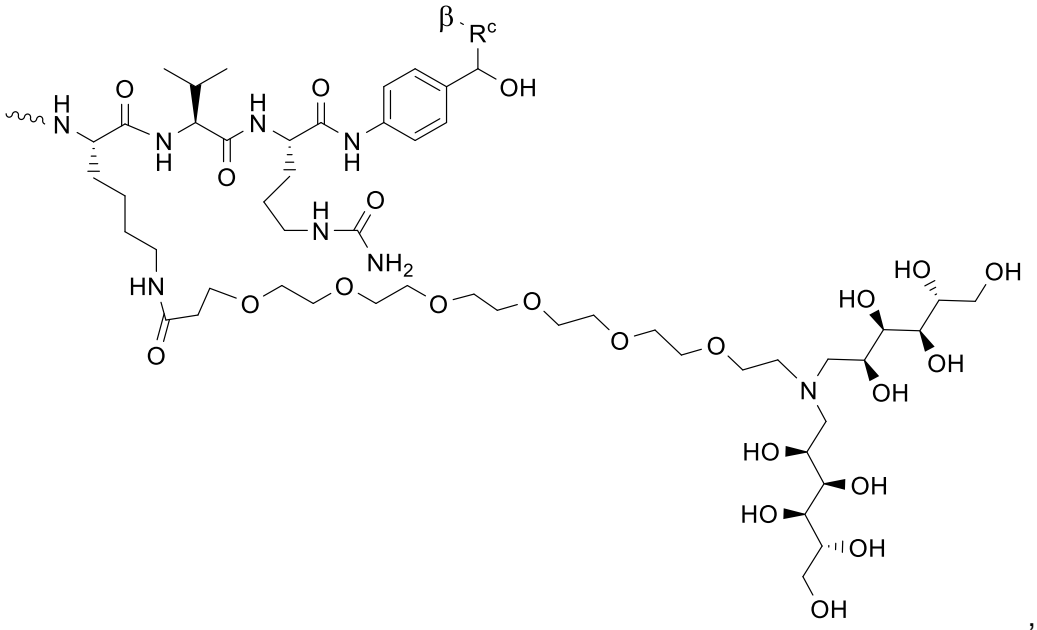
[160] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden una de las siguiente estructuras:



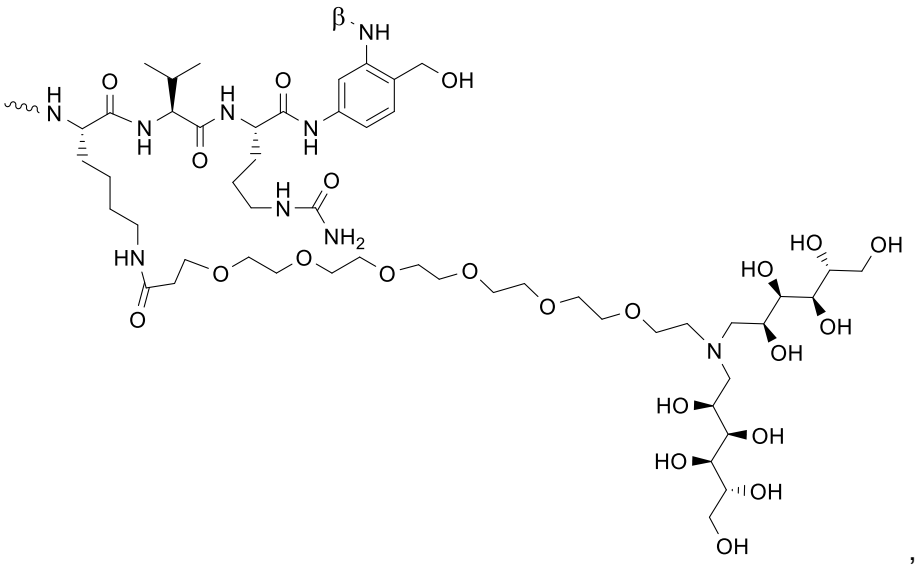
,



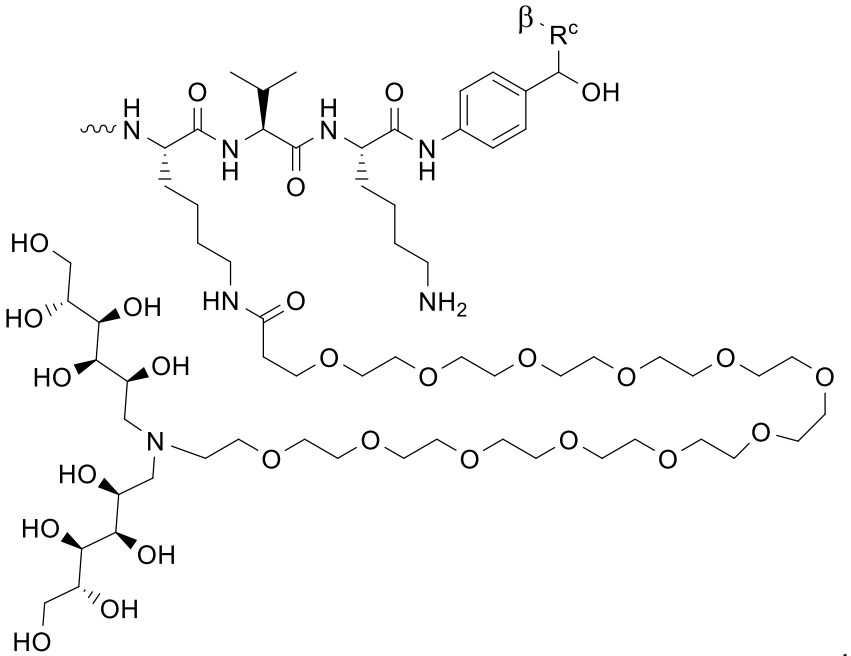
,



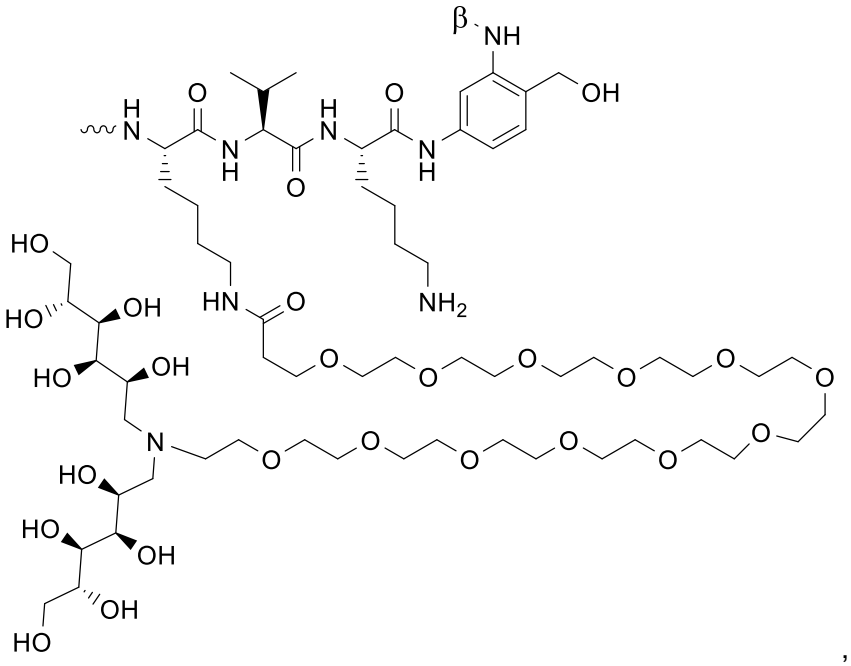
,



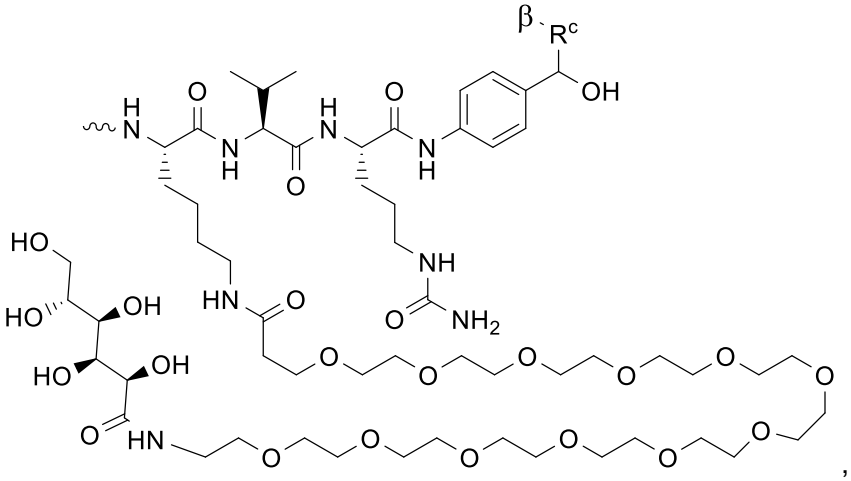
,



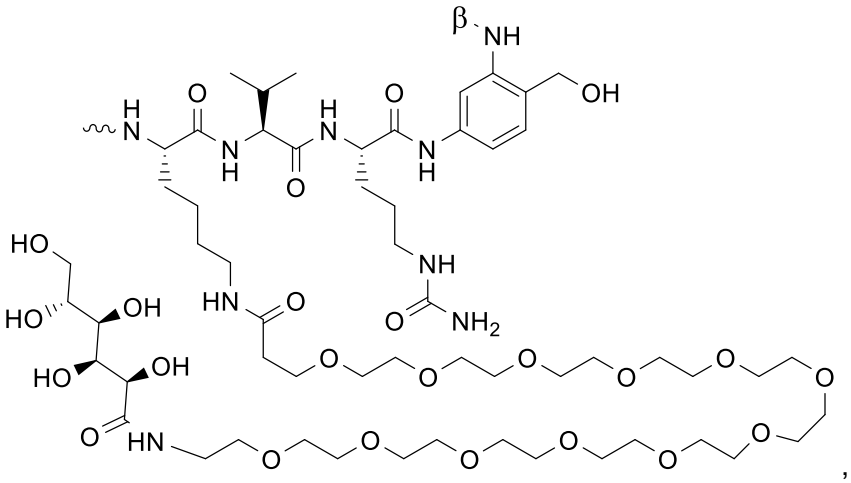
,



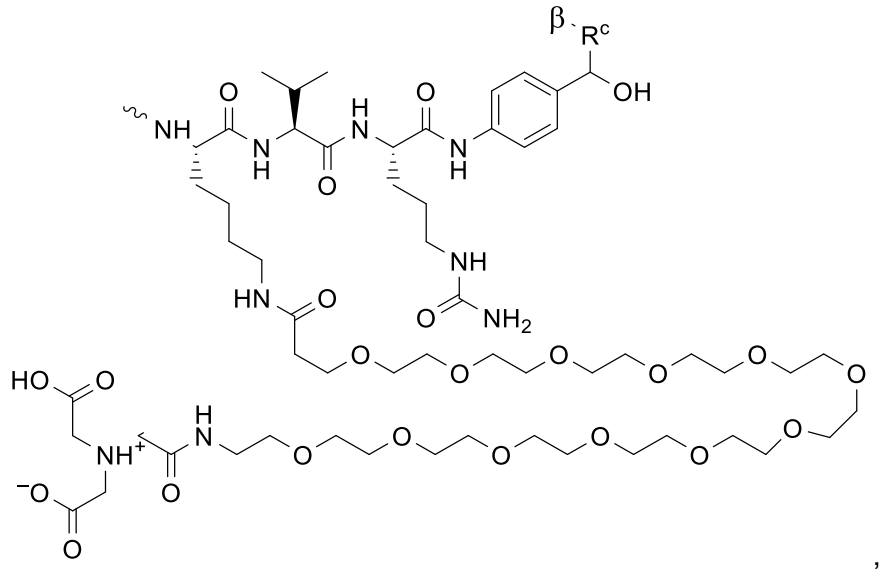
,



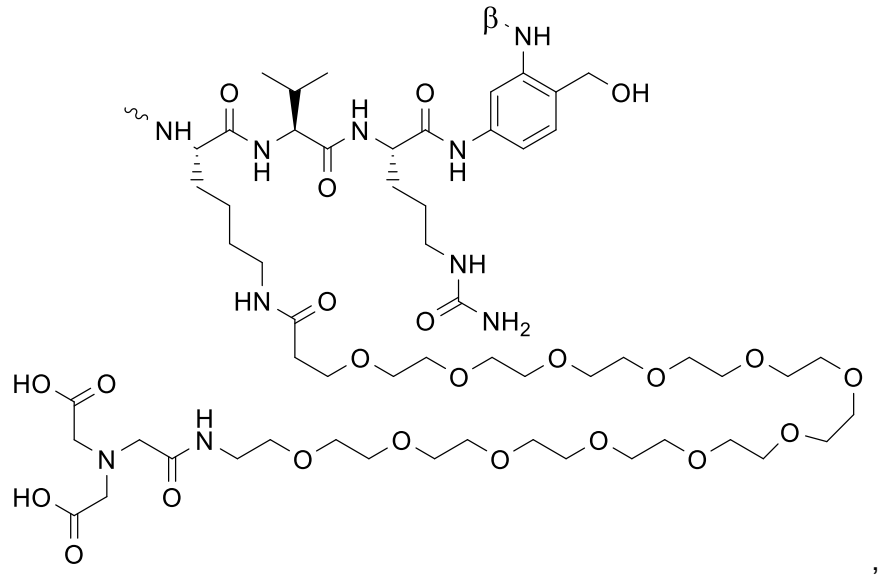
,



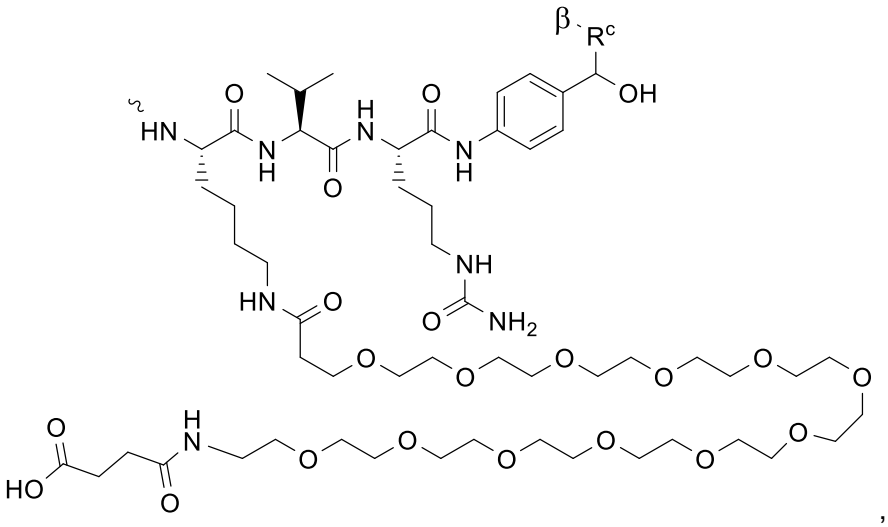
,



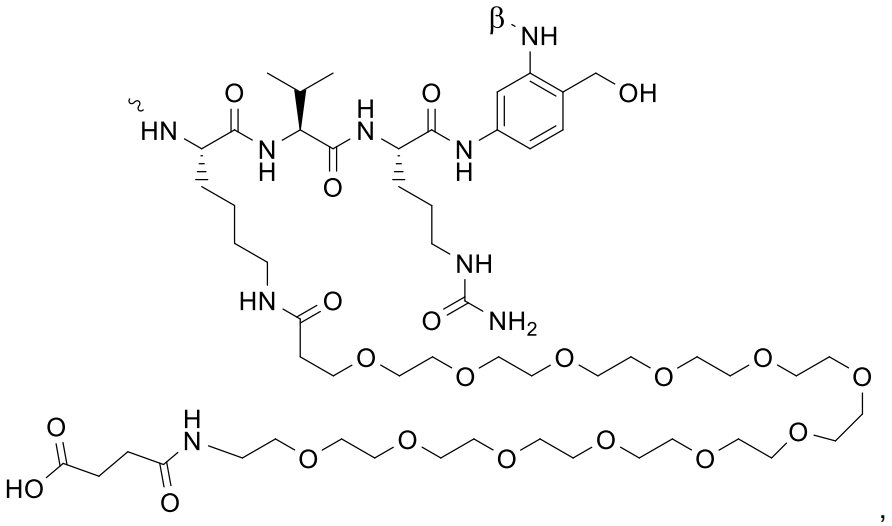
,



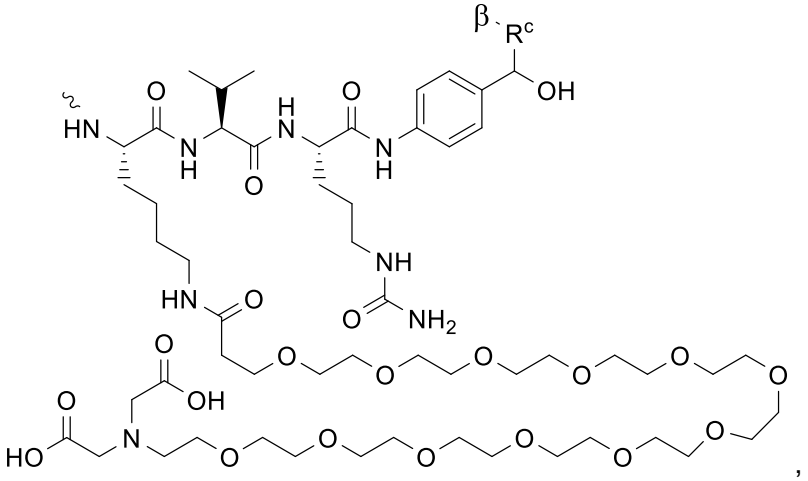
,



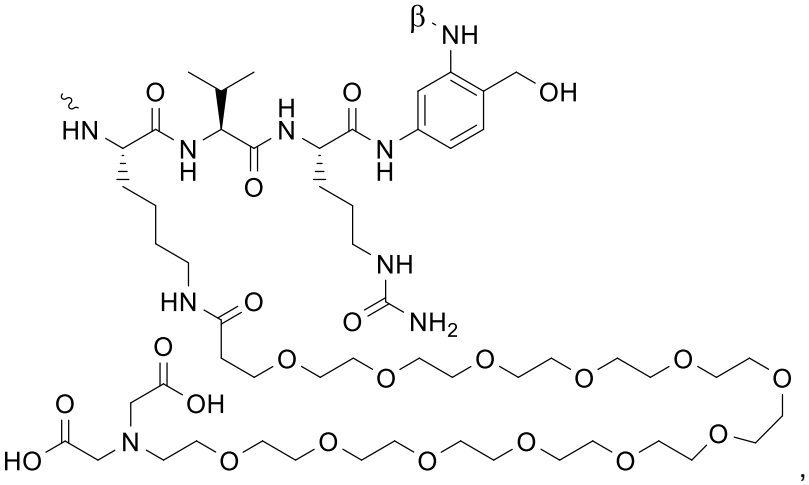
,



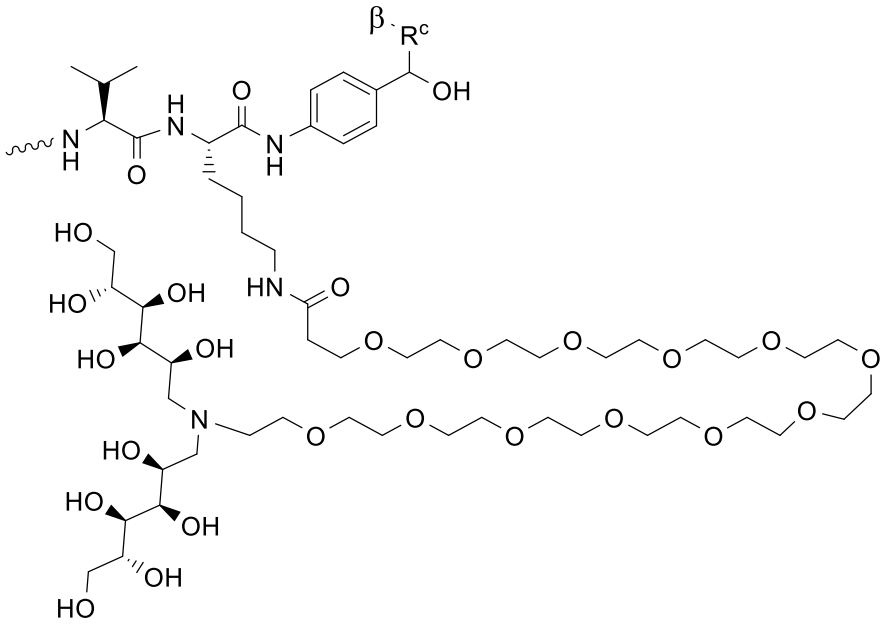
,



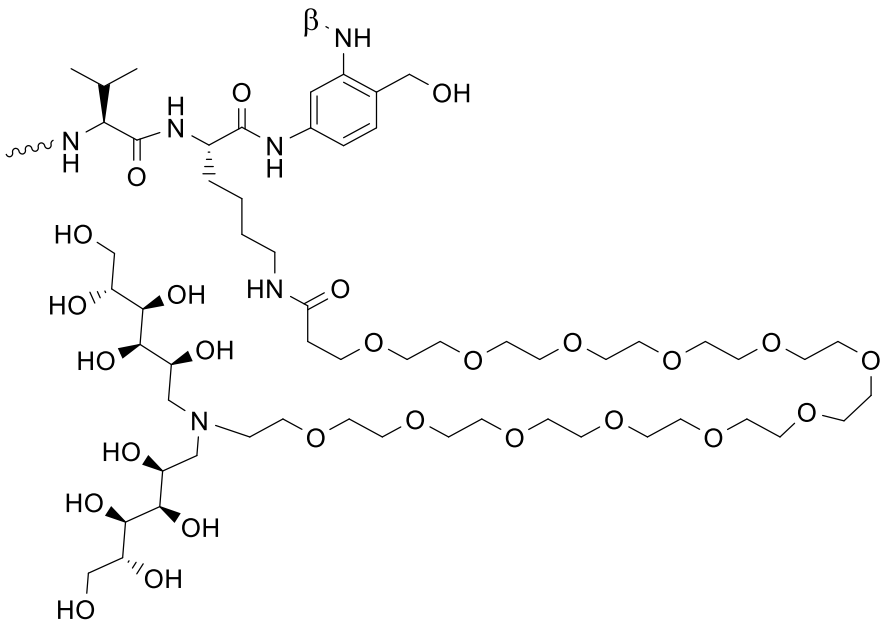
,



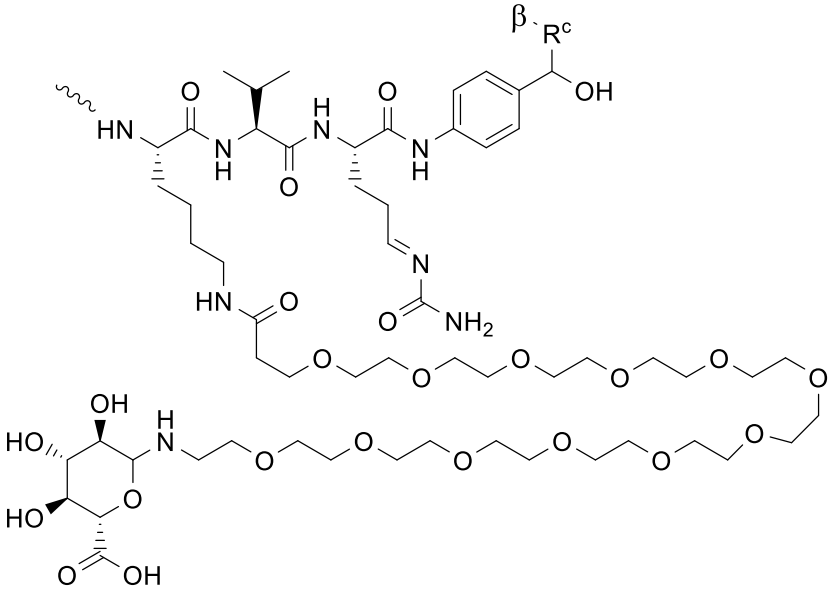
,



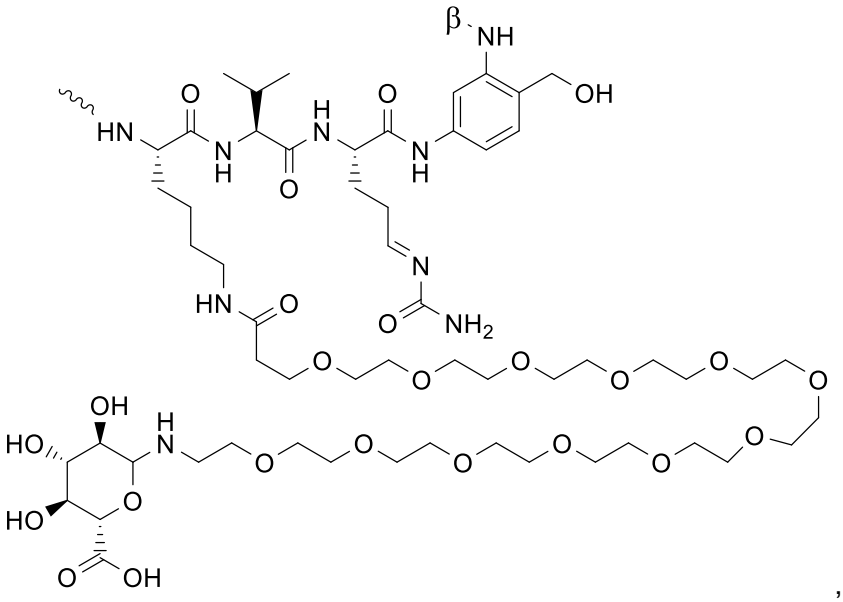
,



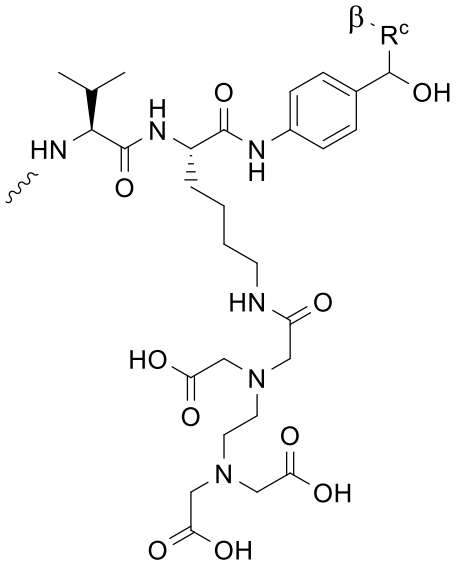
,

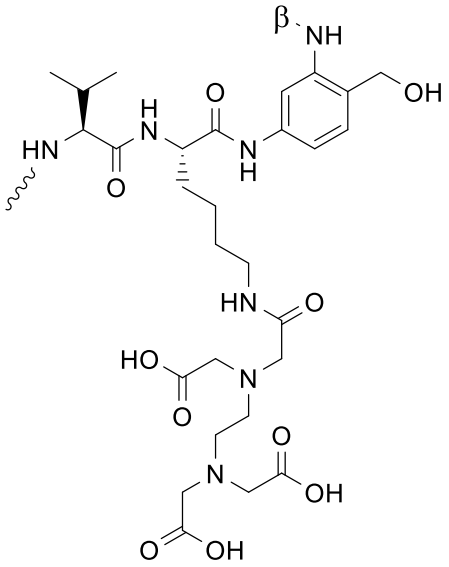


,

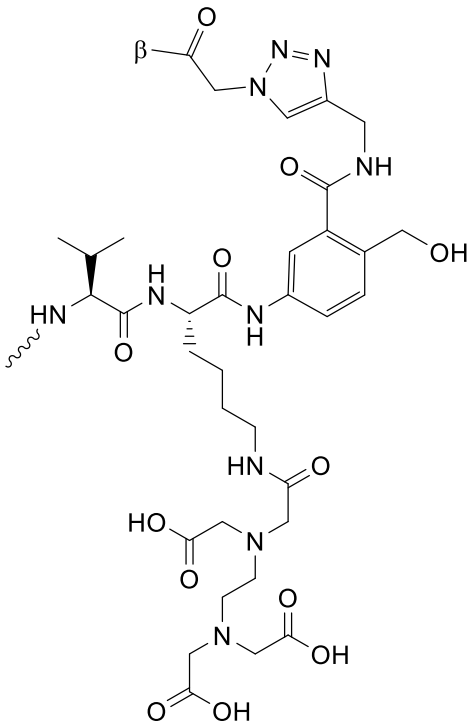


,

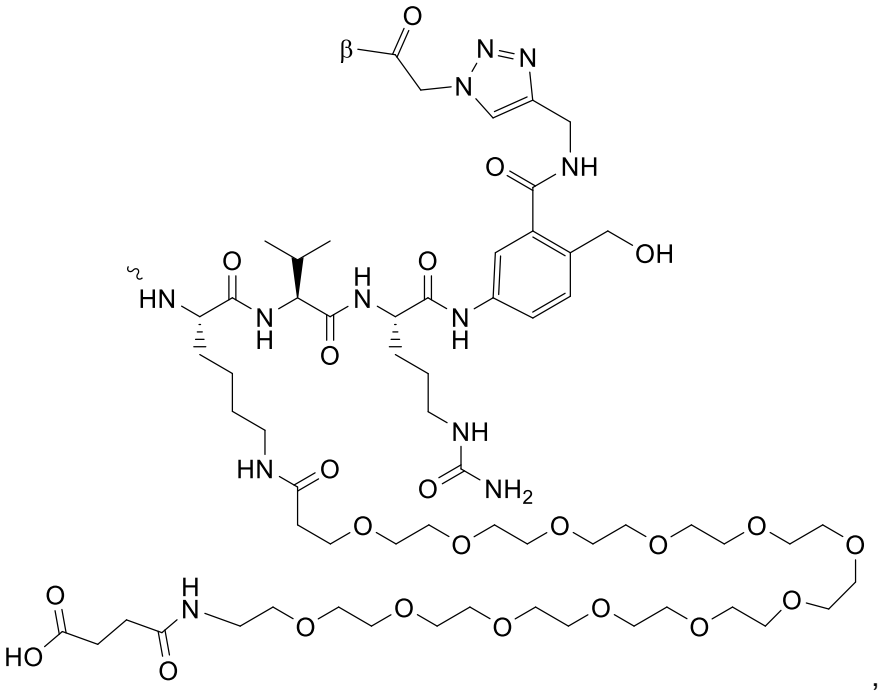




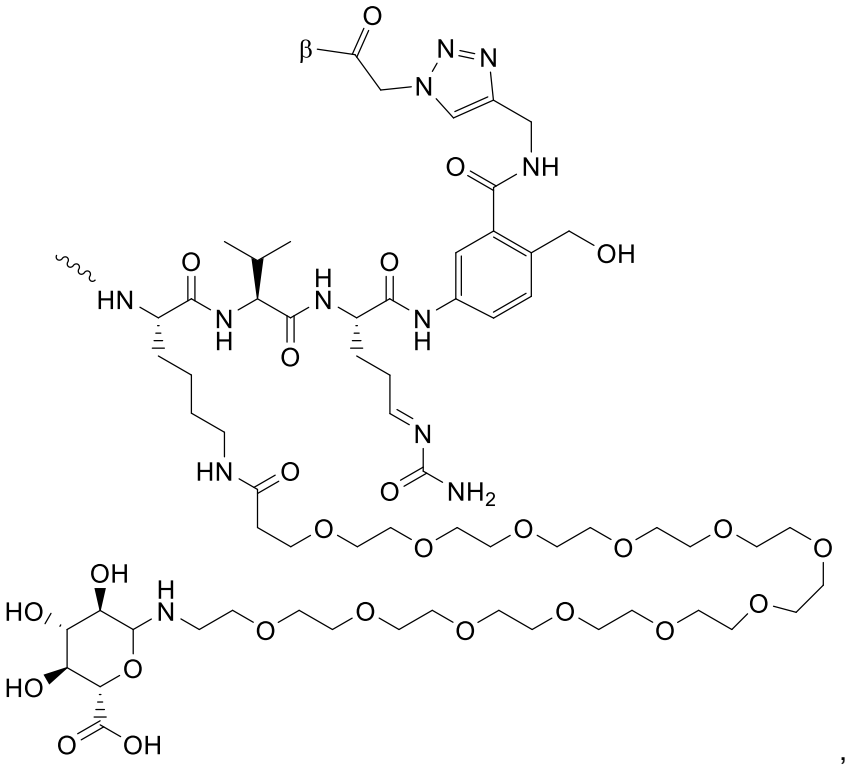
,



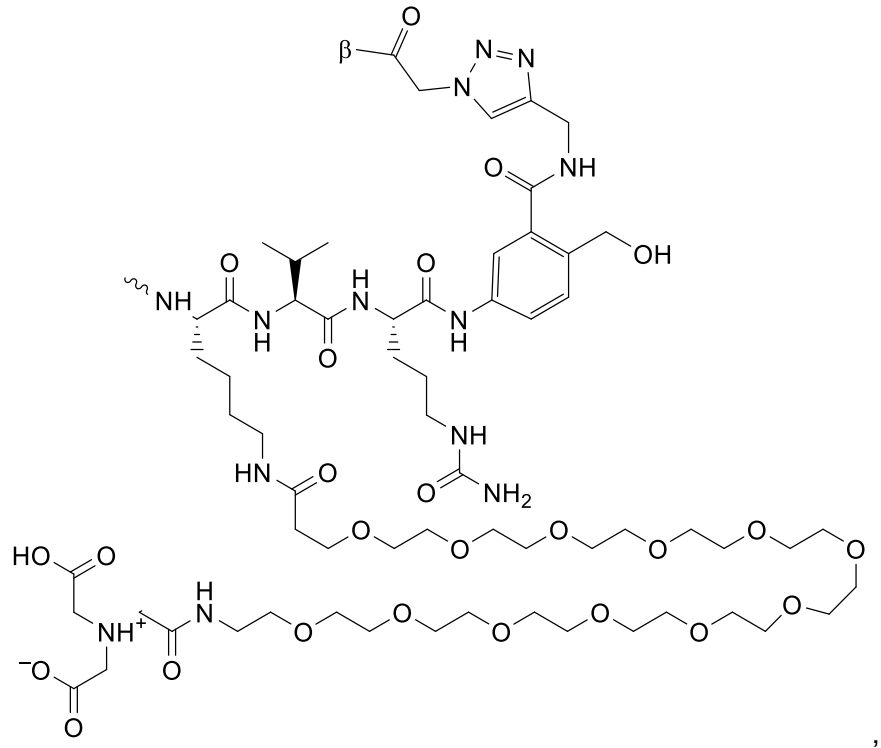
,



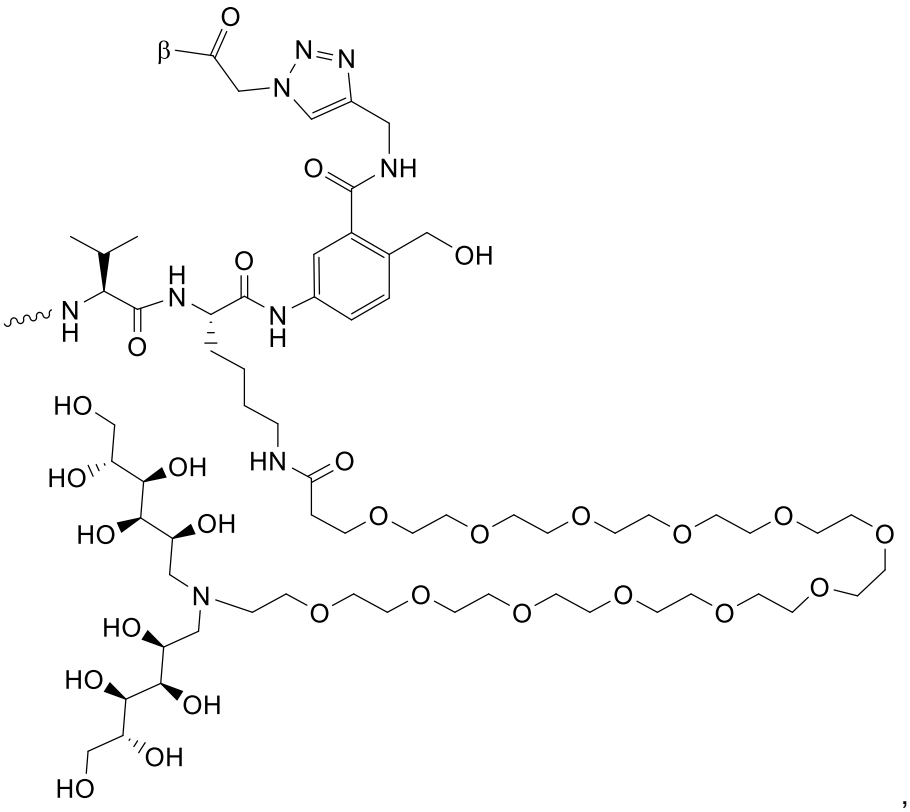
,



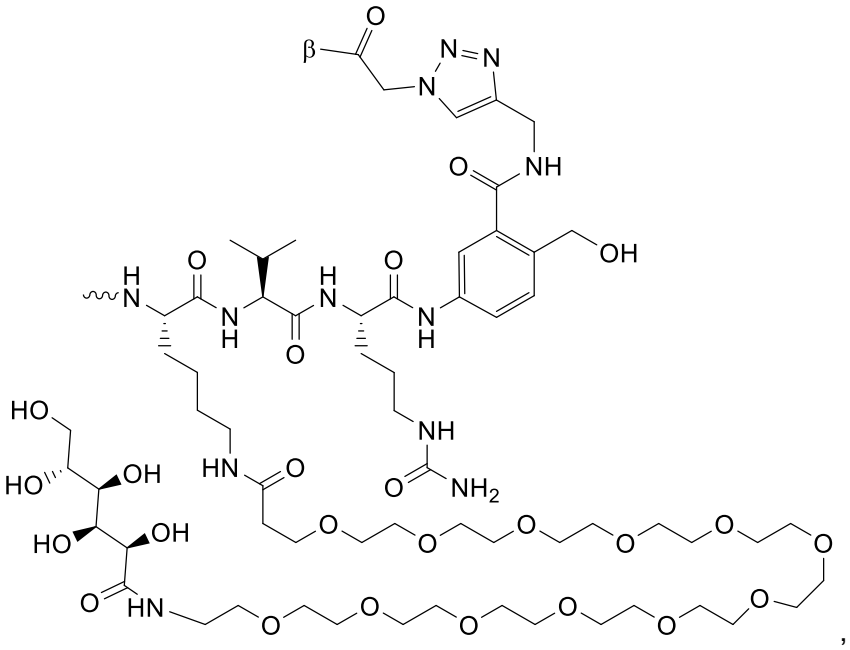
,



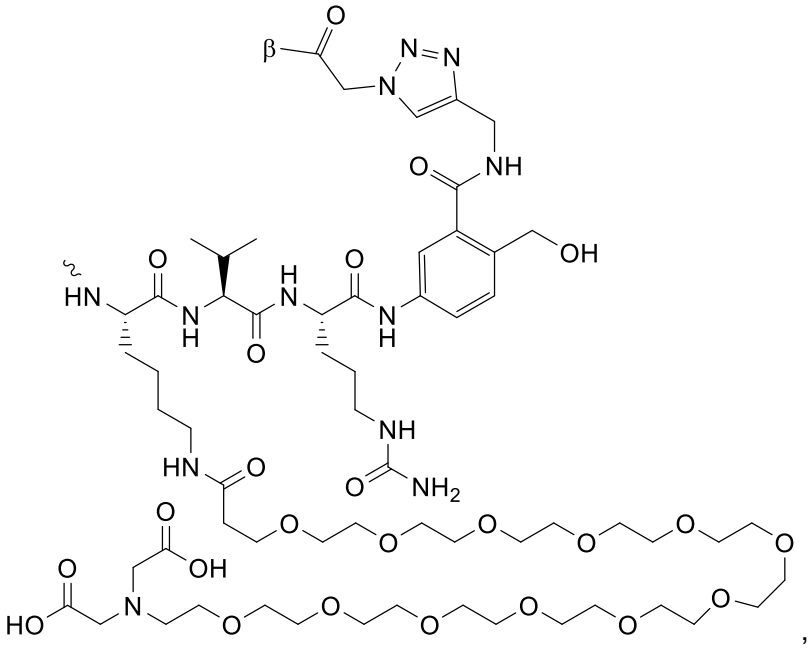
,



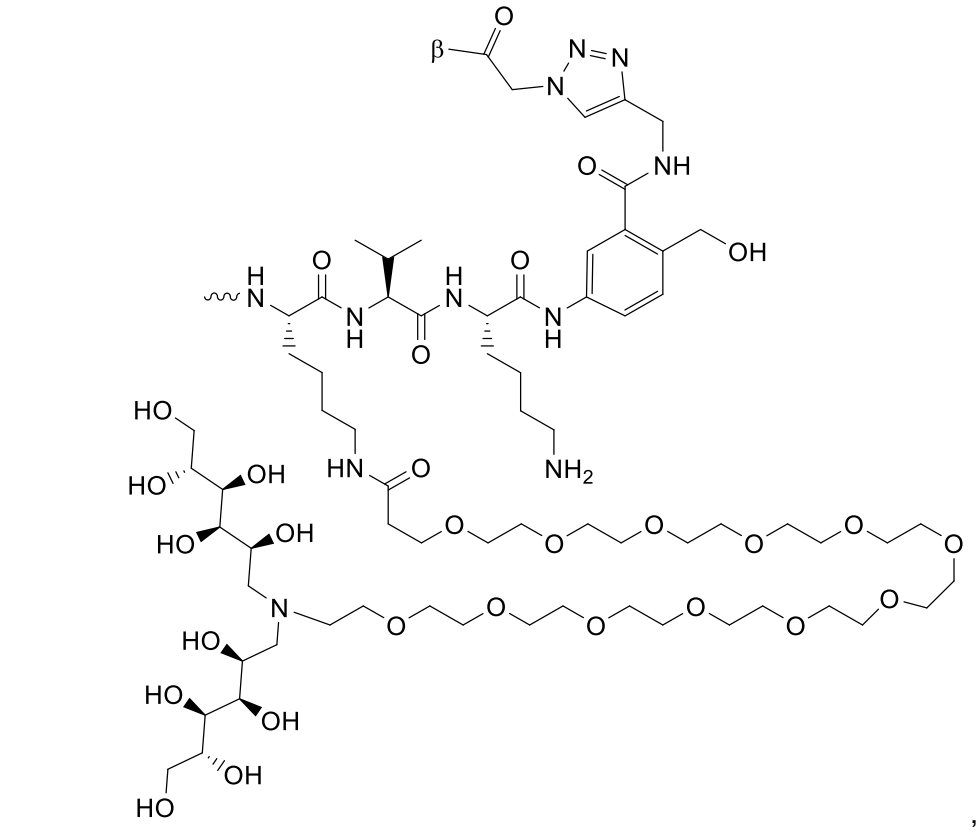
,



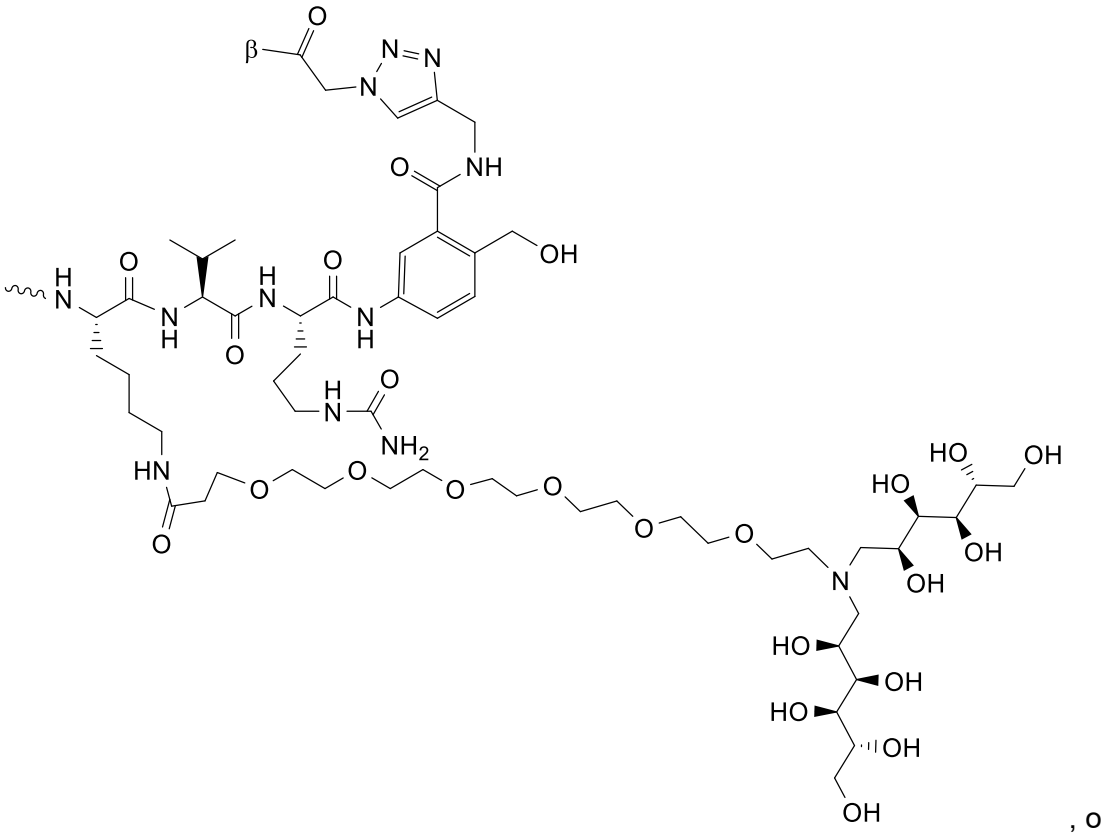
,



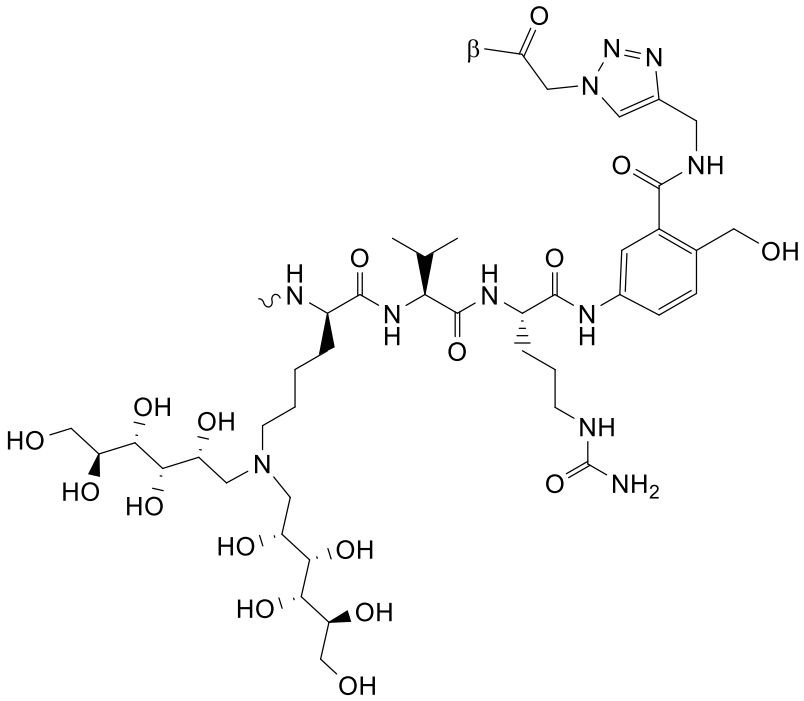
,



,



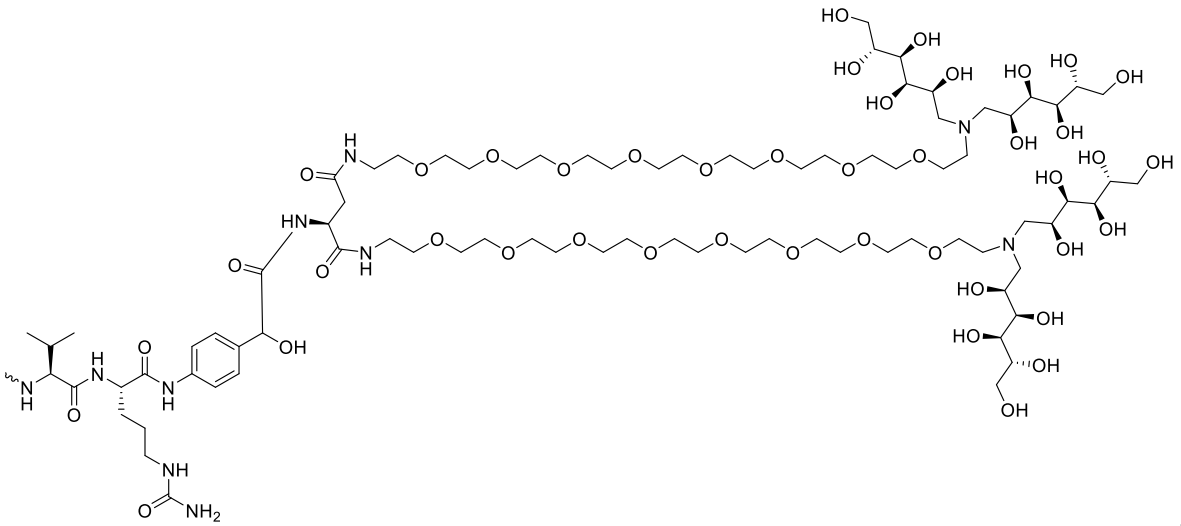
, o



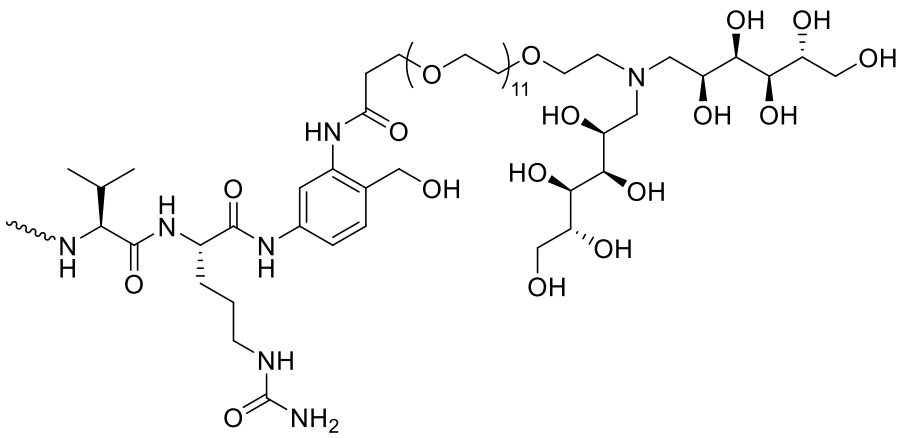
,

en donde: R^c es un enlace o C_{1-6} alquileno; la línea ondeada en el grupo amino indica un sitio de unión para el grupo extensor; o, antes de unirse al grupo extensor, indica H; β— es un sitio de unión a dicho por lo menos un grupo polar; y el H en el OH bencílico está reemplazado opcionalmente por un enlace a por lo menos una de las unidades de fármaco o al sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco.

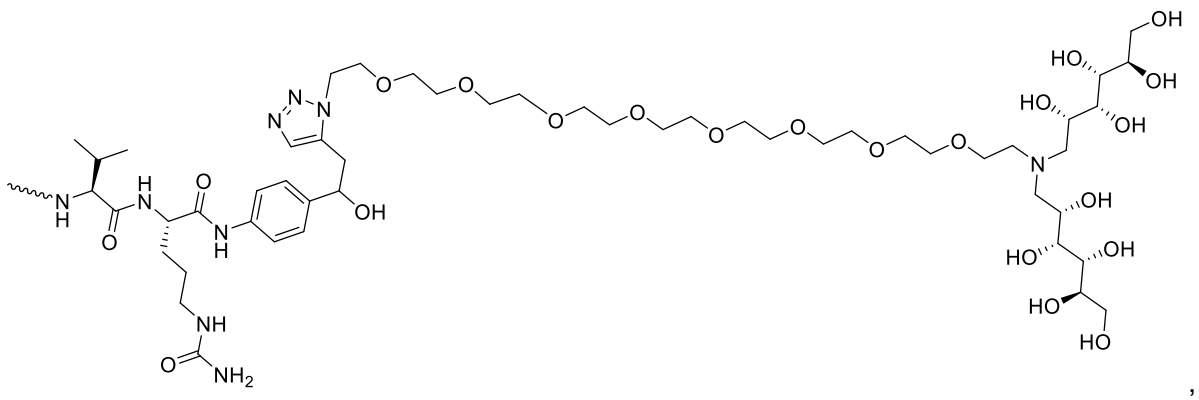
[161] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que presentan una de las siguiente estructuras:



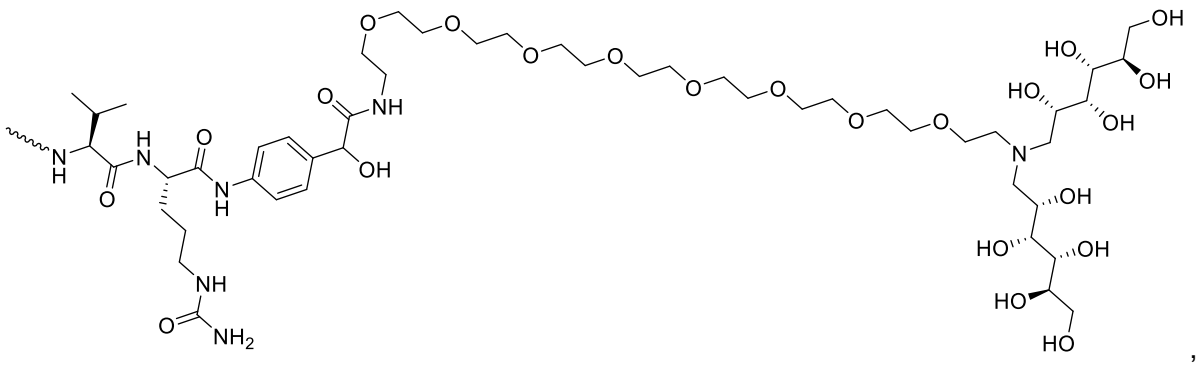
,



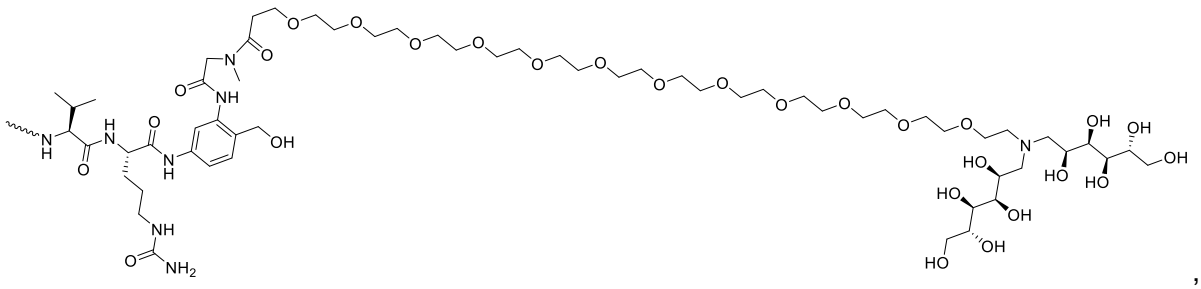
,



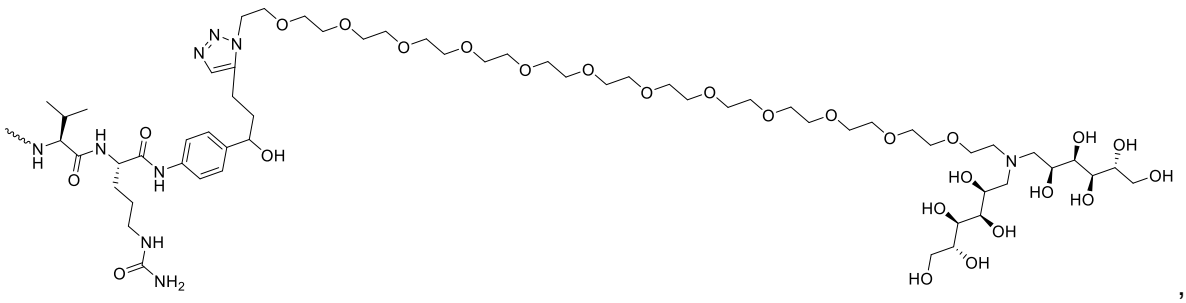
,



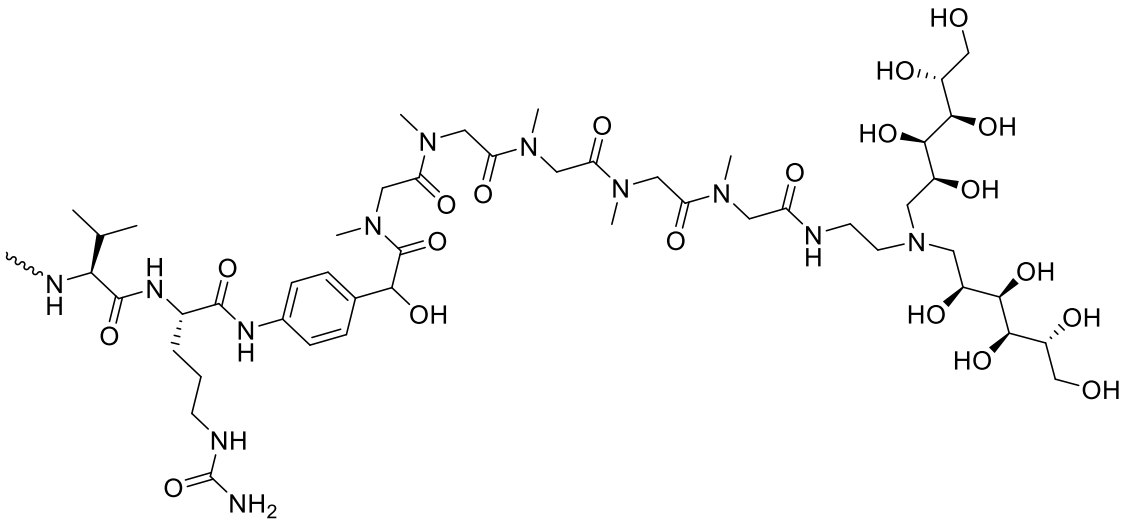
,



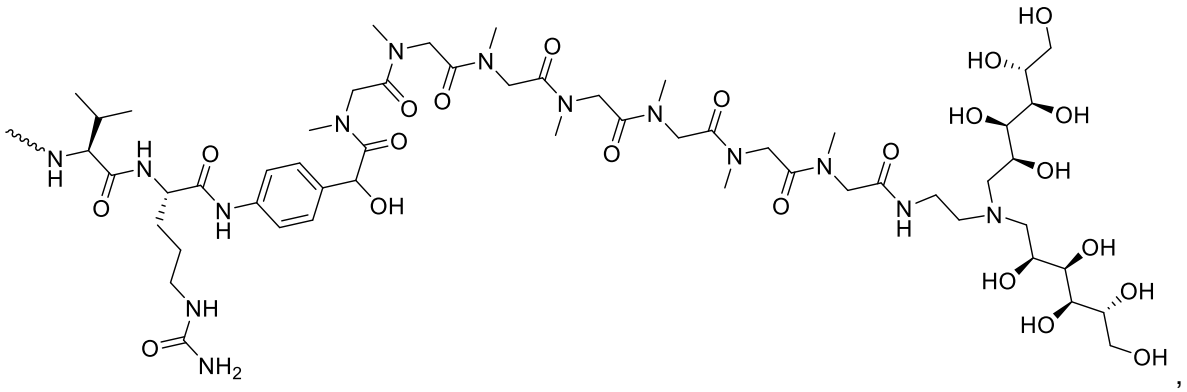
,



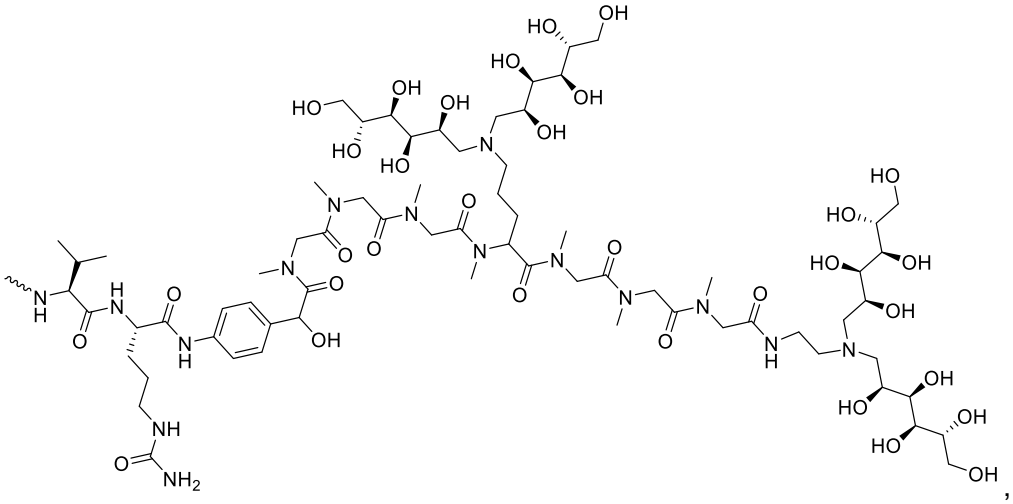
,



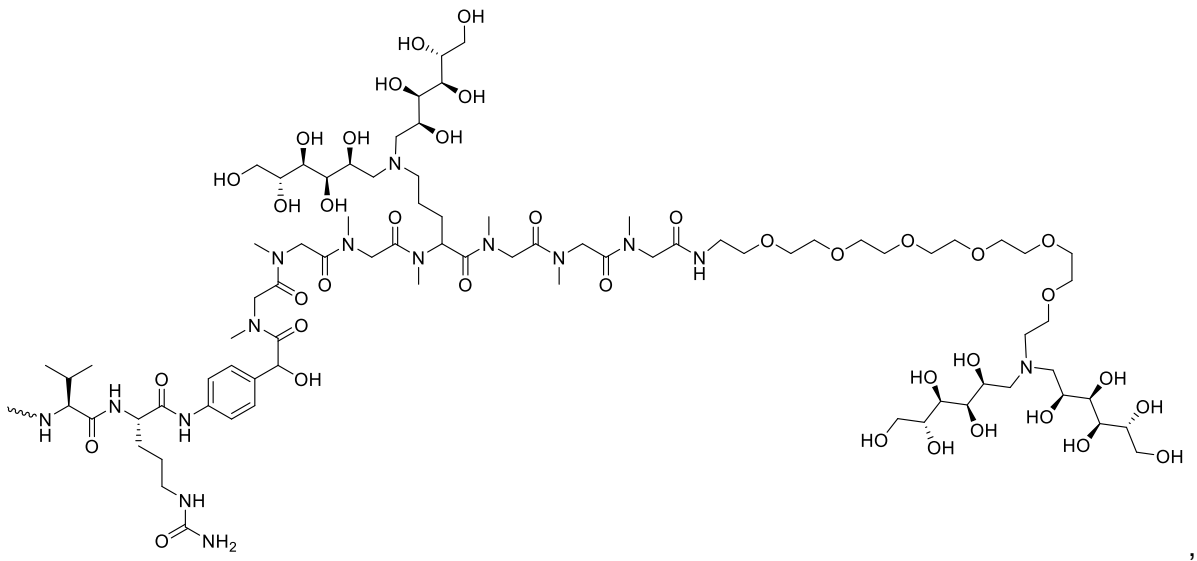
,



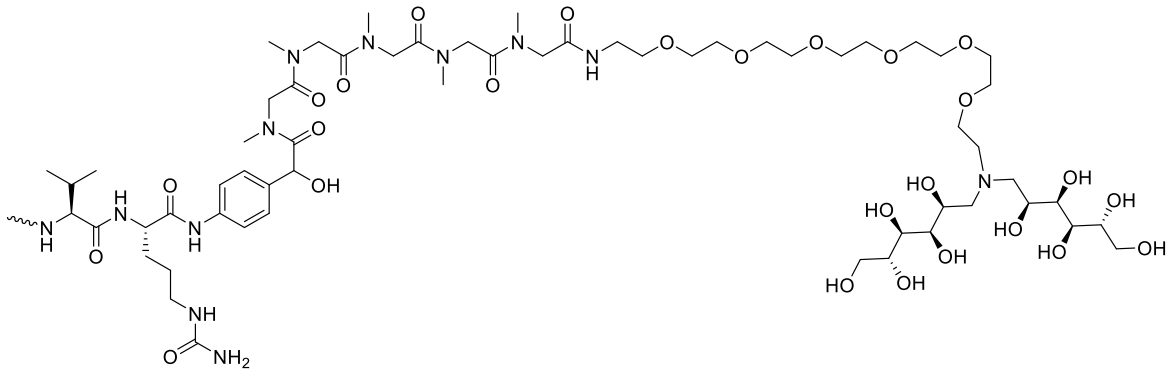
,



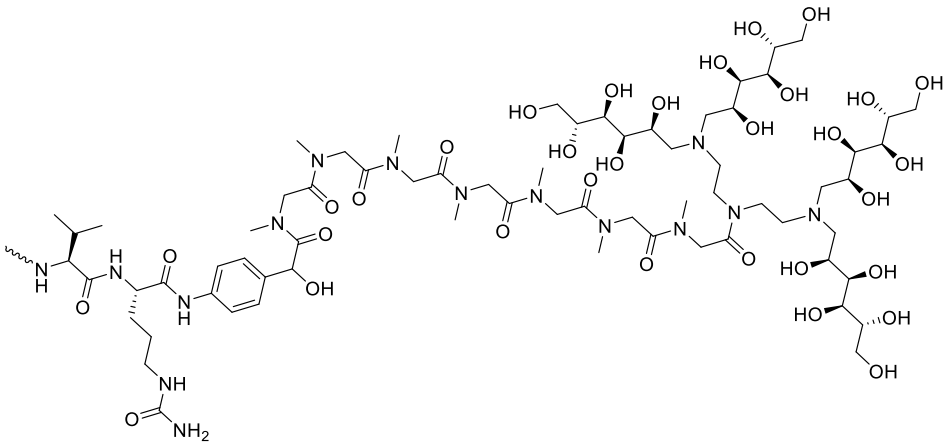
,



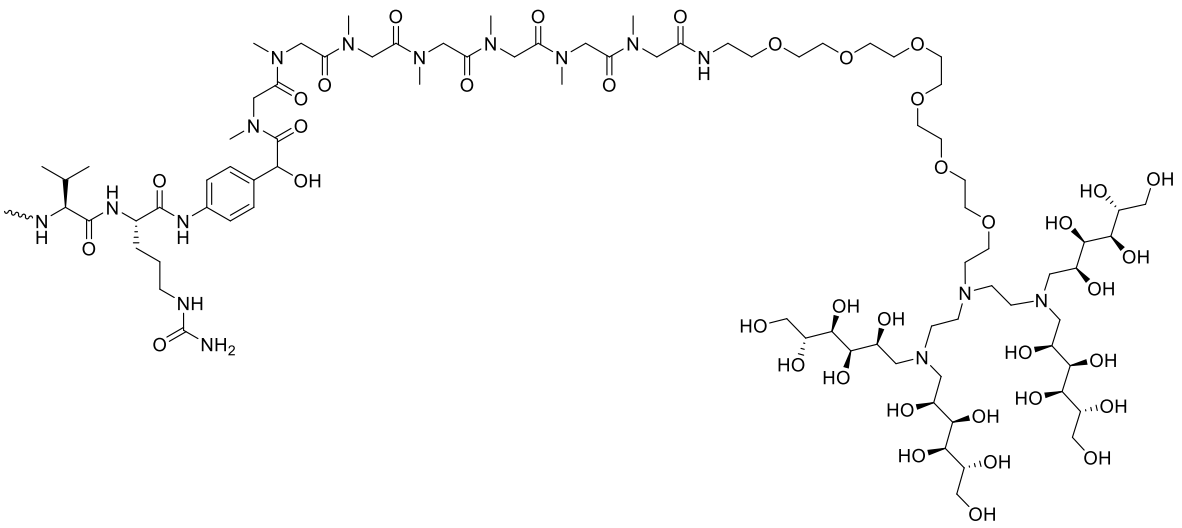
,



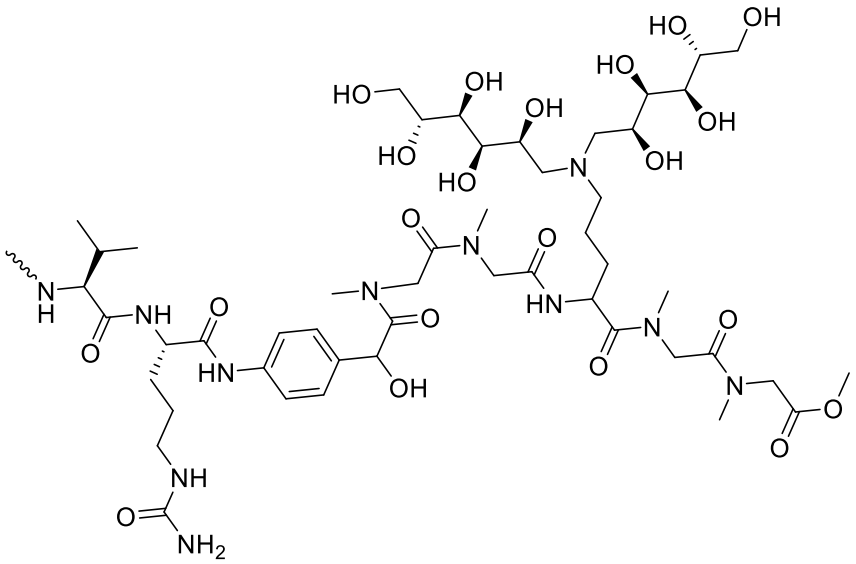
,



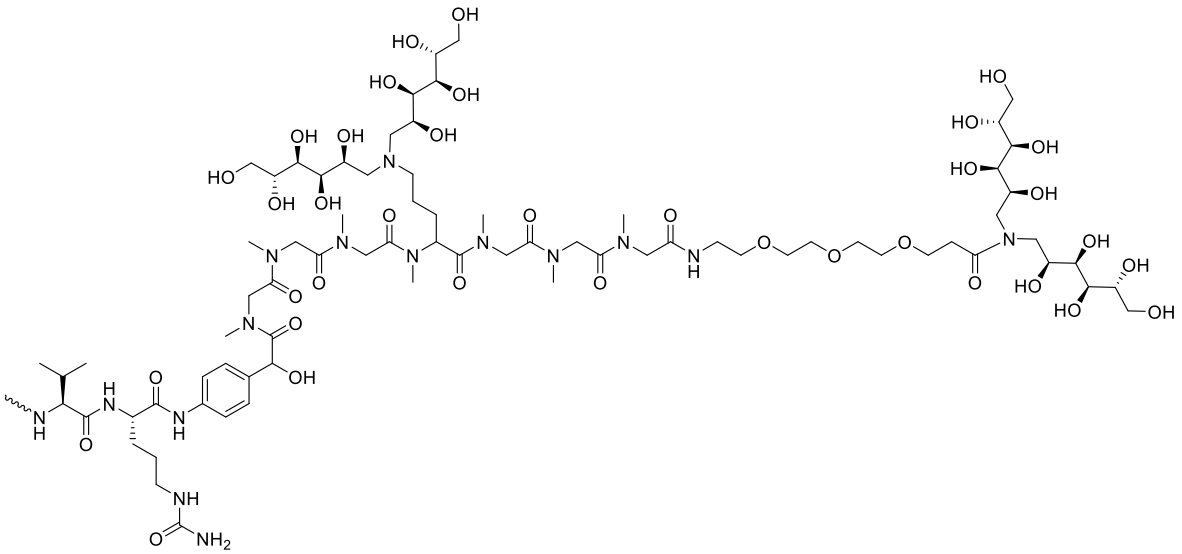
,



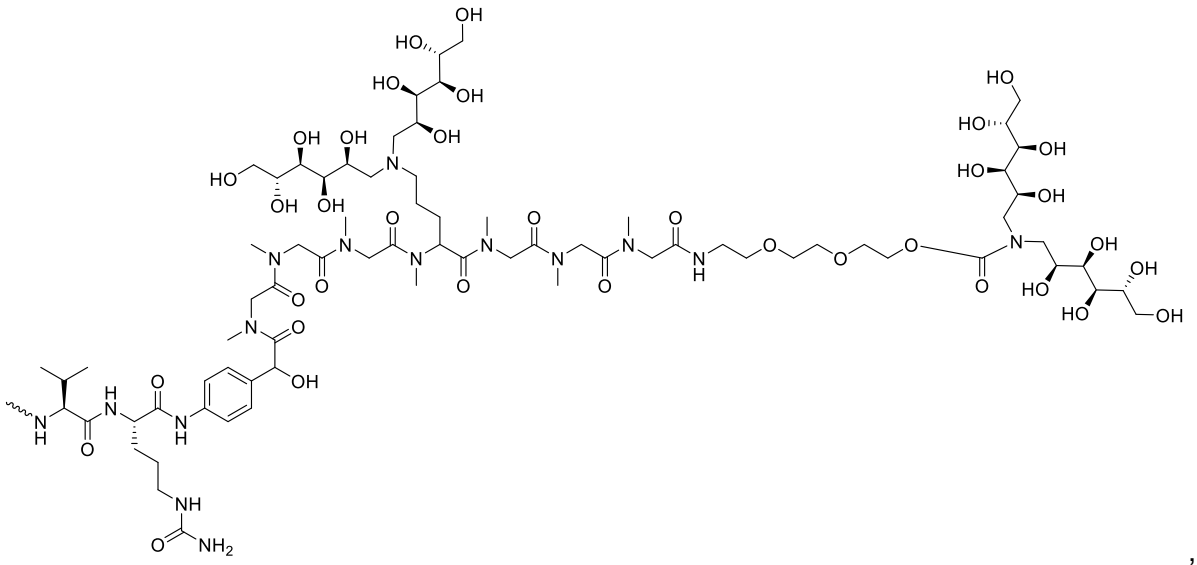
,



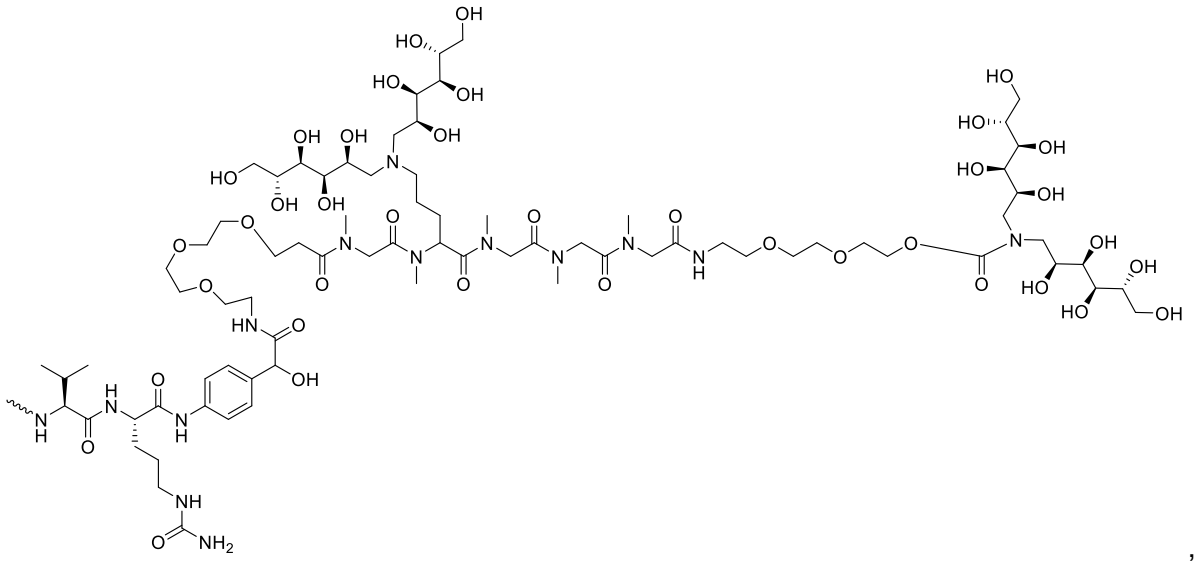
,



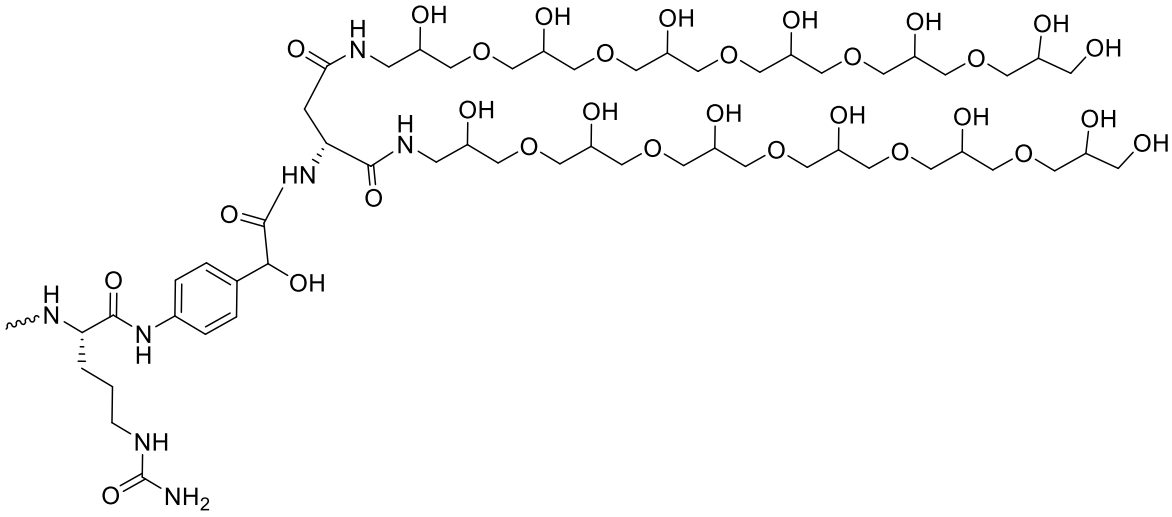
,



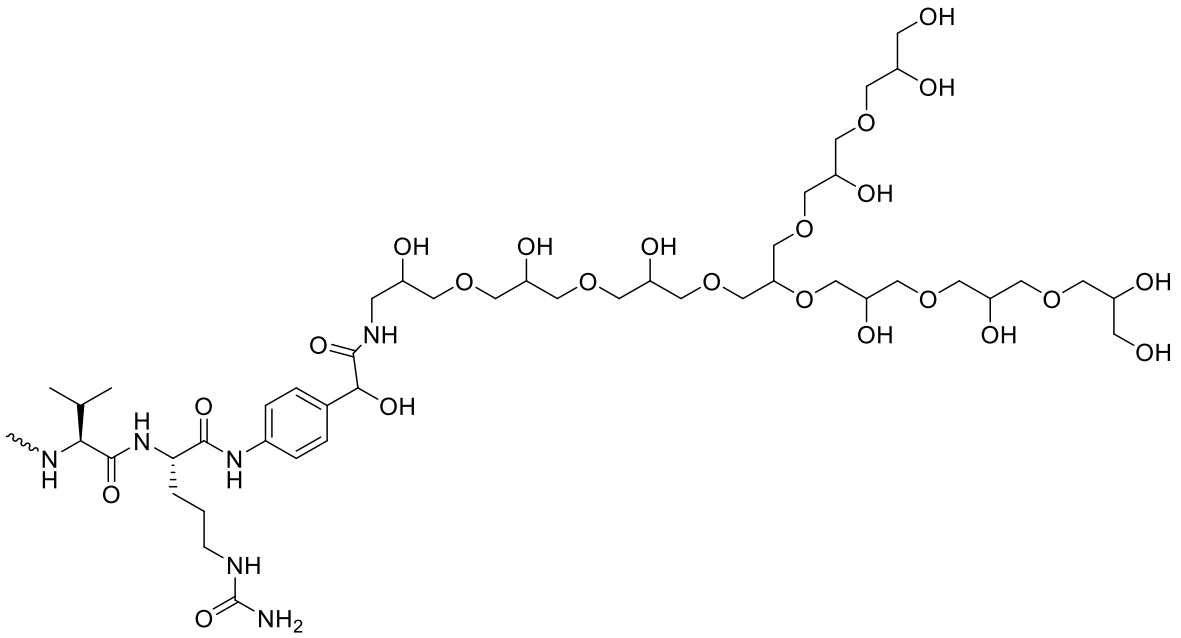
,



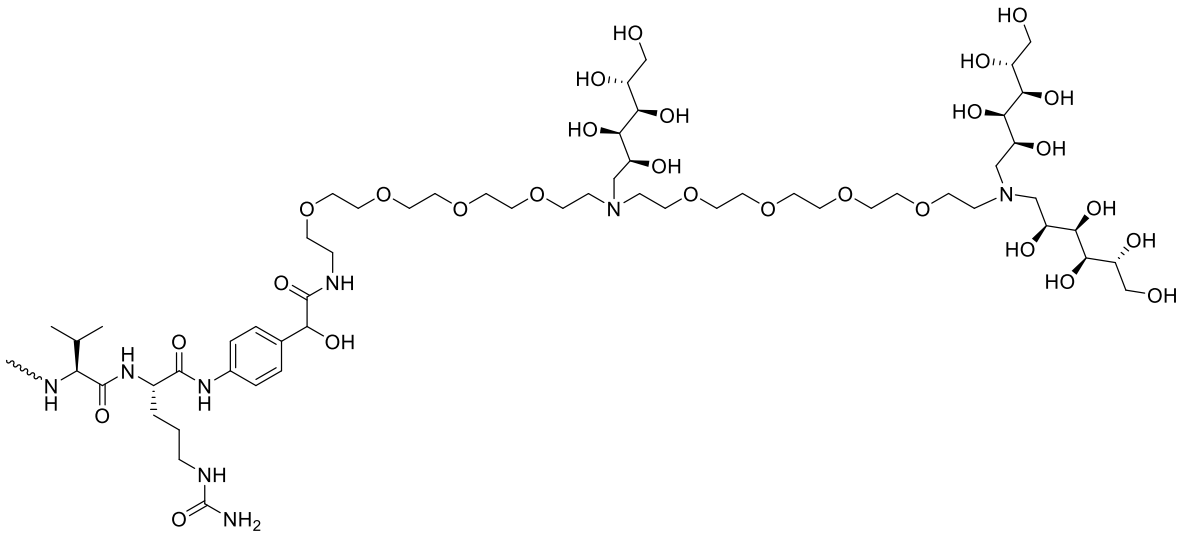
,



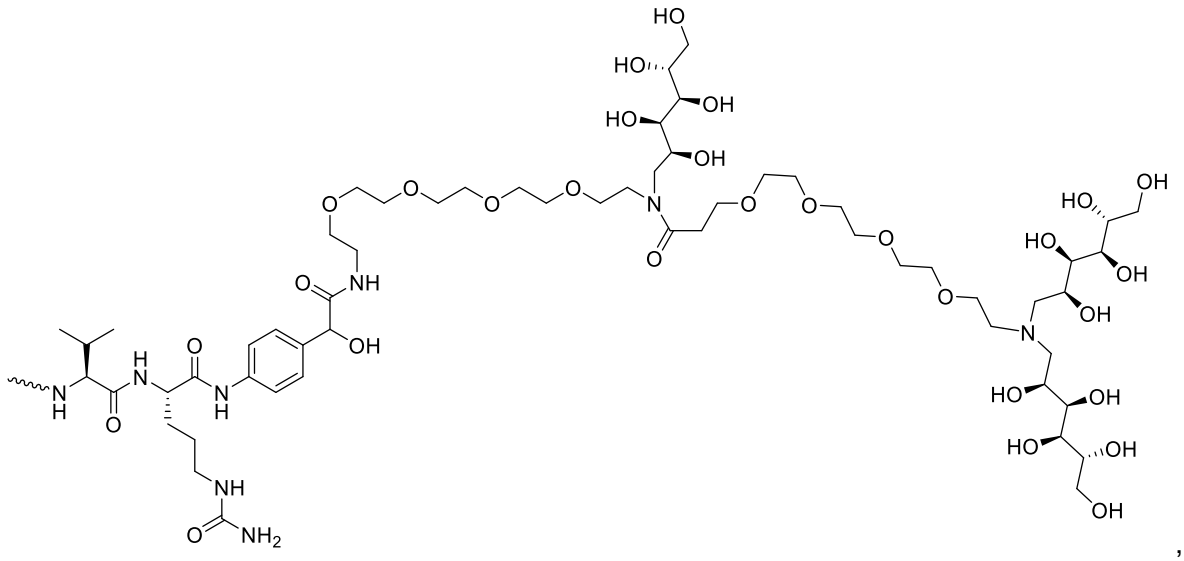
,



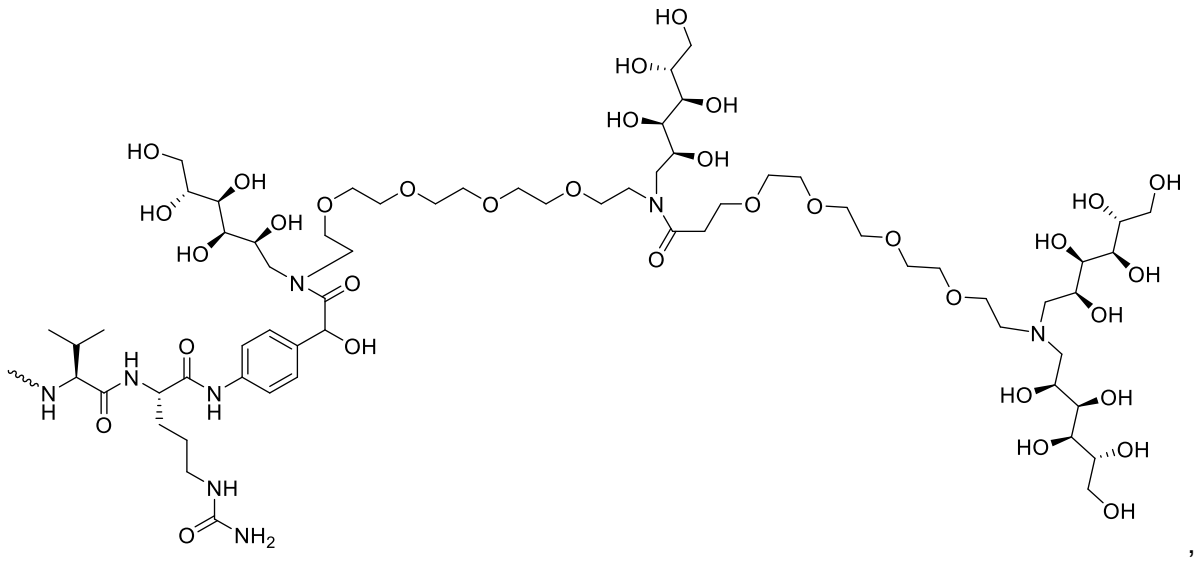
,



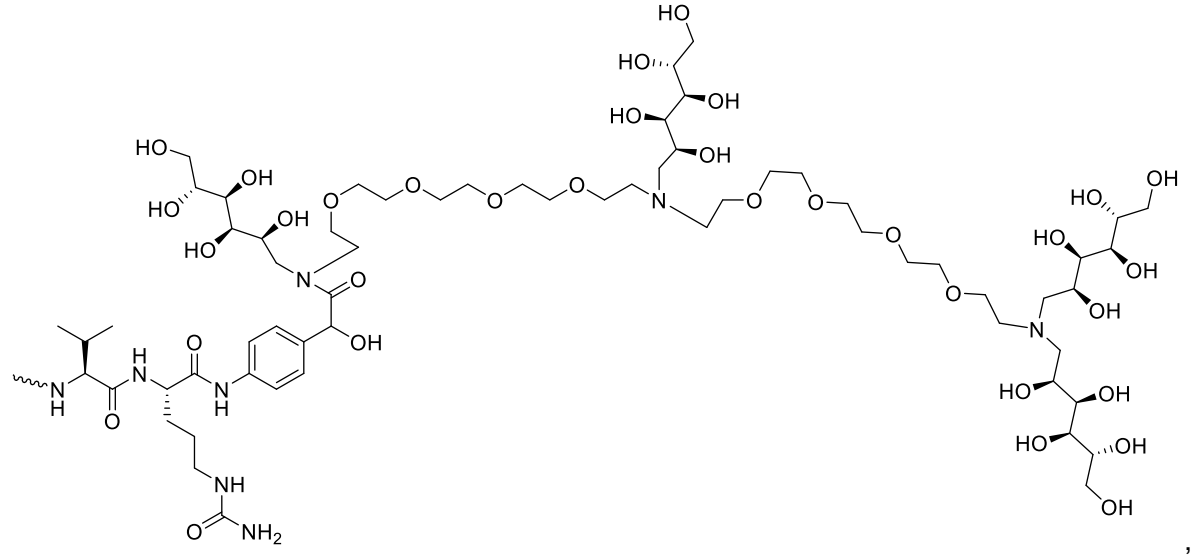
,



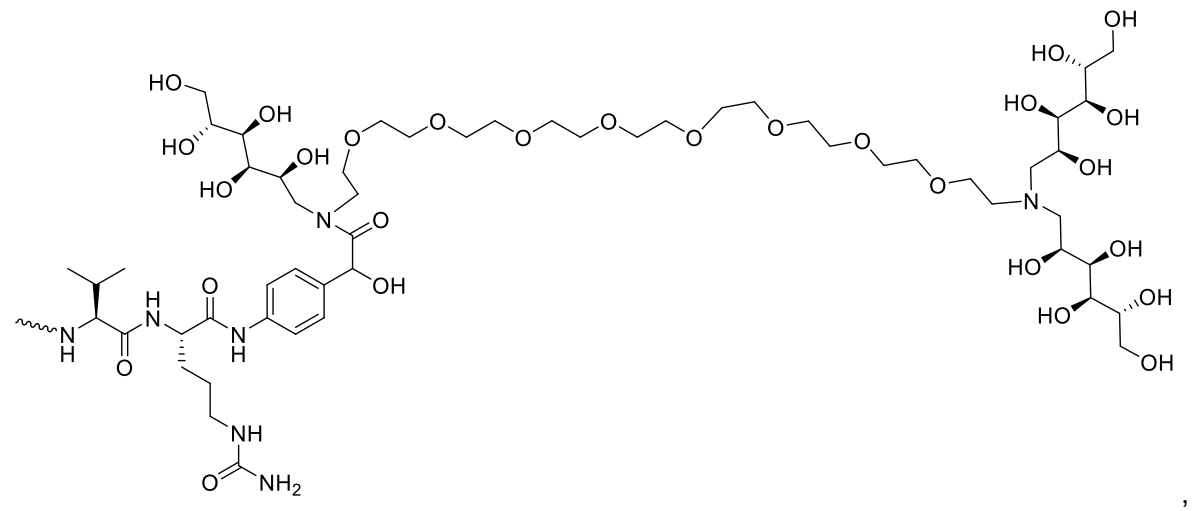
,



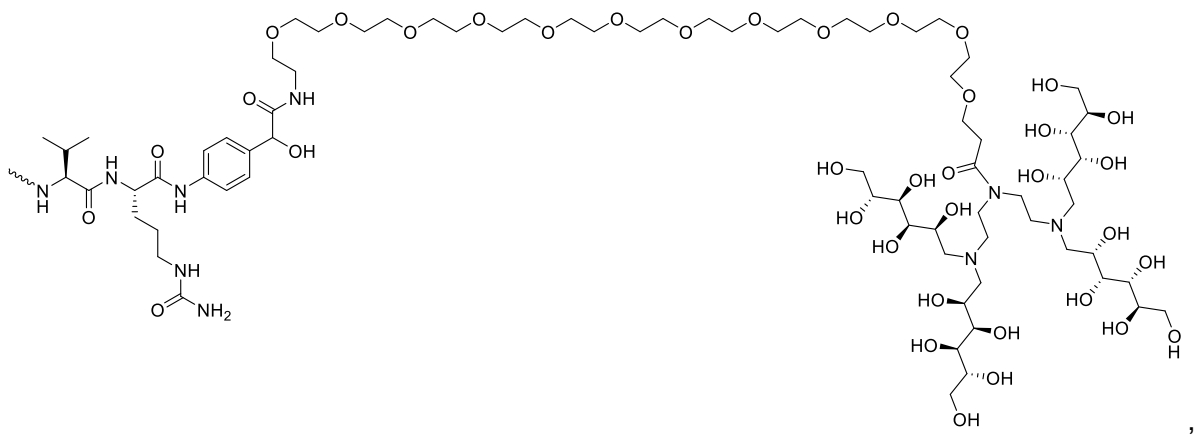
,



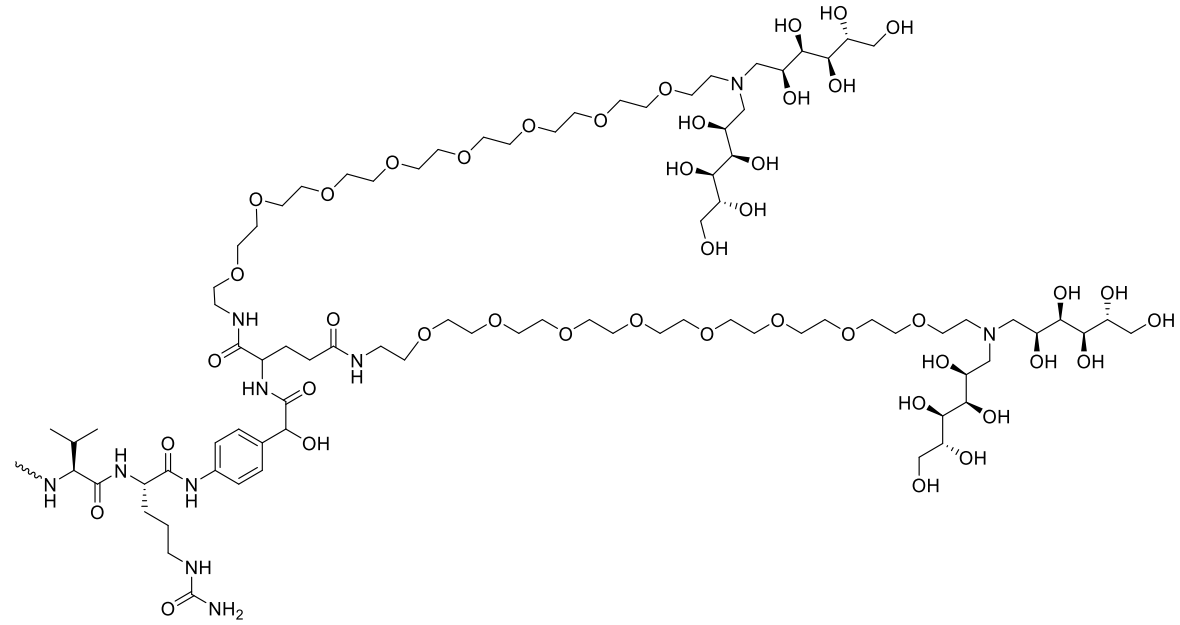
,



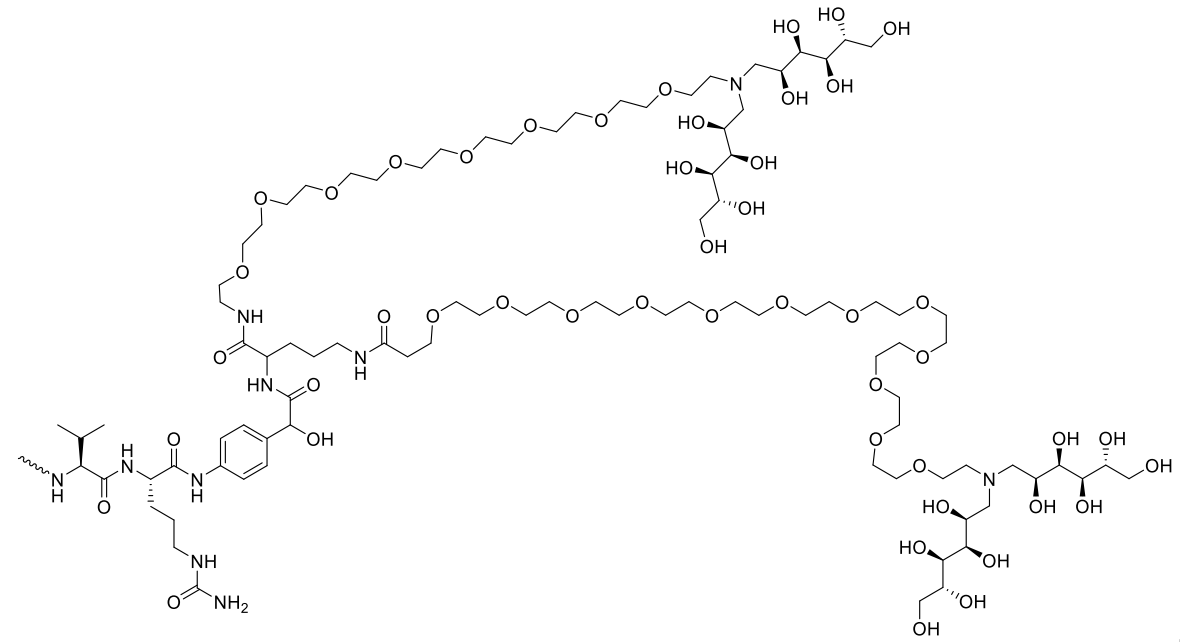
,



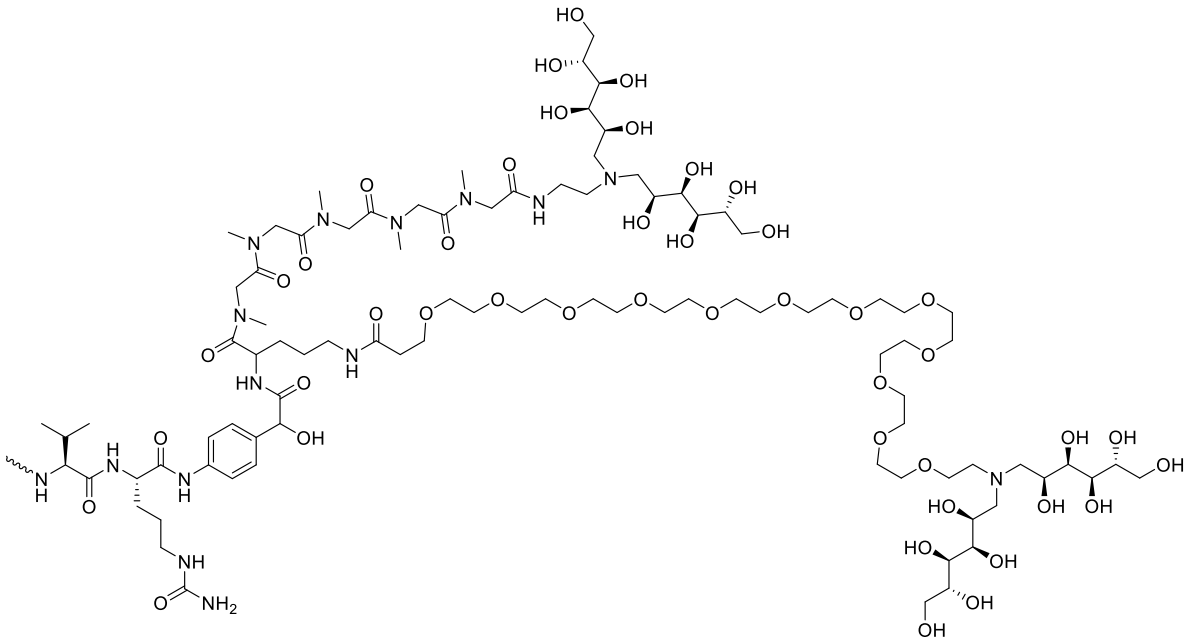
,



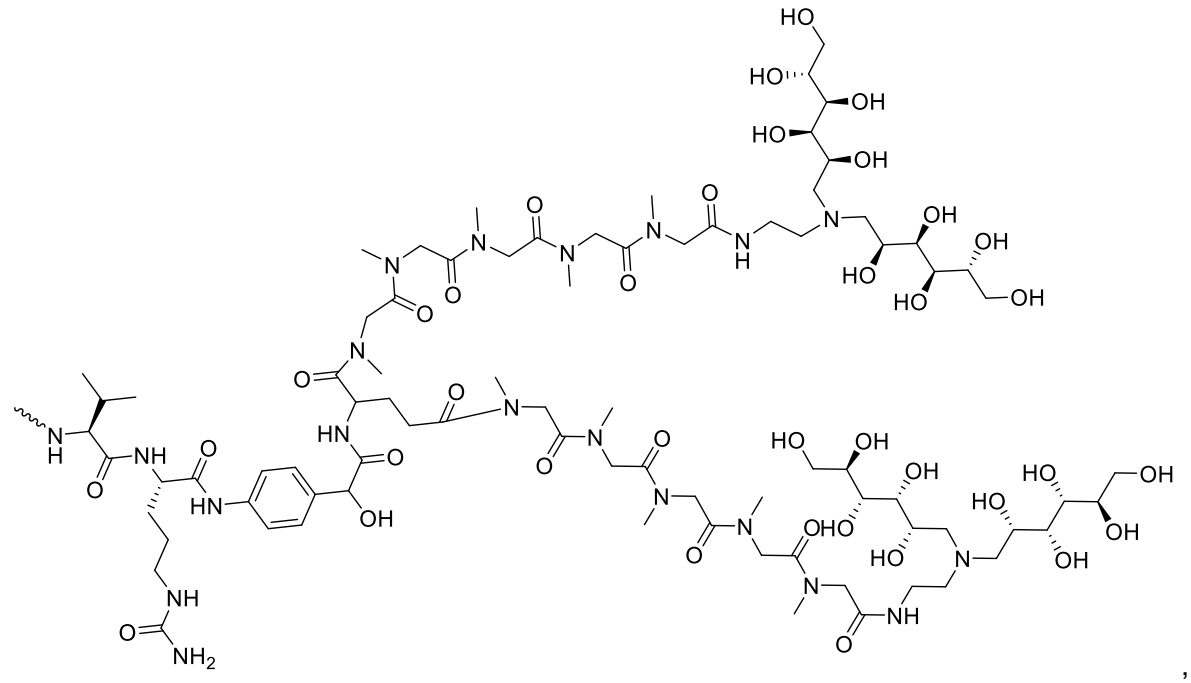
,



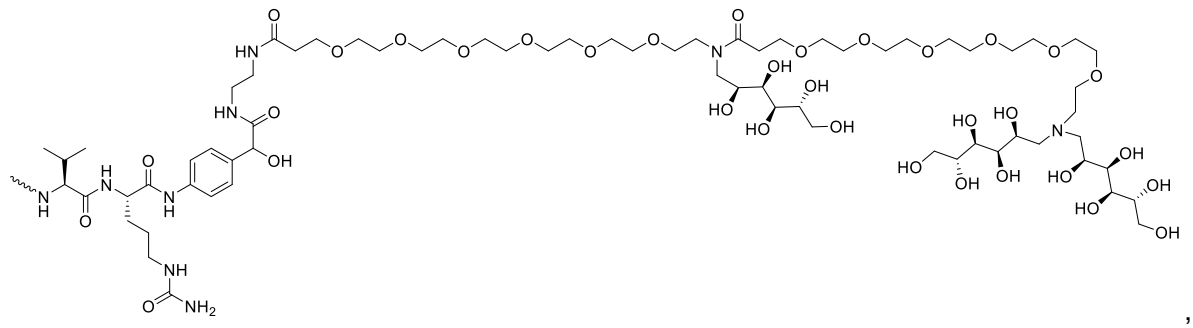
,



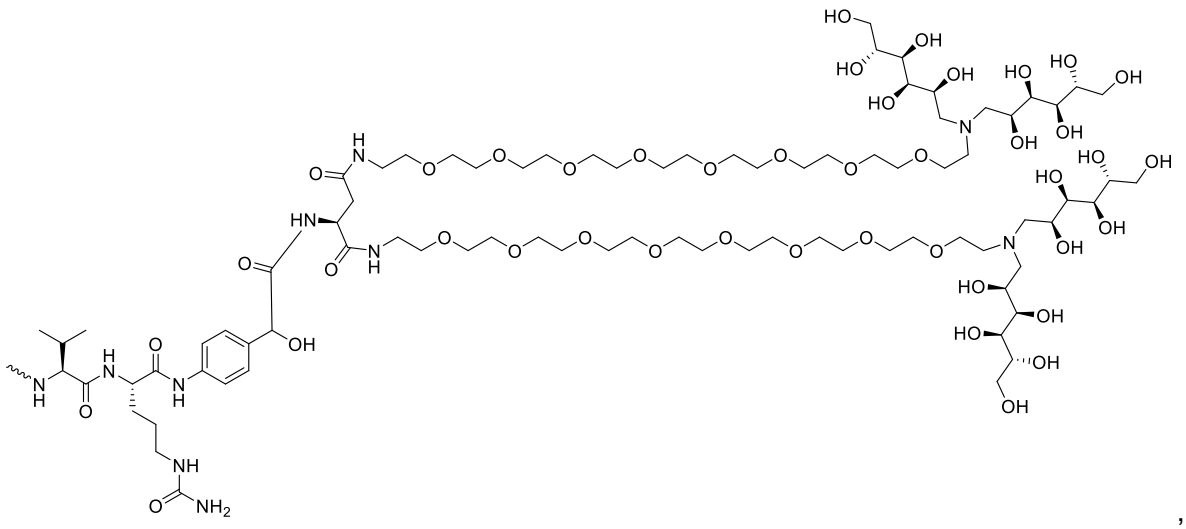
,



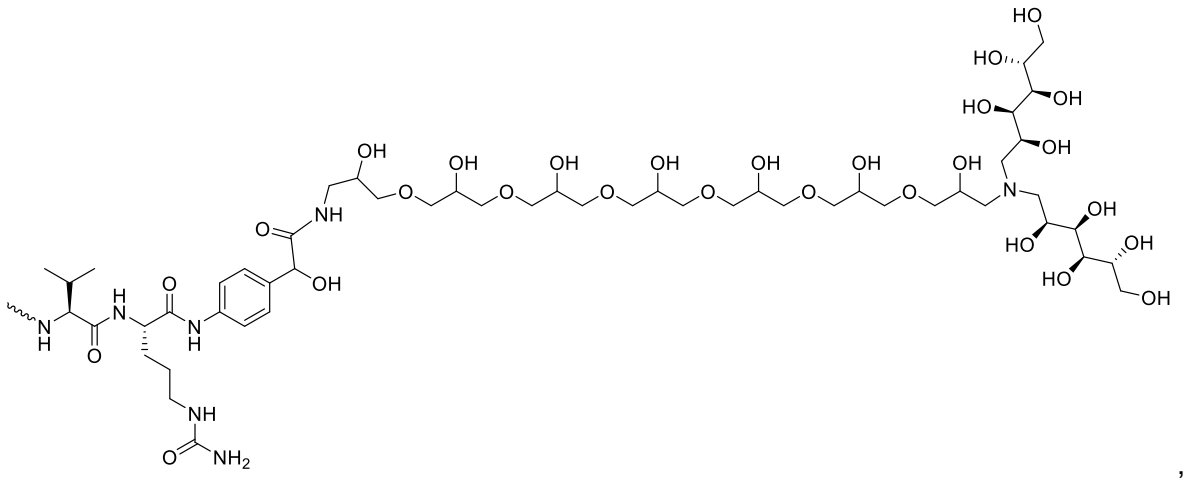
,



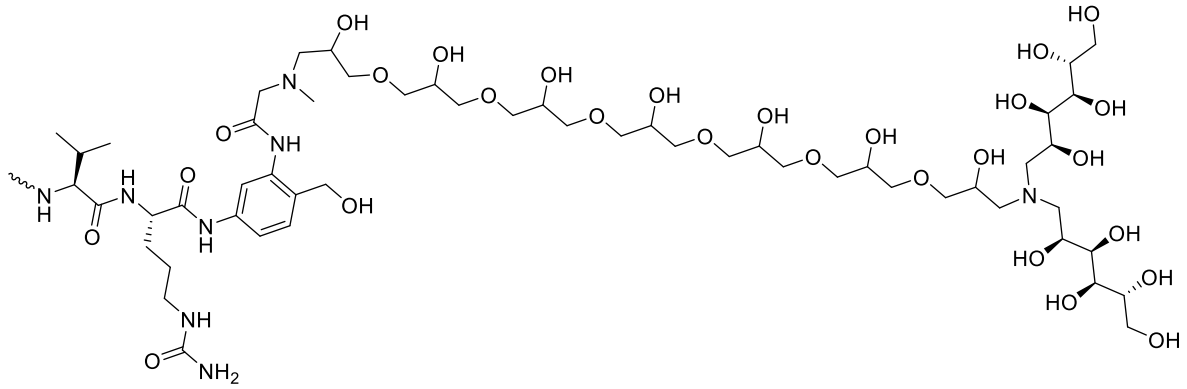
,



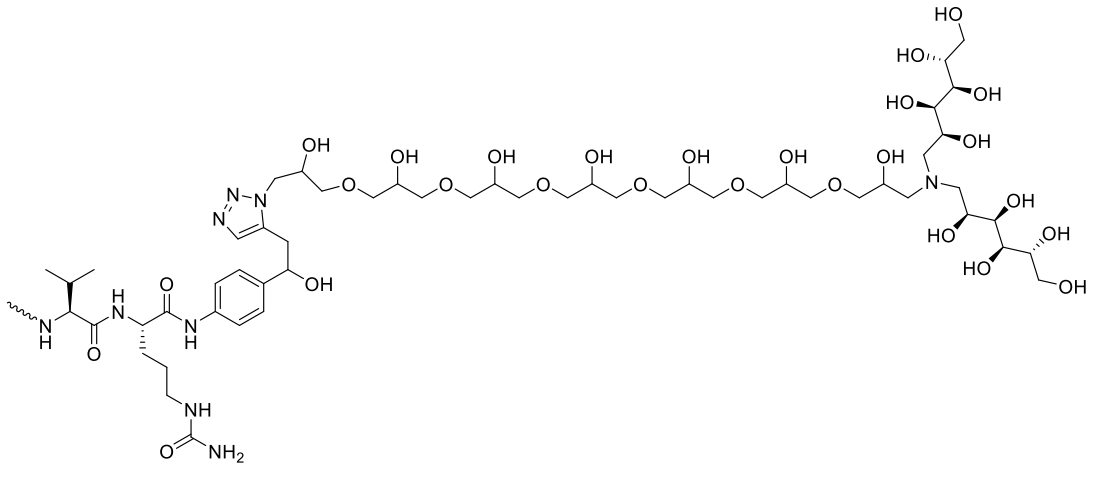
,



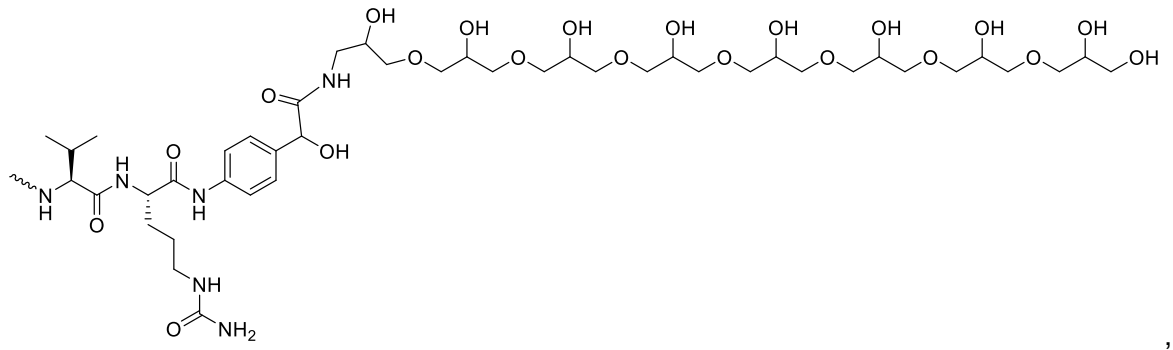
,



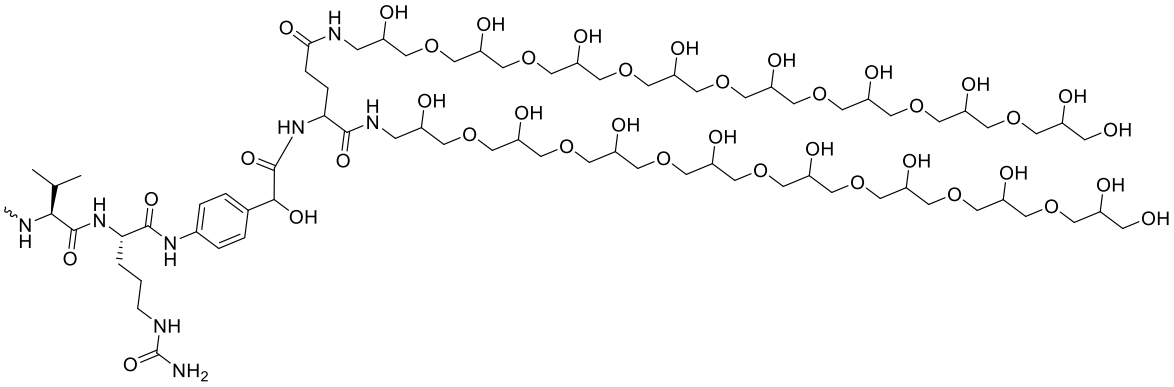
,



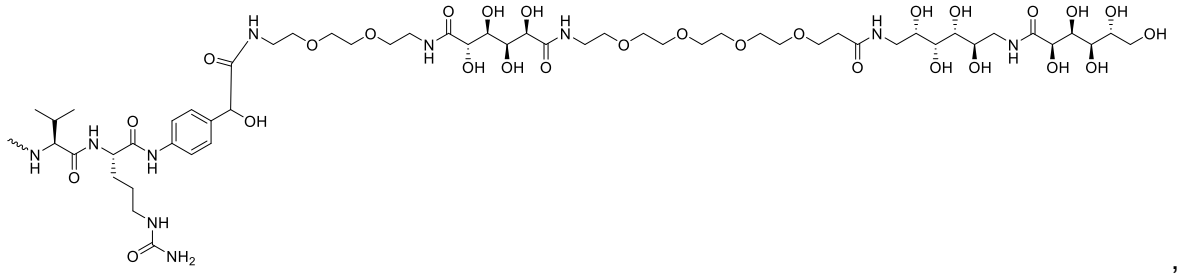
,



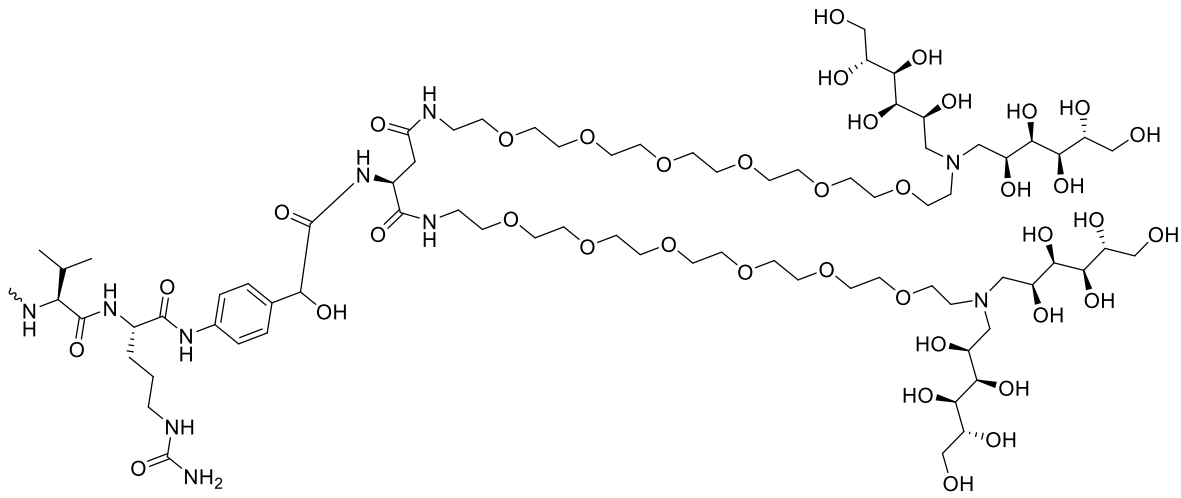
,



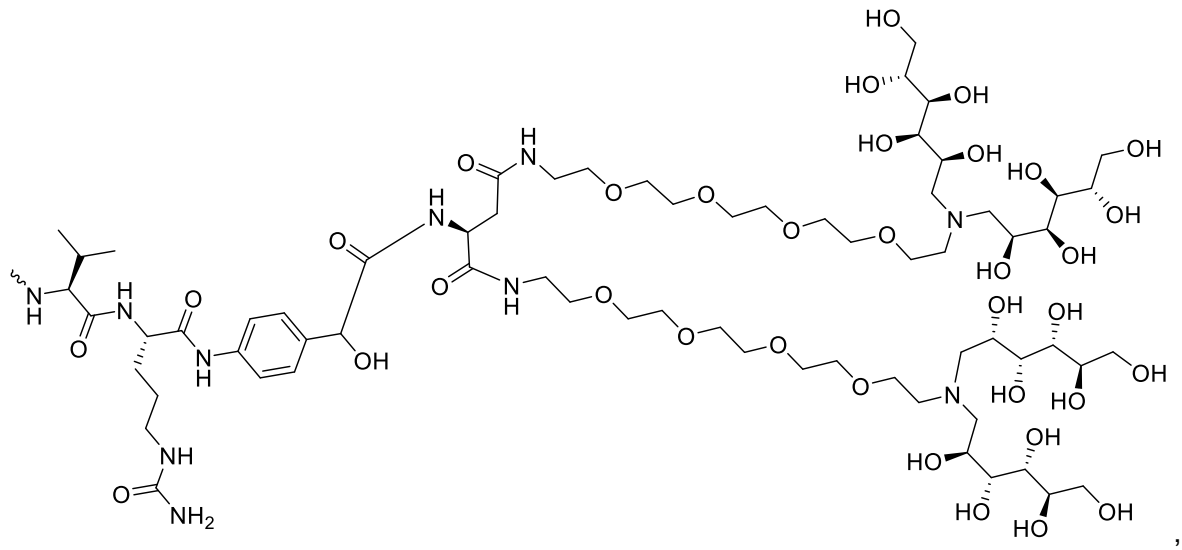
,



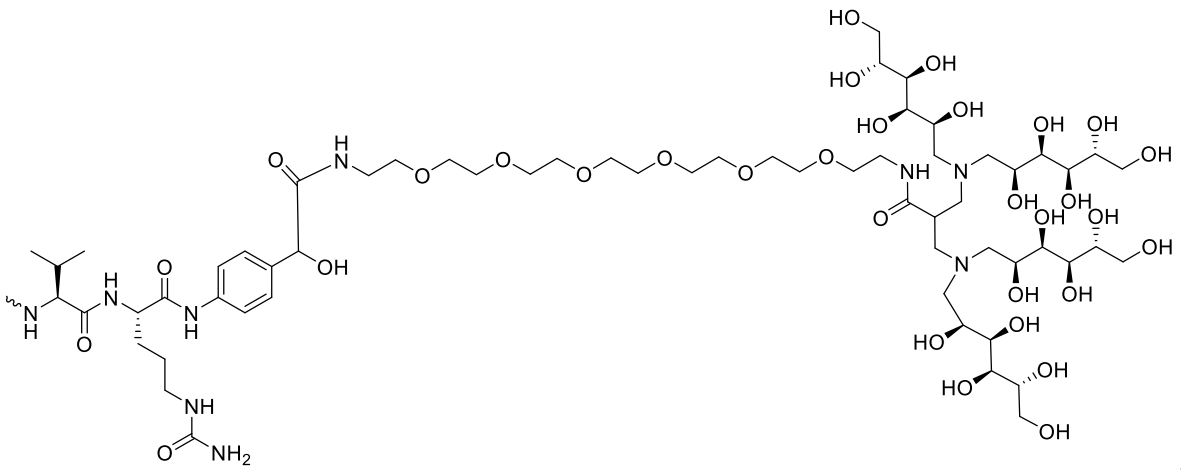
,



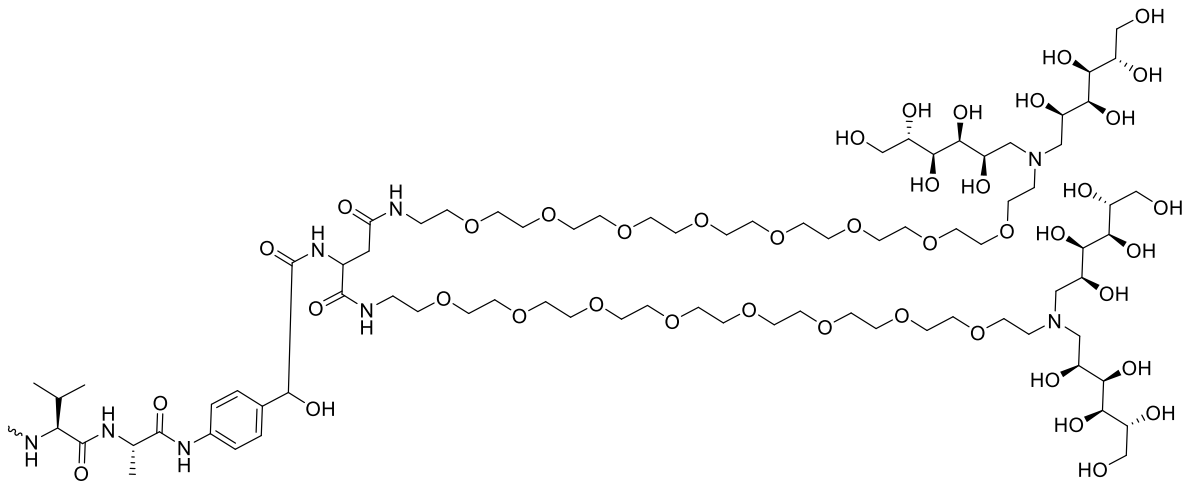
,



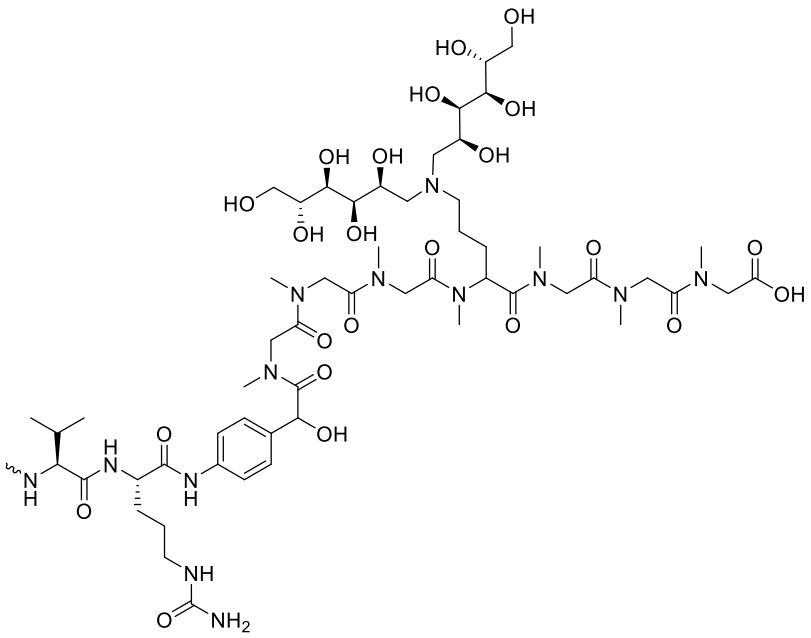
,



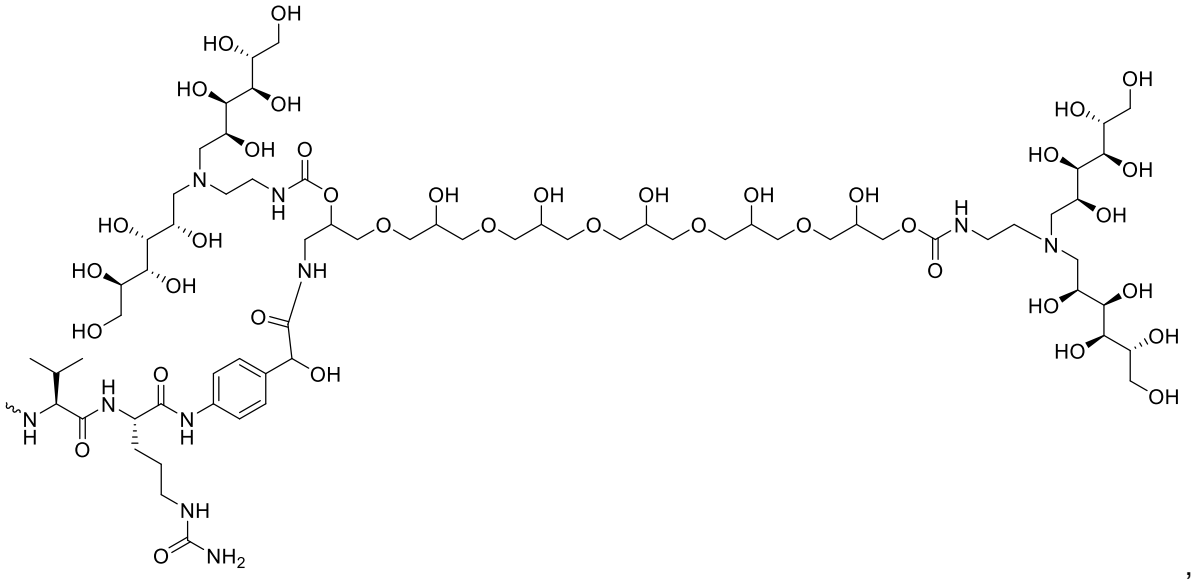
,



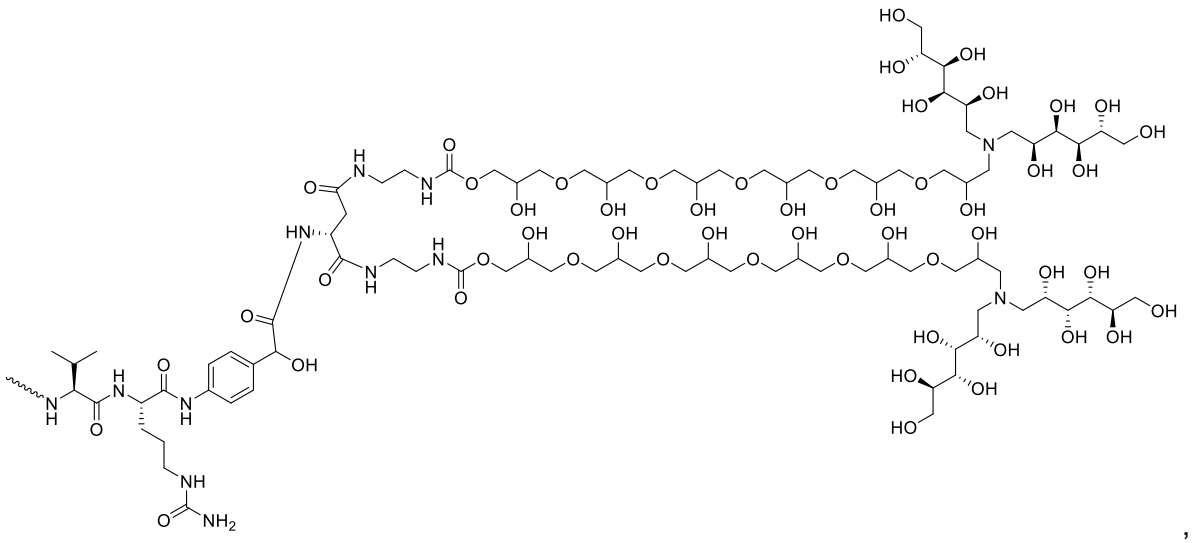
,



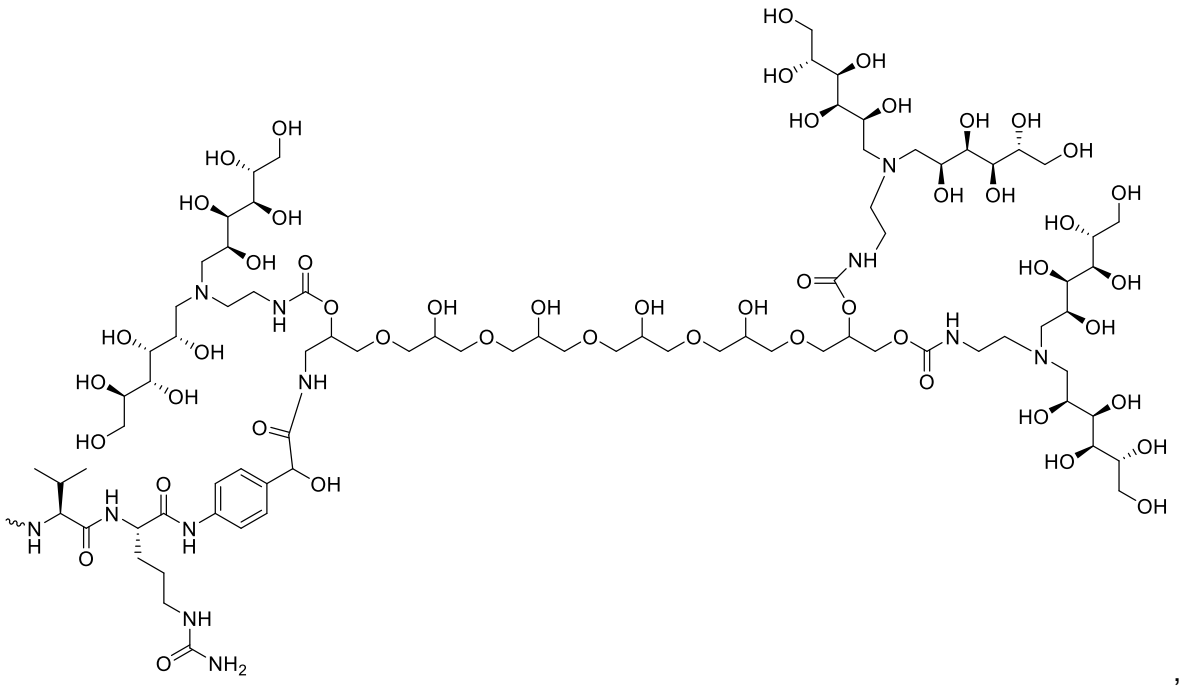
,



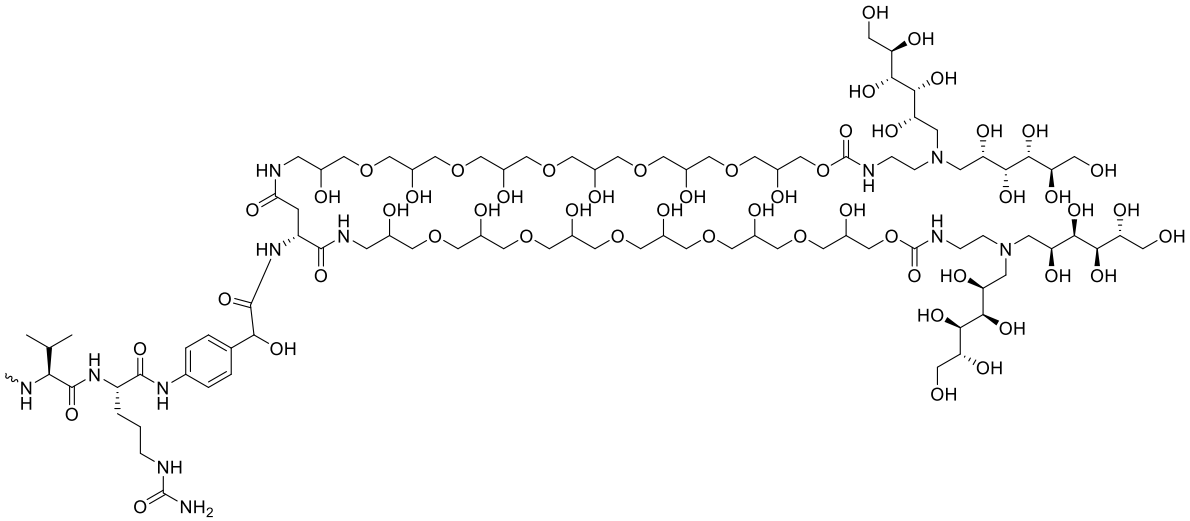
,



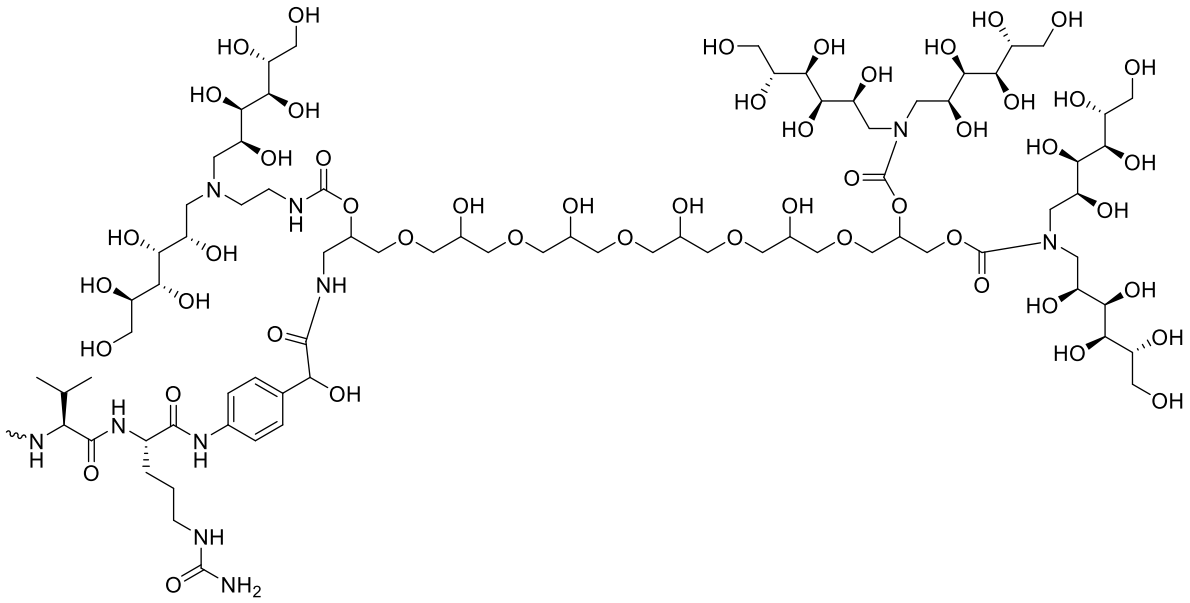
,



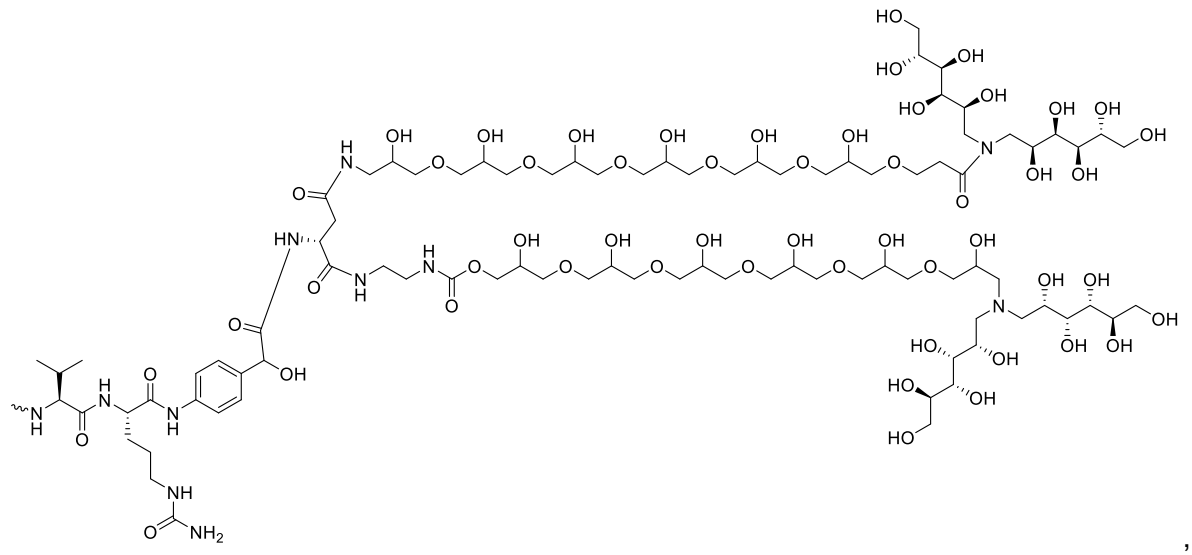
,



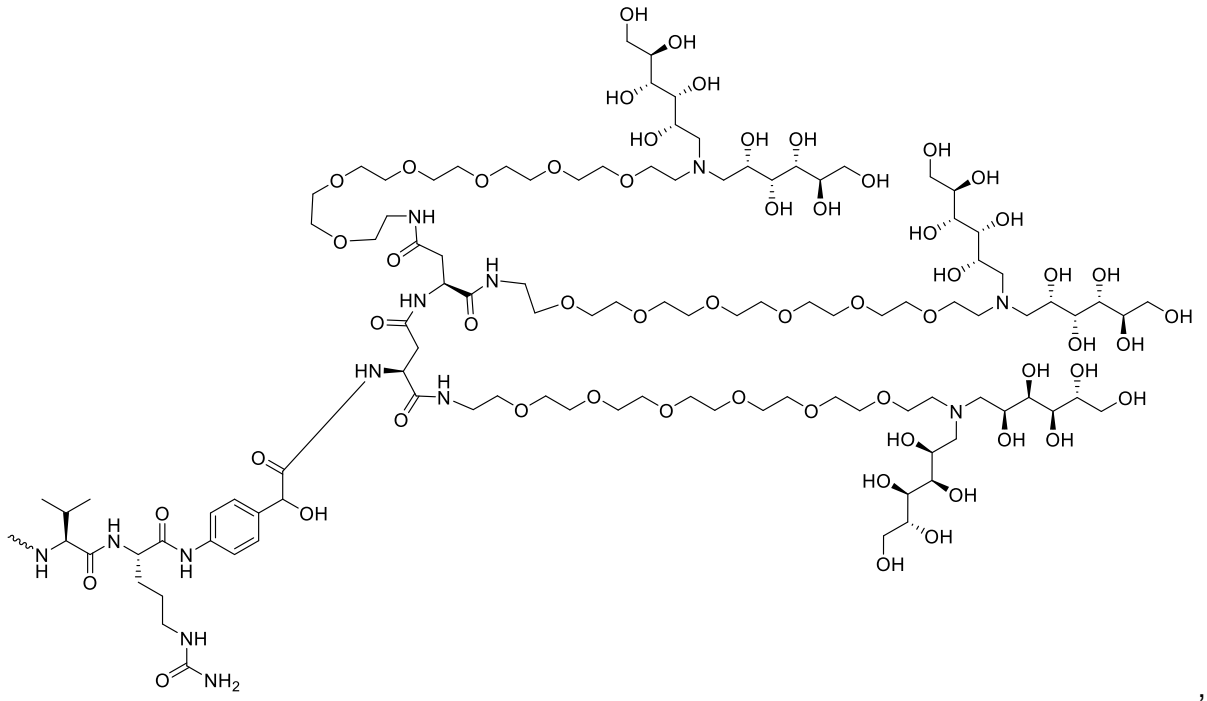
,



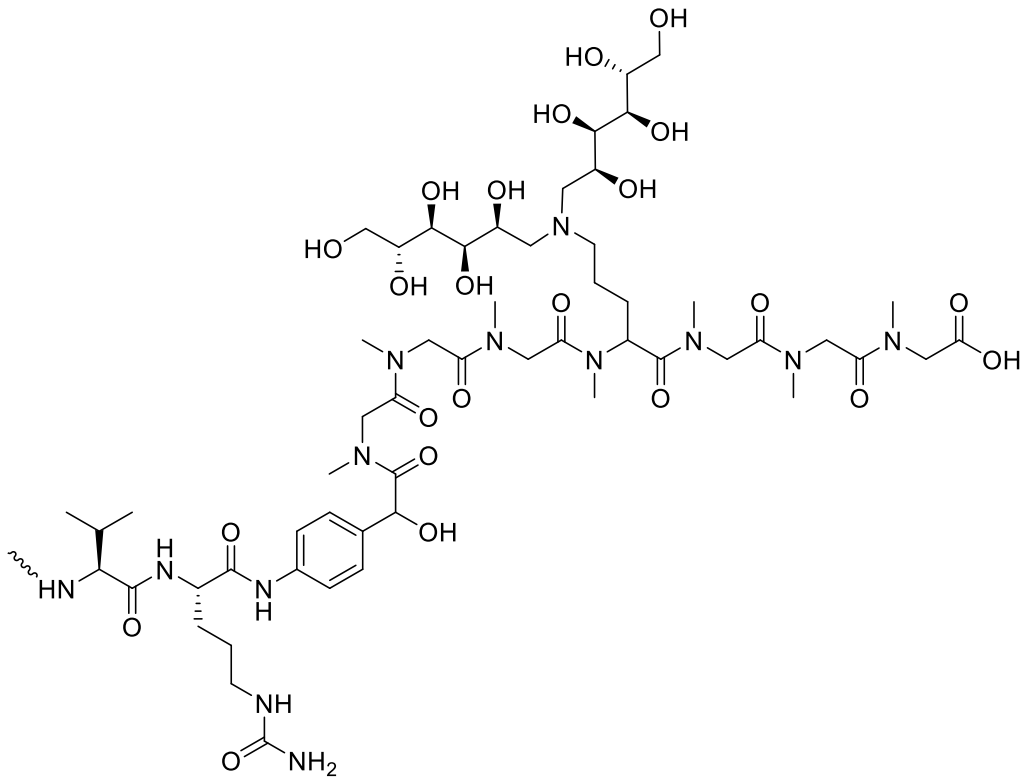
,



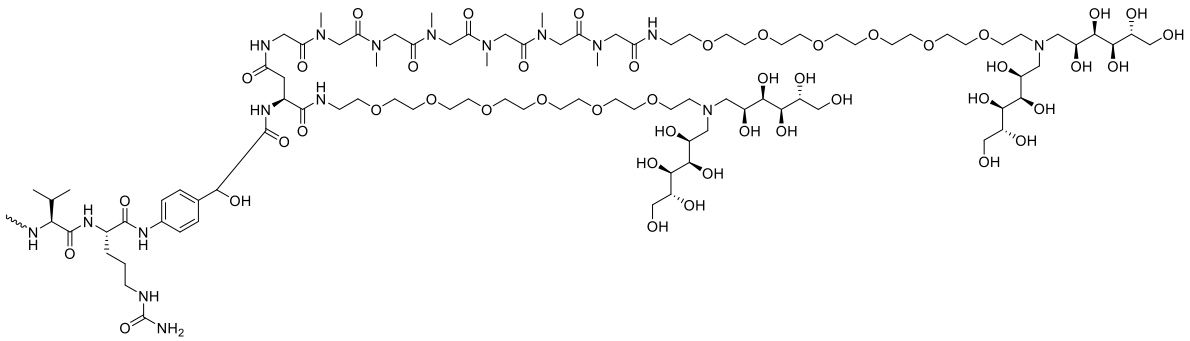
,



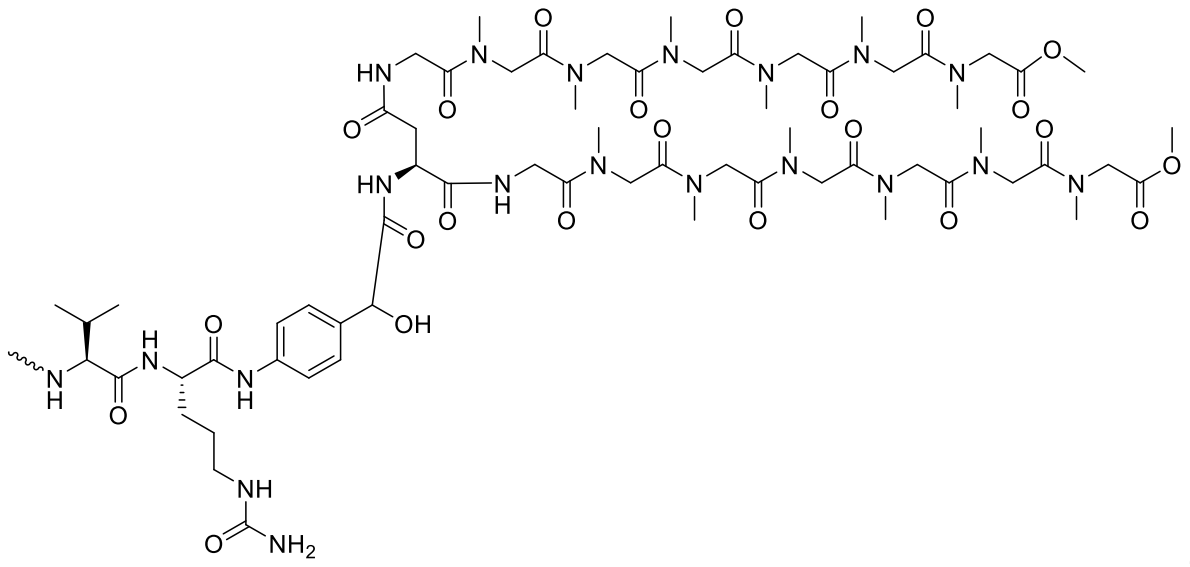
,



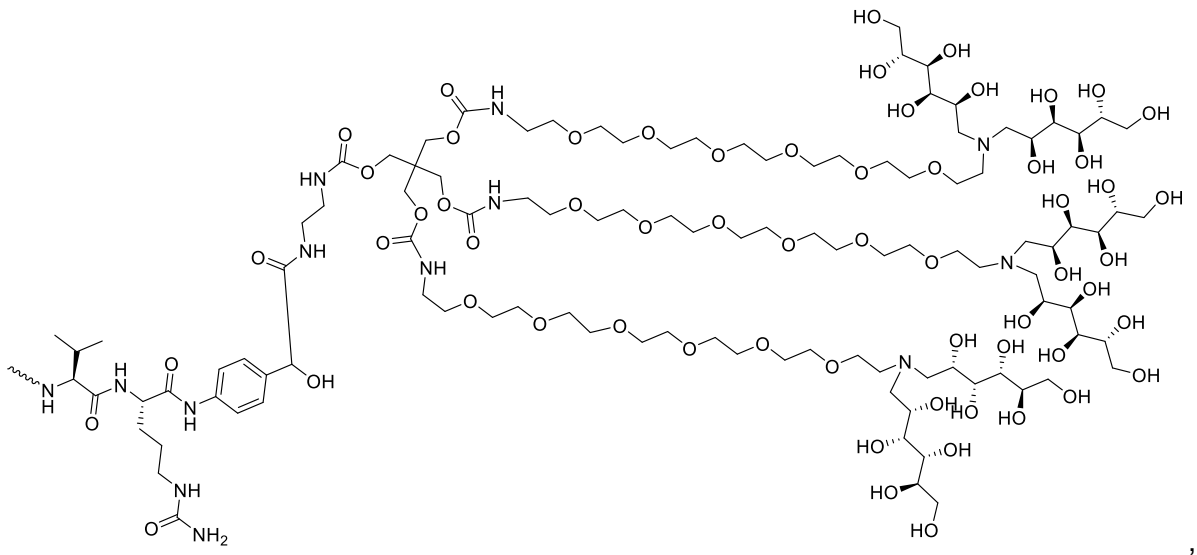
,



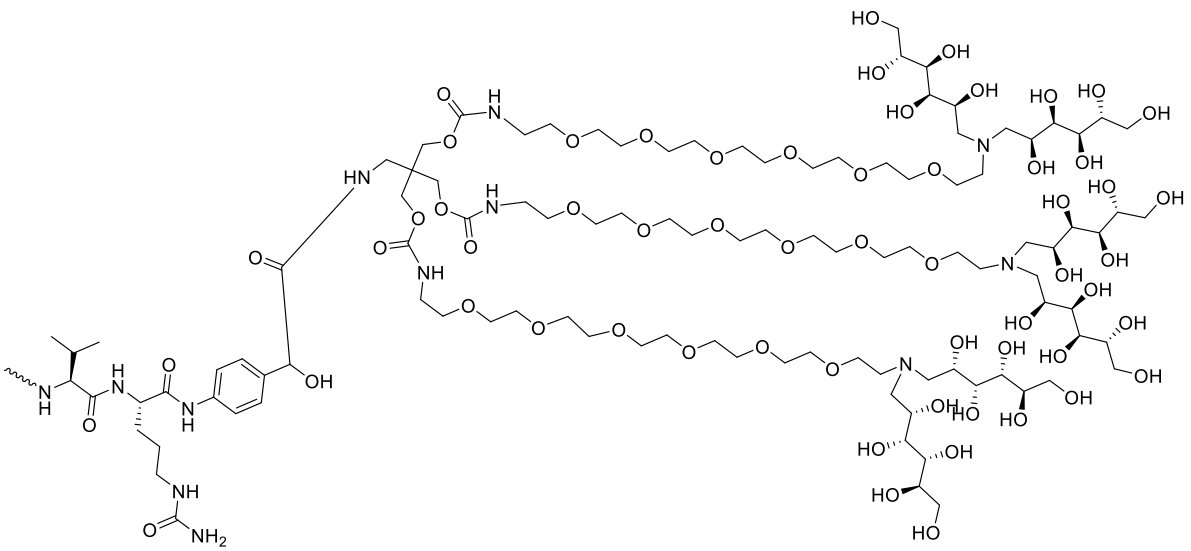
,



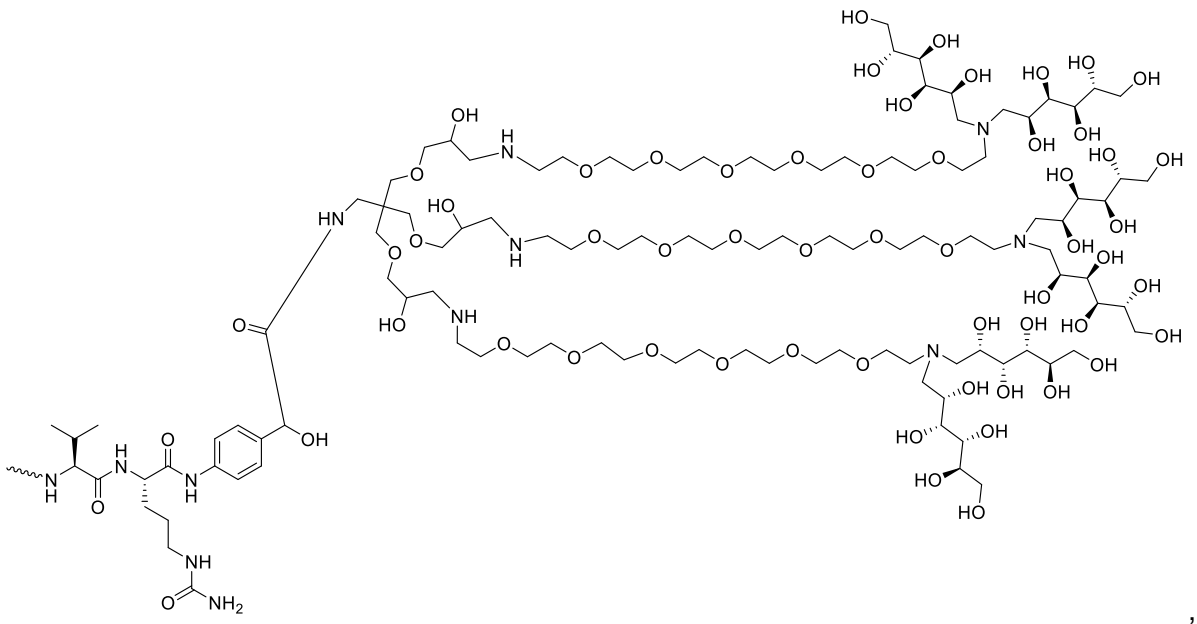
,



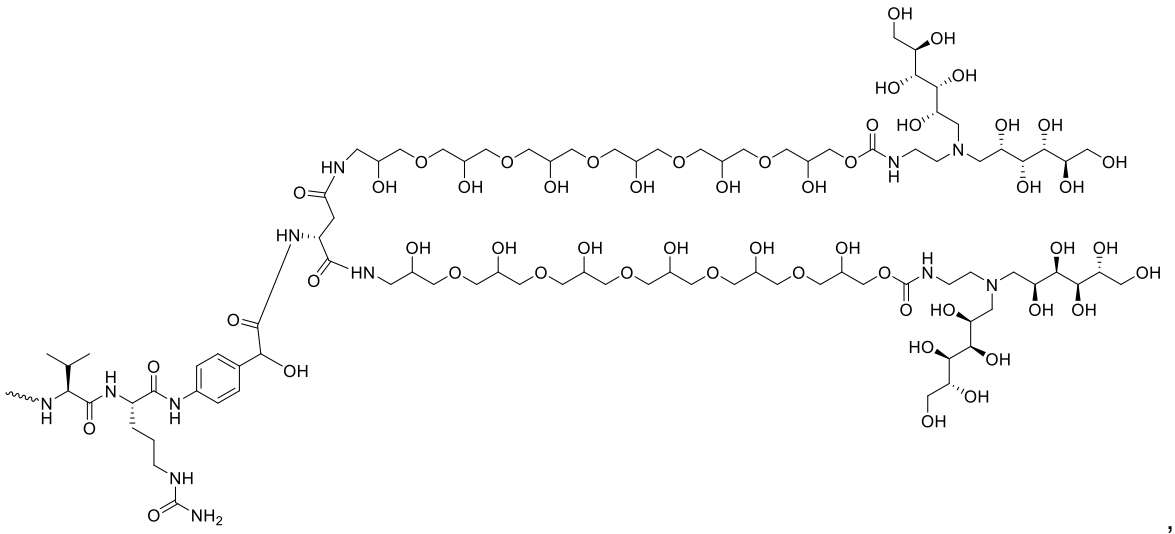
,



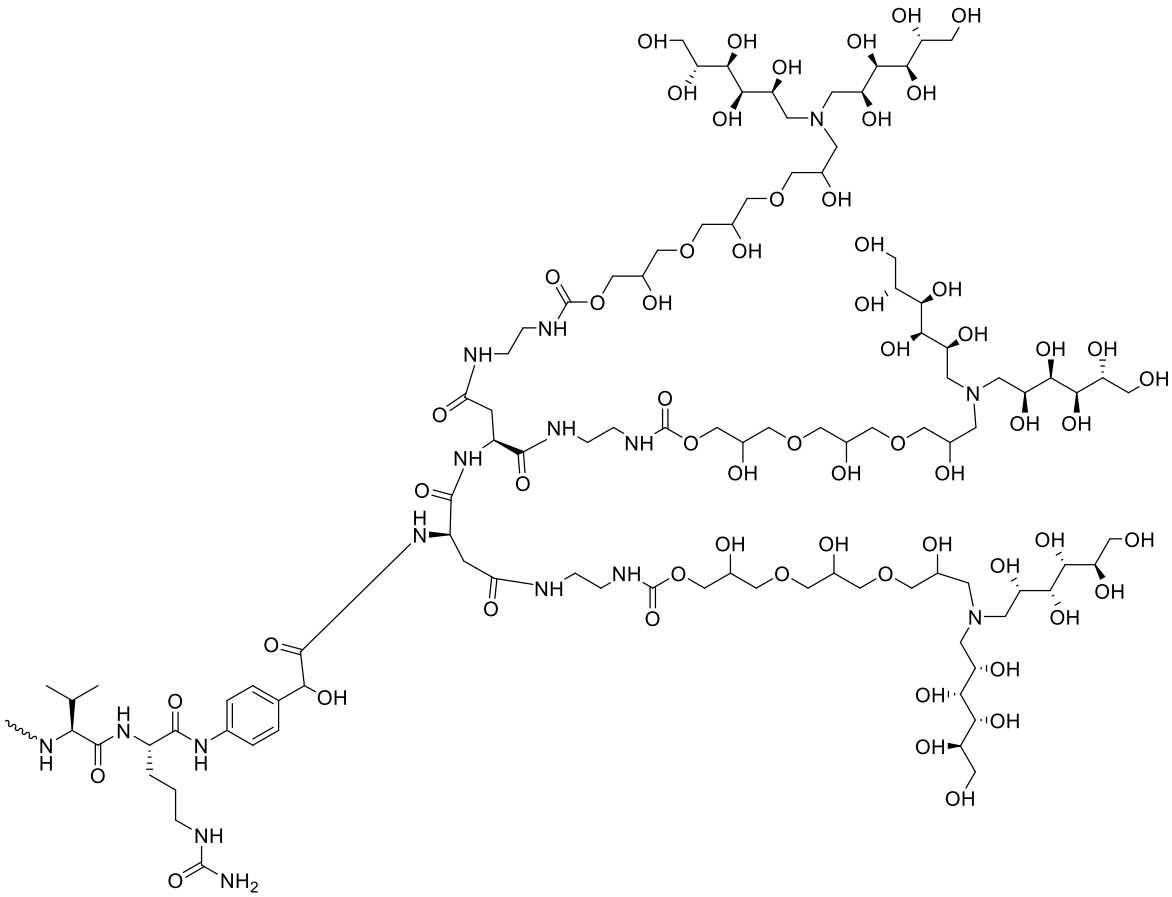
,



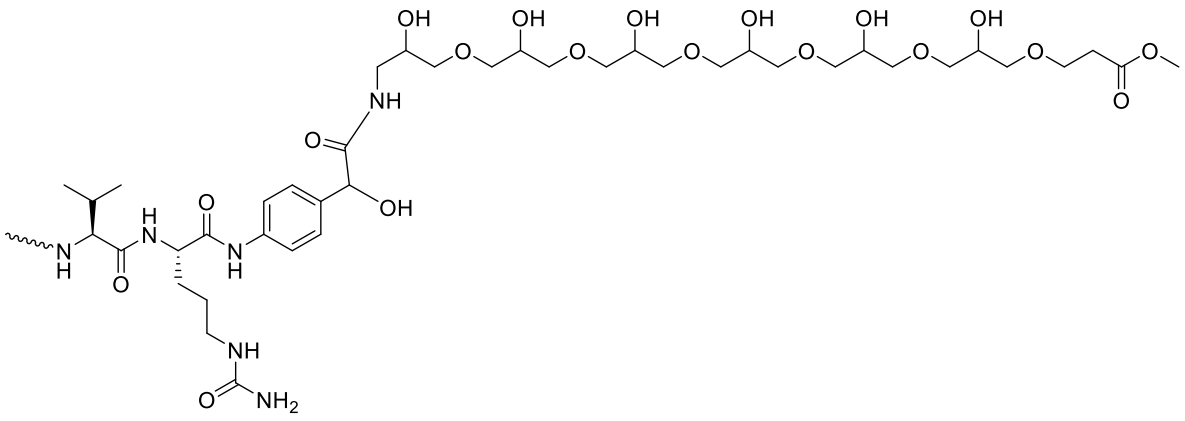
,



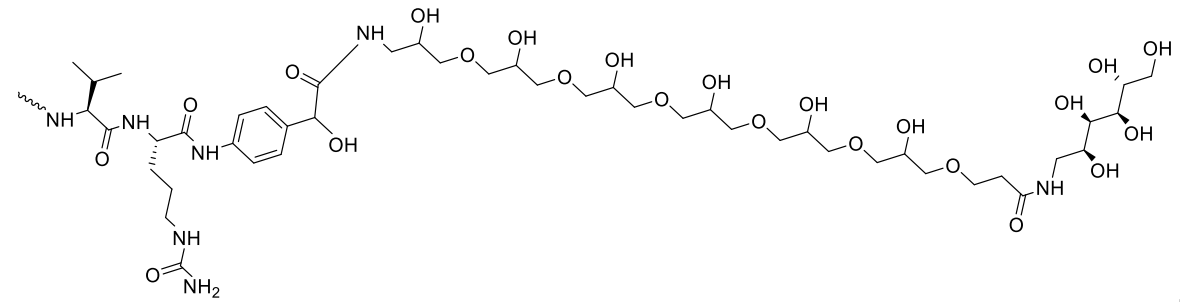
,



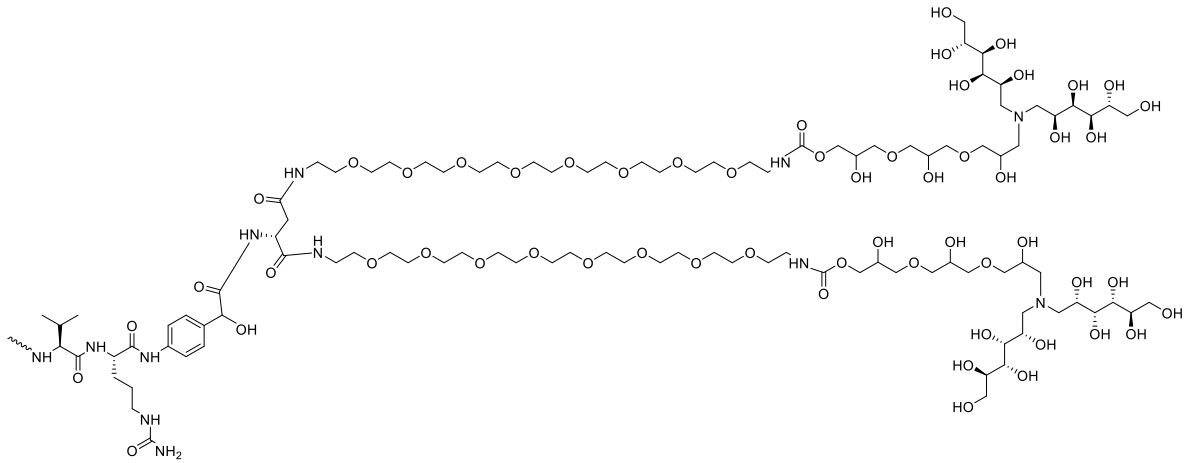
,



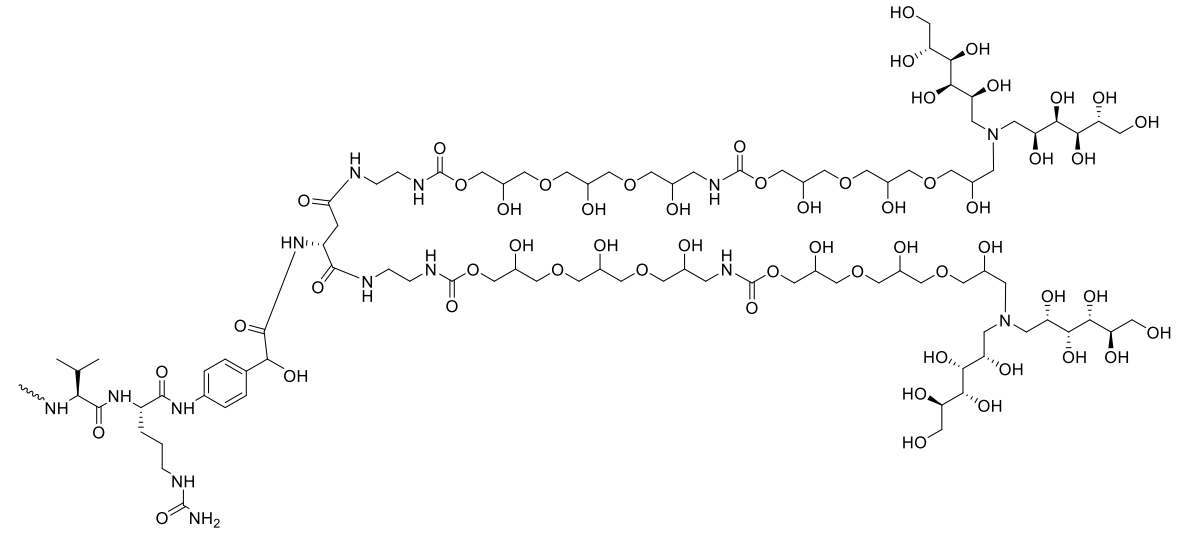
,



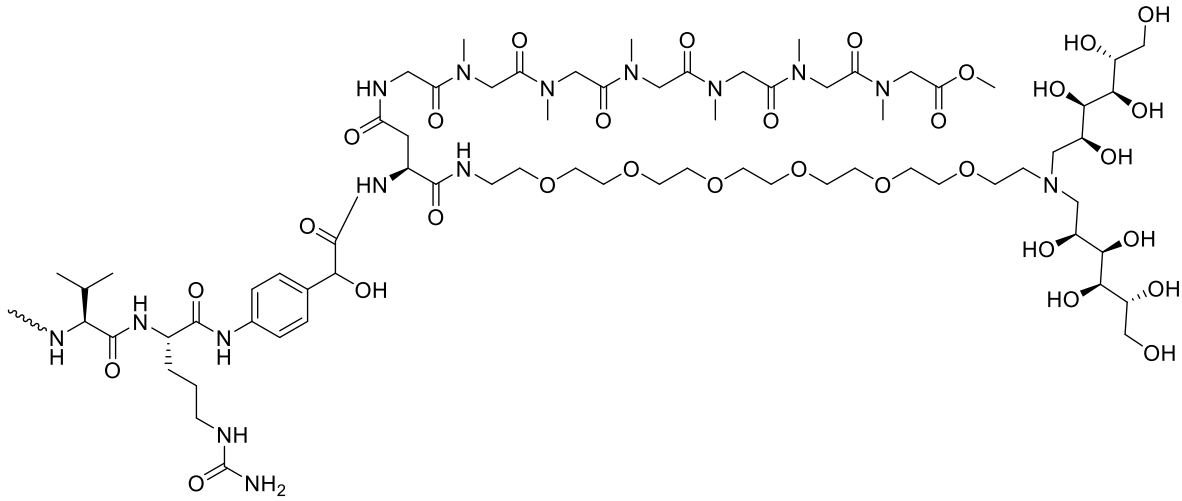
,



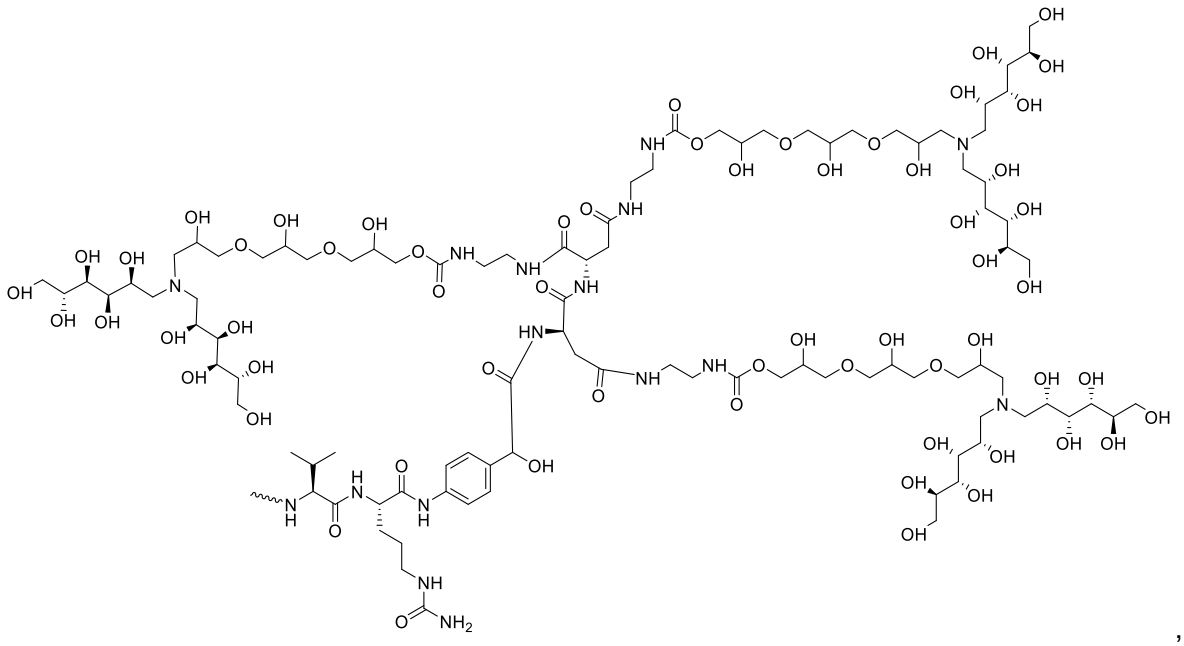
,



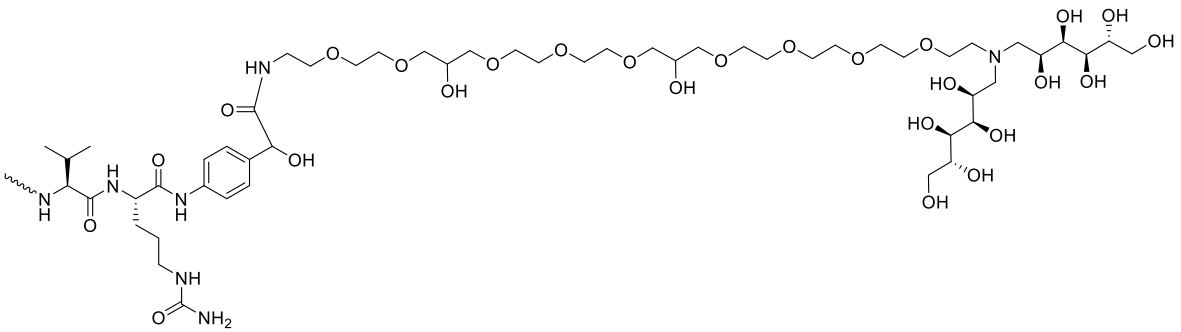
,



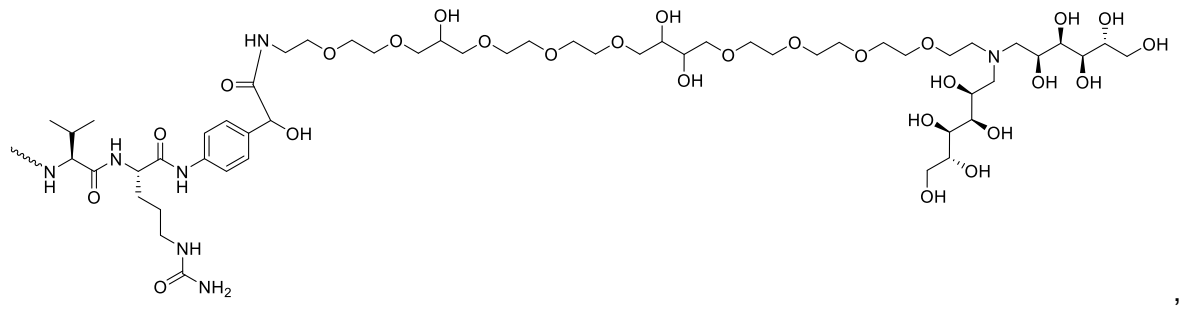
,



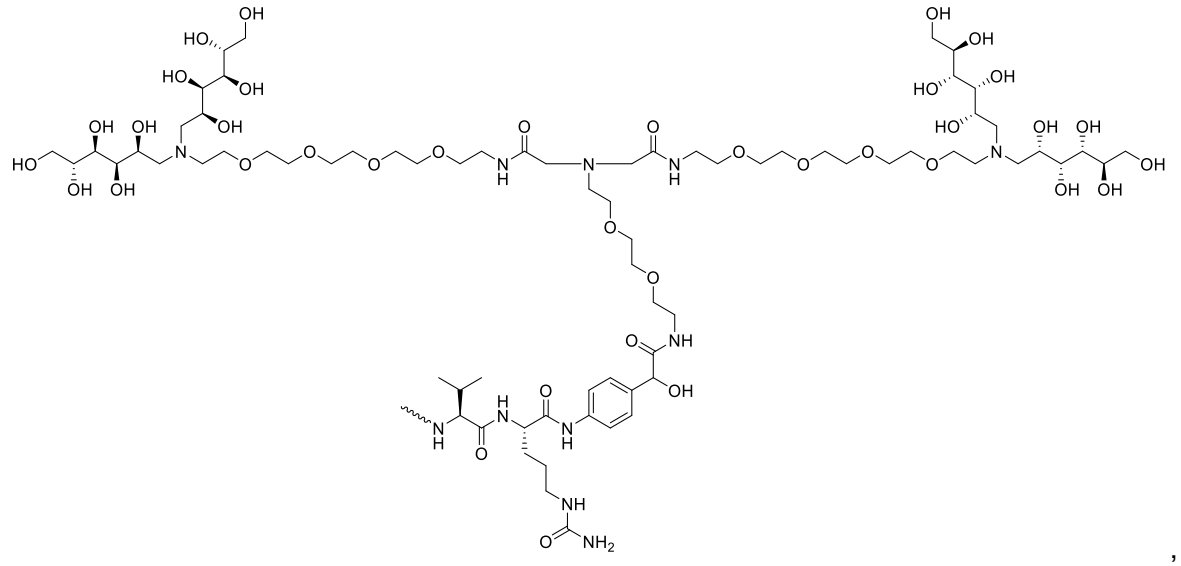
,



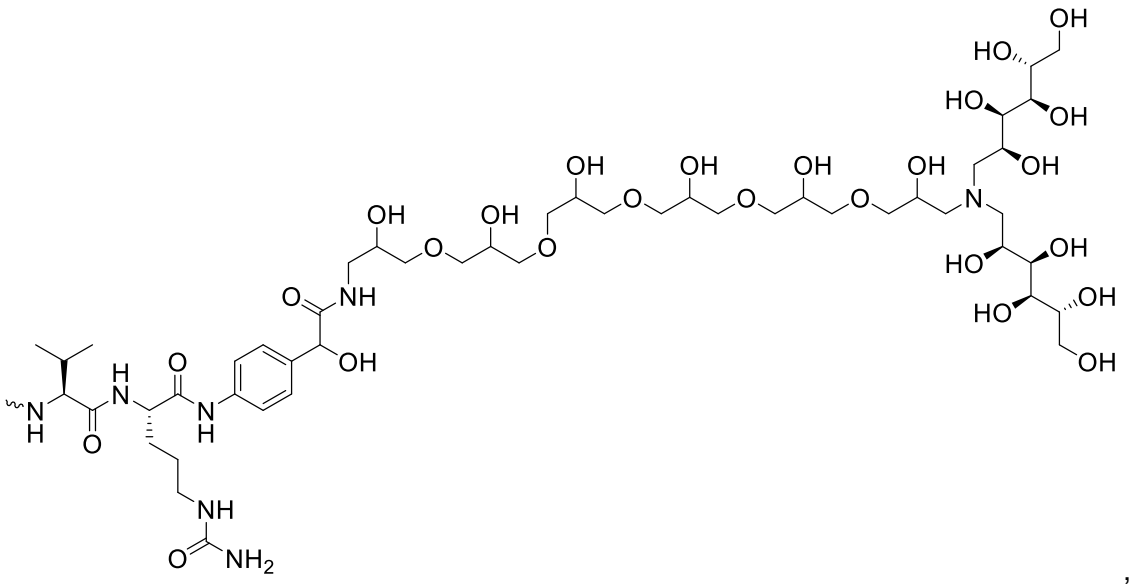
,



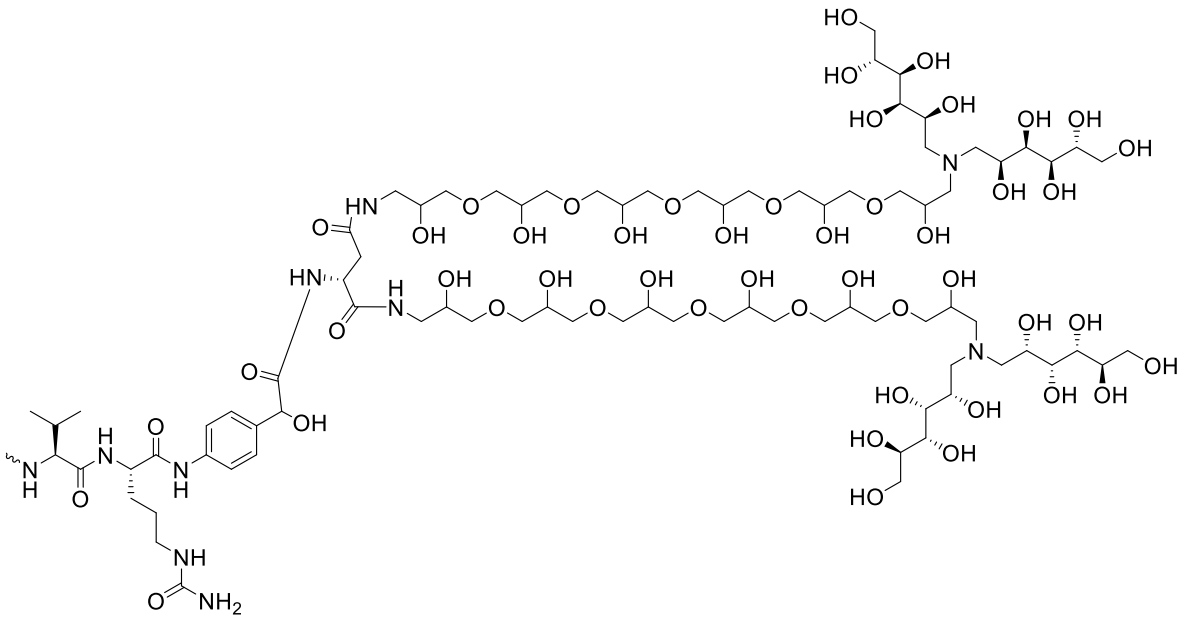
,



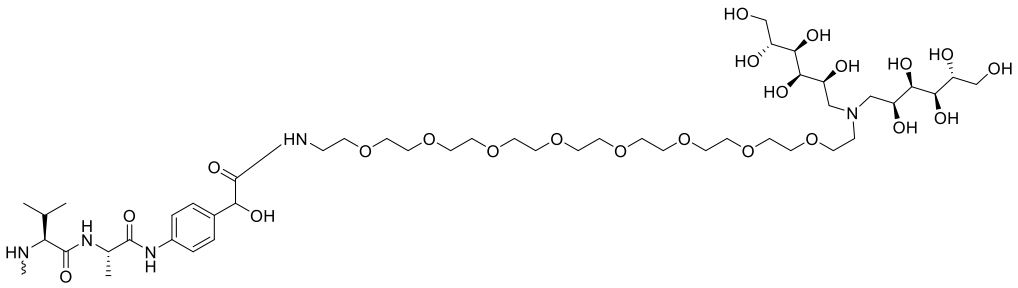
,



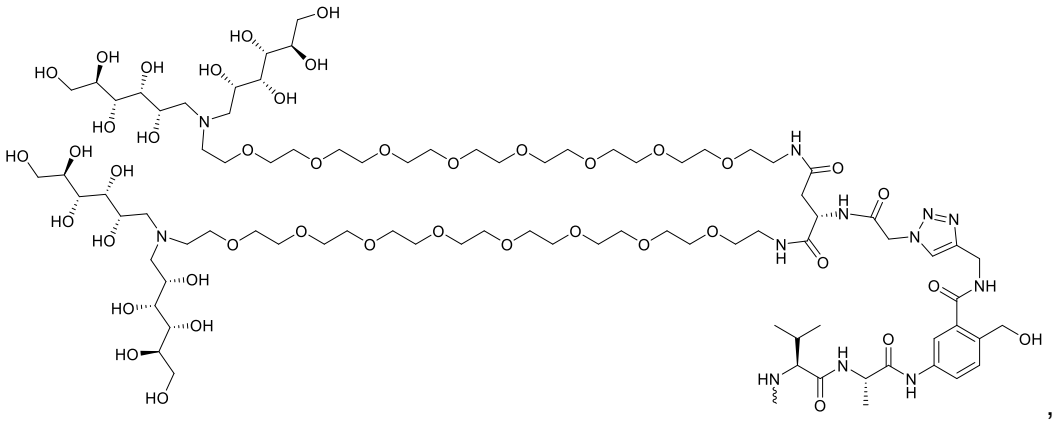
, o



,



,



en donde la línea ondeada en el grupo amino indica un sitio de unión al grupo extensor; o, antes de unirse al grupo extensor, indica H, y el H en el OH bencílico está reemplazado opcionalmente por un enlace a por lo menos una de las unidades de fármaco o un grupo conector unido a dicha por lo menos una de las unidades de fármaco.

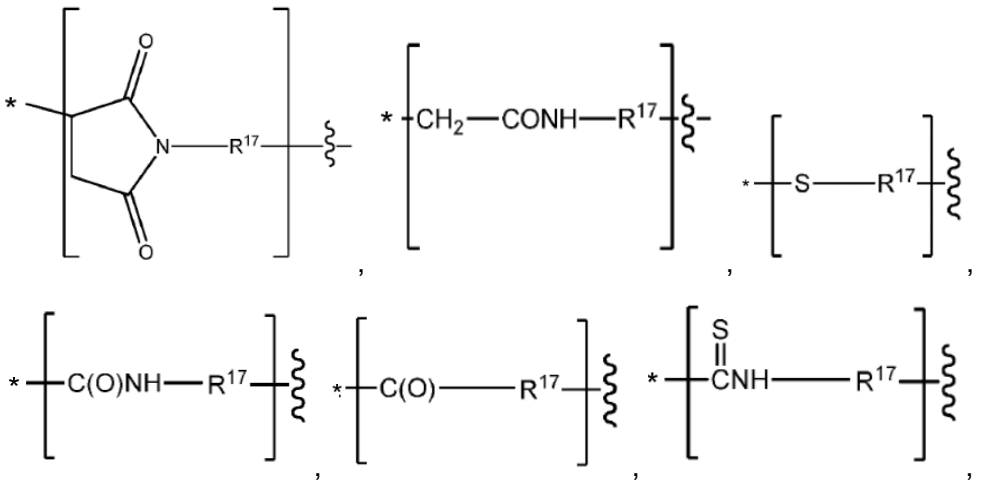
[162] En algunas formas de realización, se proveen los compuestos conectores descritos precedentemente, en donde la unidad conectora está unida a una cadena lateral de una subunidad del grupo enzimáticamente escindible.

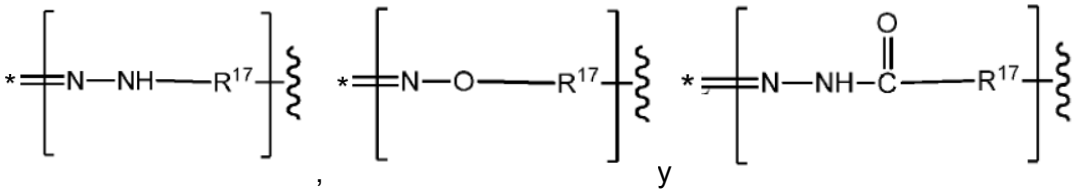
[163] En algunas formas de realización, se proveen los compuestos conectores descritos precedentemente, en donde el grupo enzimáticamente escindible está unido al grupo extensor mediante un grupo conector no peptídico. Por ejemplo, en algunas formas de realización el grupo conector no peptídico se selecciona entre C_1-C_{10} alquileno opcionalmente sustituido, C_2-C_{10} alquenileno opcionalmente sustituido, C_2-C_{10} alquinileno opcionalmente sustituido o polietilenglicol opcionalmente sustituido.

[164] En algunas formas de realización, se proveen los compuestos conectores descritos precedentemente que comprenden el grupo extensor unido al grupo enzimáticamente escindible.

- Grupos extensores

[165] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden un grupo extensor que se selecciona entre los siguientes:

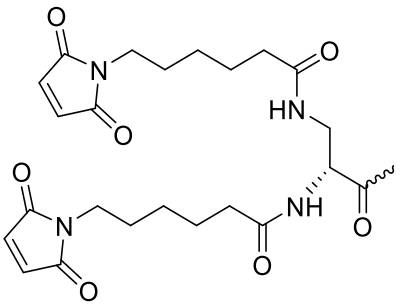


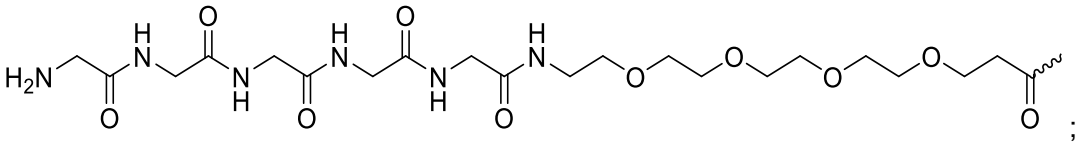


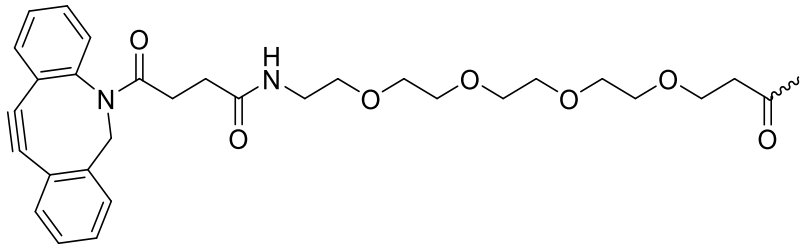
en donde R^{17} es -C_1-C_{10} alquileno-, -C_1-C_{10} heteroalquileno-, -C_3-C_8 carbociclo-, -O-(C_1-C_8 alquileno)-, -(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno- (donde b comprende entre 1 y 26), -arileno-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-, -C_3-C_8 heterociclo-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-, -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-, -C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10}alquileno-C(O)NH-C_1-C_8alquileno-[O-CH_2-CH_2]$_n$-C(O)- (donde n comprende entre 1 y 26), C_1-C_{10} heteroalquileno-C(=O)-, -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C(=O)- (donde b comprende entre 1 y 26), -(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-C(=O)- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-C(=O)- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_3-C_8 carbociclo-C(=O)-, -O-(C_1-C_8 alquil)-C(=O)-, -arileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-C(=O)-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-C(=O)-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_3-C_8 heterociclo-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-C(=O)-, -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_1-C_{10} heteroalquileno-NH-, -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-NH- (donde b comprende entre 1 y 26), -(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-NH- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-NH- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(C(=O))-NH-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C(=O)- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(C(=O))-NH-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-C(=O)- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-NH-(C(=O))-(CH_2-O-CH_2)$_b$-NH- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-NH-(C(=O))-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-NH- (donde b comprende entre 1 y 26), -C_3-C_8 carbociclo-NH-, -O-(C_1-C_8 alquil)-NH-, -arileno-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-NH-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-NH-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_3-C_8 heterociclo-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-NH-, -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-S-, C_1-C_{10} heteroalquileno-S-, -C_3-C_8 carbociclo-S-, -O-(C_1-C_8 alquil)-S-, -arileno-S-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-S-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-S-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-S-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-S-, -C_3-C_8 heterociclo-S-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-S- o -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-S-; o en donde el grupo extensor comprende maleimido(C_1-C_{10}alquileno-C(O)-, maleimido(CH_2OCH_2)$_{p2}$(C_1-C_{10}alquileno)C(O)-, maleimido(C_1-C_{10}alquileno) (CH_2OCH_2)$_{p2}$C(O)- o una forma de anillo abierto de los mismos, en donde p2 es de entre 1 y 26; y en donde * es un sitio de unión al grupo de direccionamiento, y la línea ondeada es un sitio de unión al grupo enzimáticamente escindible.

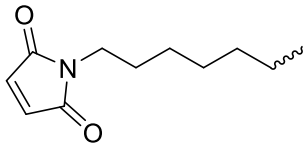
[166] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que comprenden

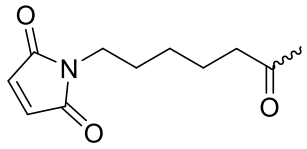
un grupo extensor que se selecciona entre los siguientes:

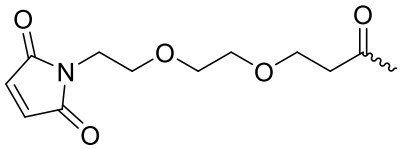

;

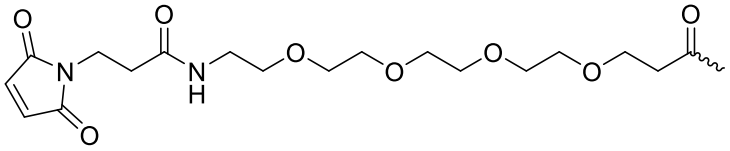

;

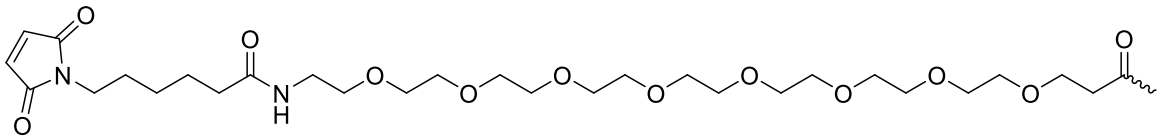

;


;


;


;

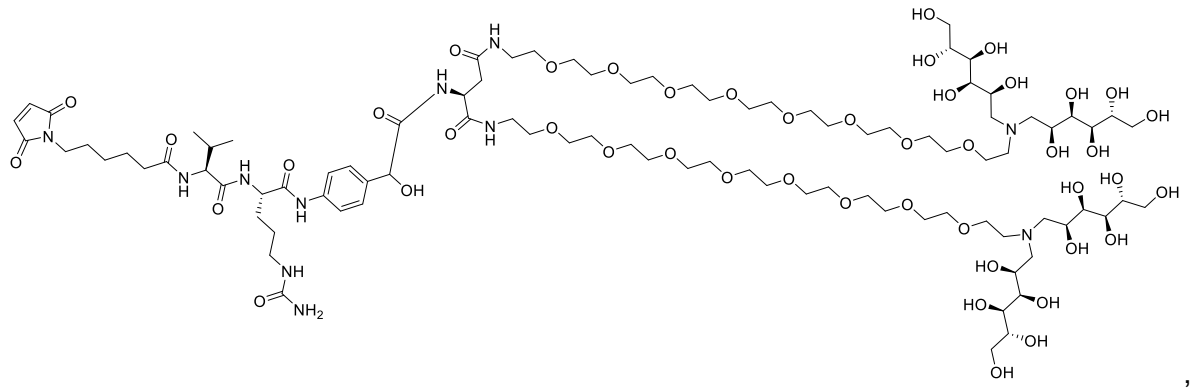

; y



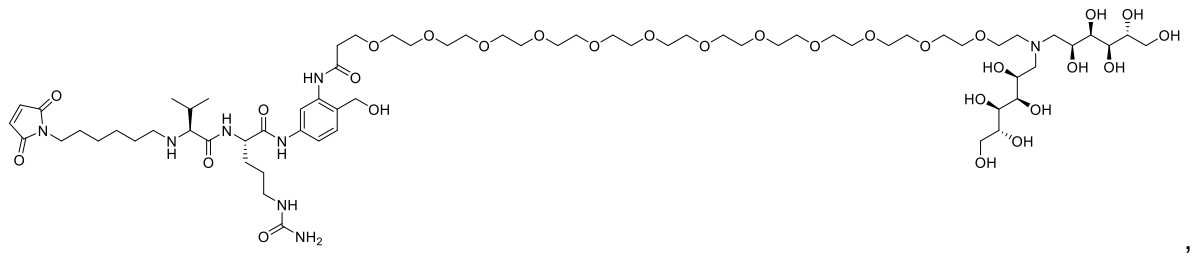
- en donde la línea ondeada 〰 indica un sitio de unión del grupo extensor al grupo enzimáticamente escindible, y el sitio de unión al grupo de direccionamiento se encuentra en el grupo funcional maleimida, amina primaria o alquino.
- <u>Compuestos conectores</u>

[167] En algunas formas de realización, se proveen compuestos conectores que se

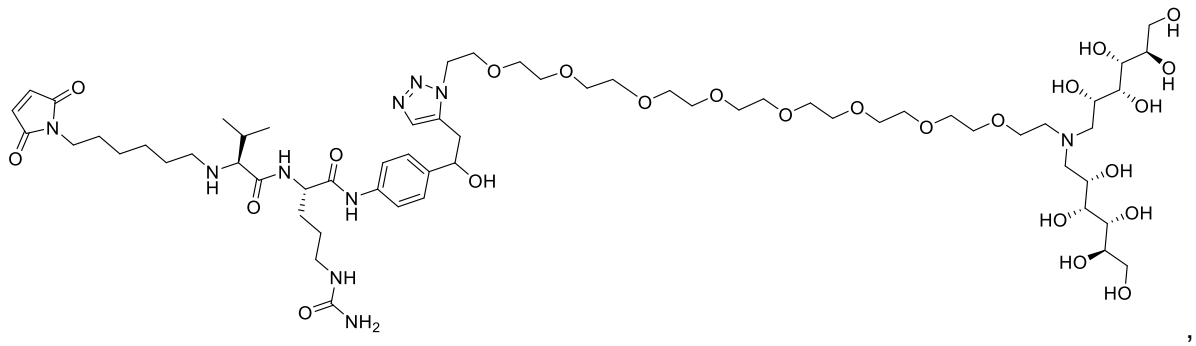
seleccionan entre una de las siguiente estructuras:



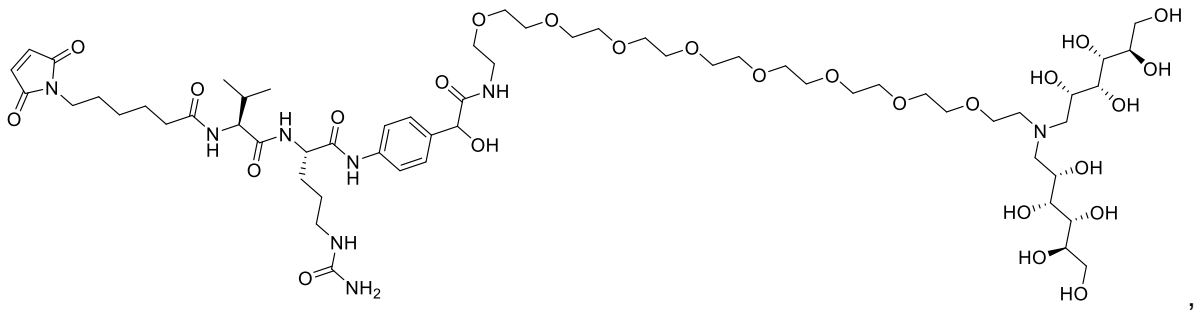
,



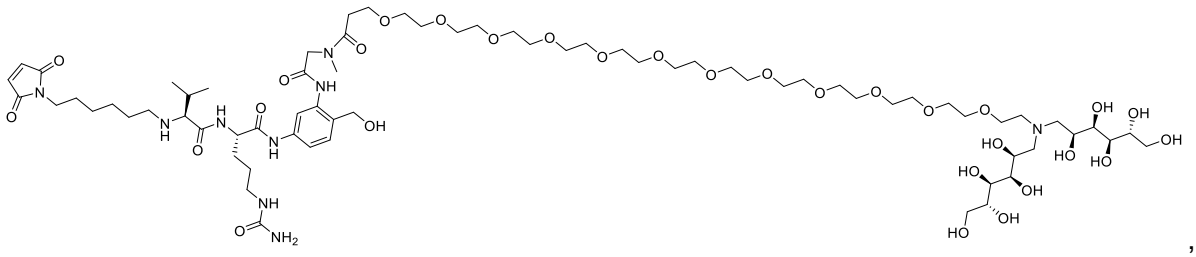
,



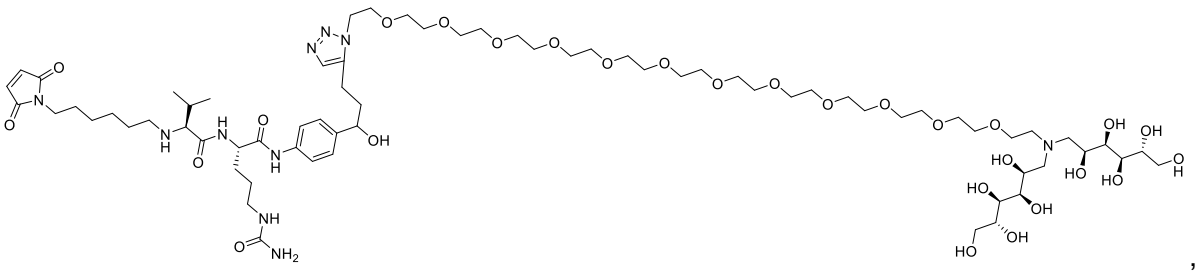
,



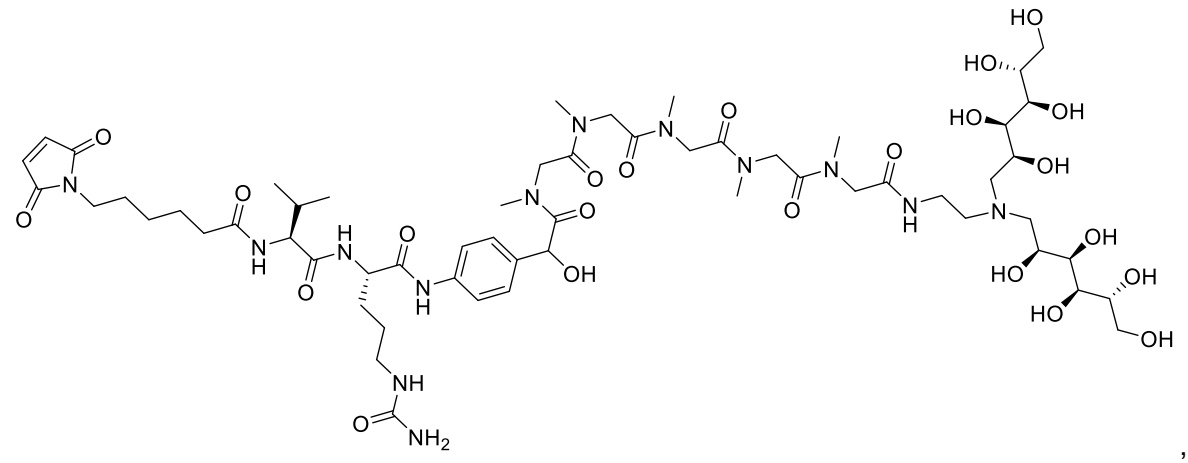
,



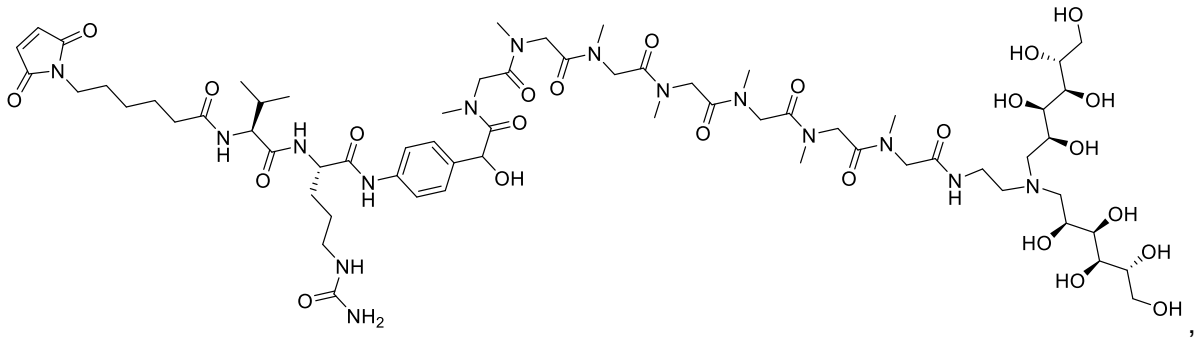
,



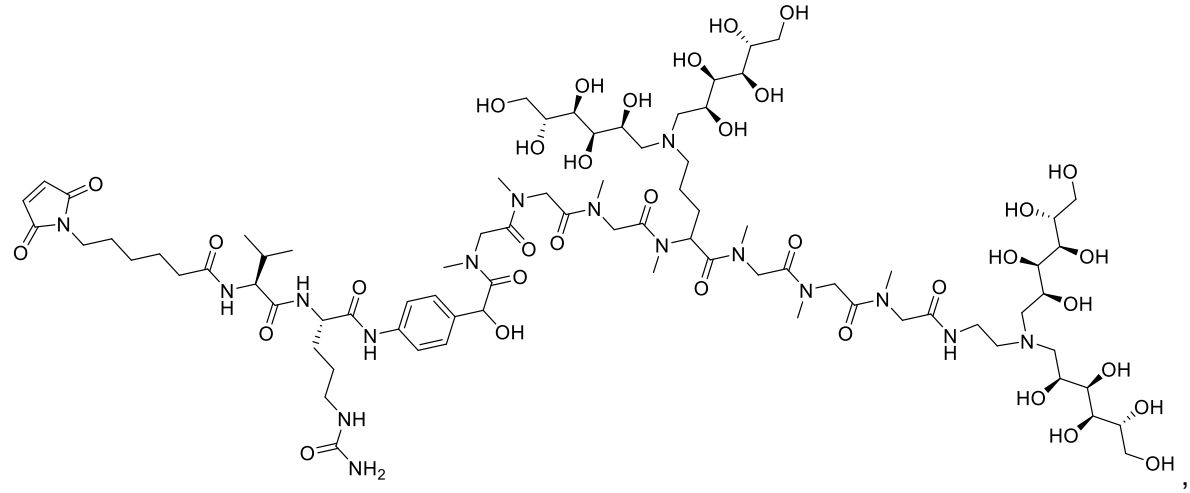
,



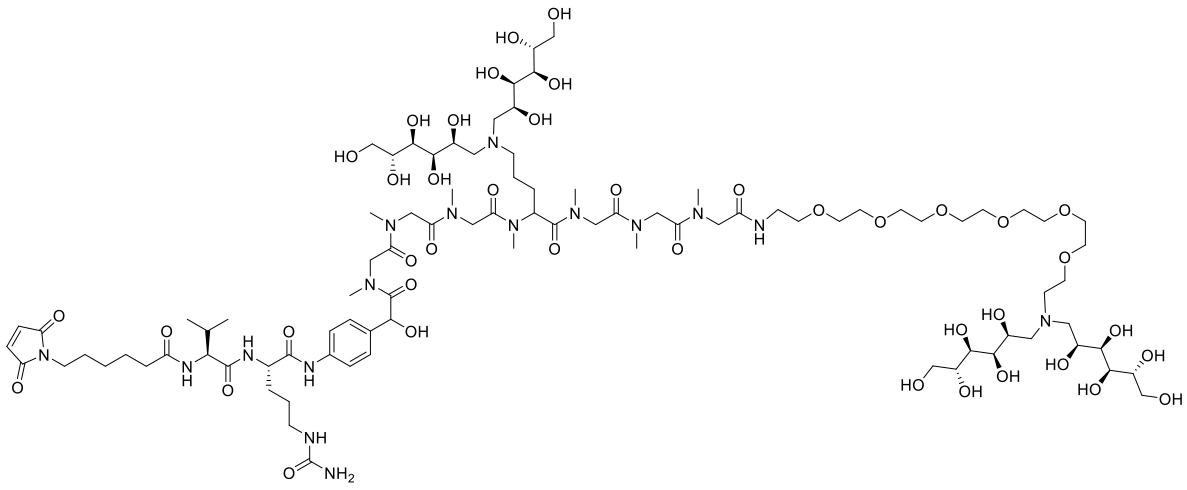
,



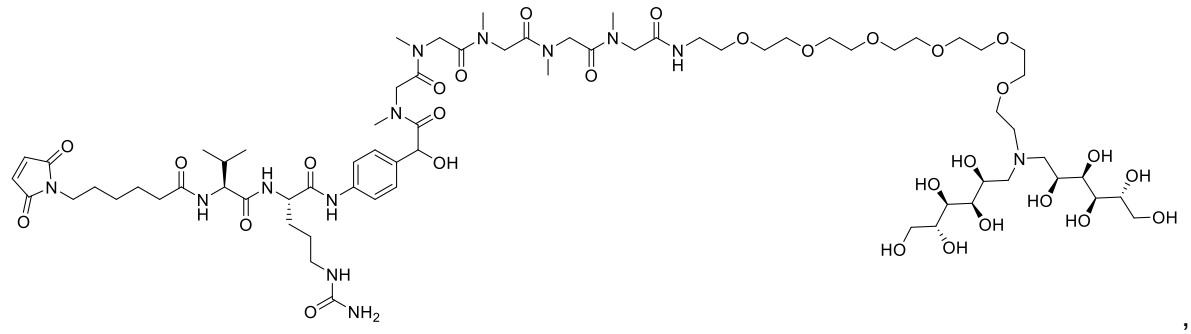
,



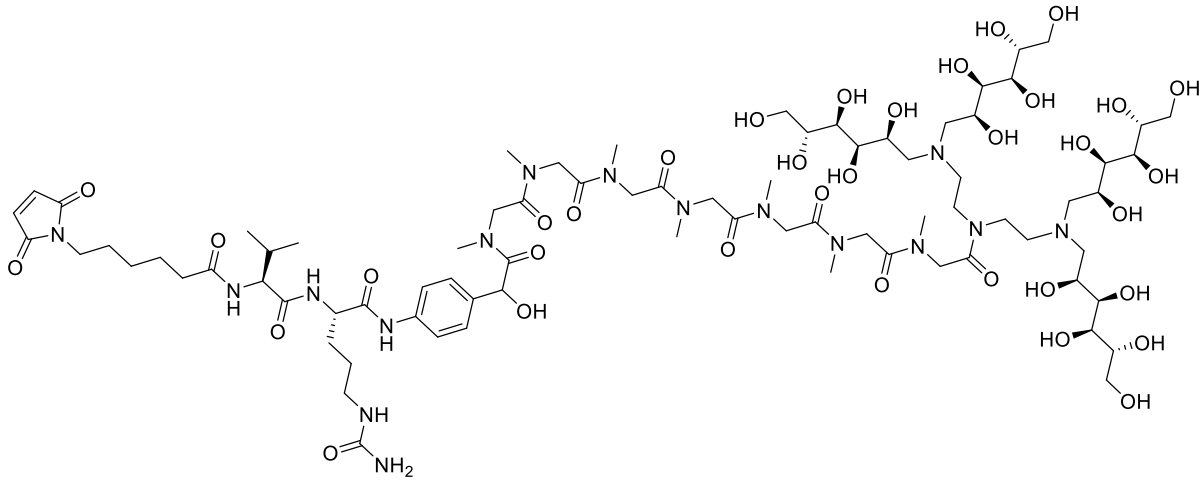
,

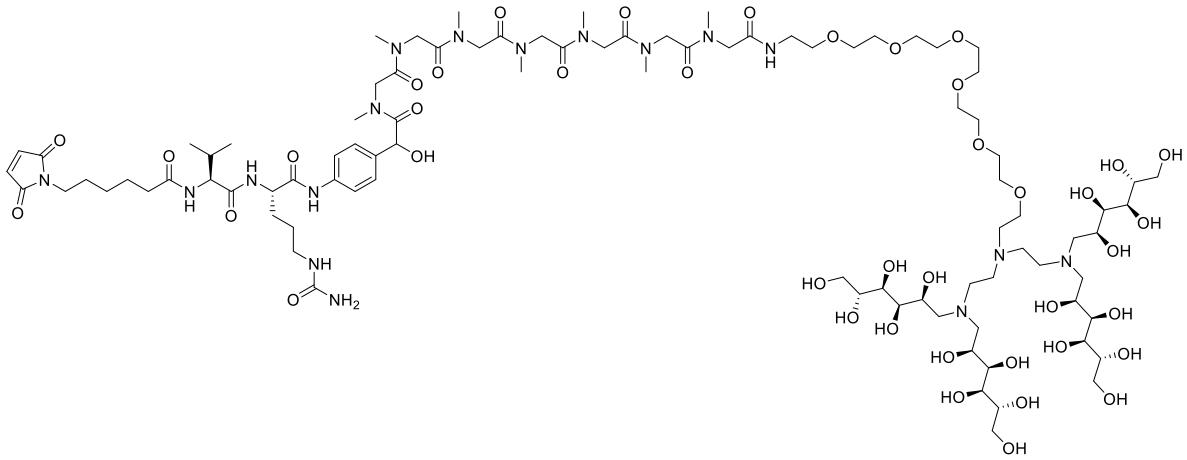


,

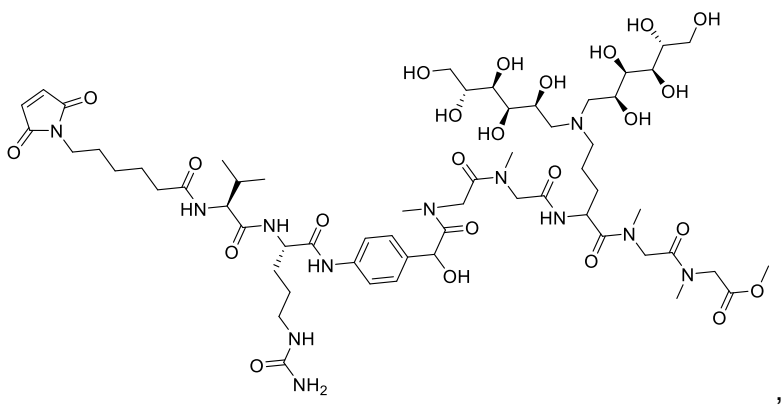


,

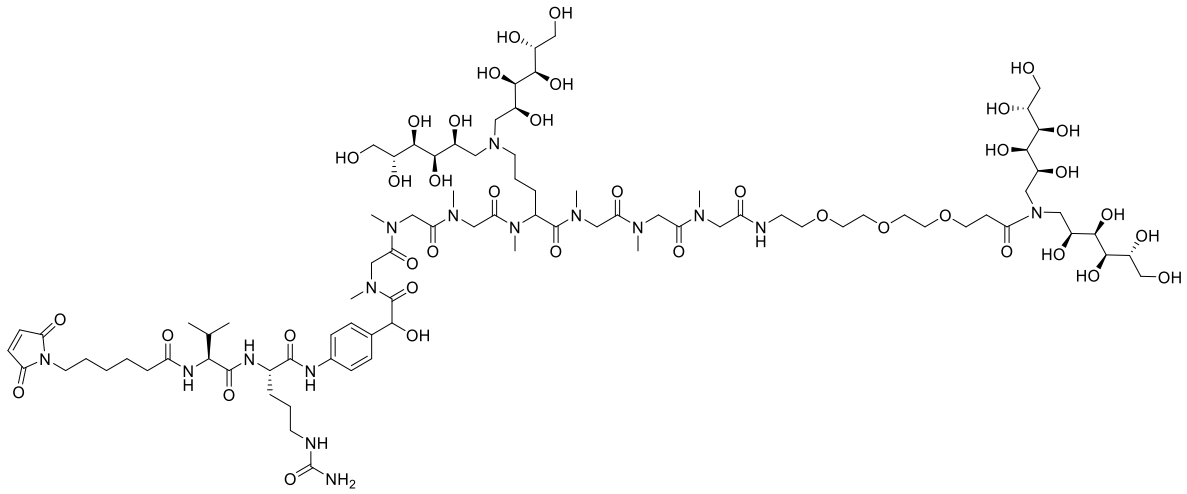




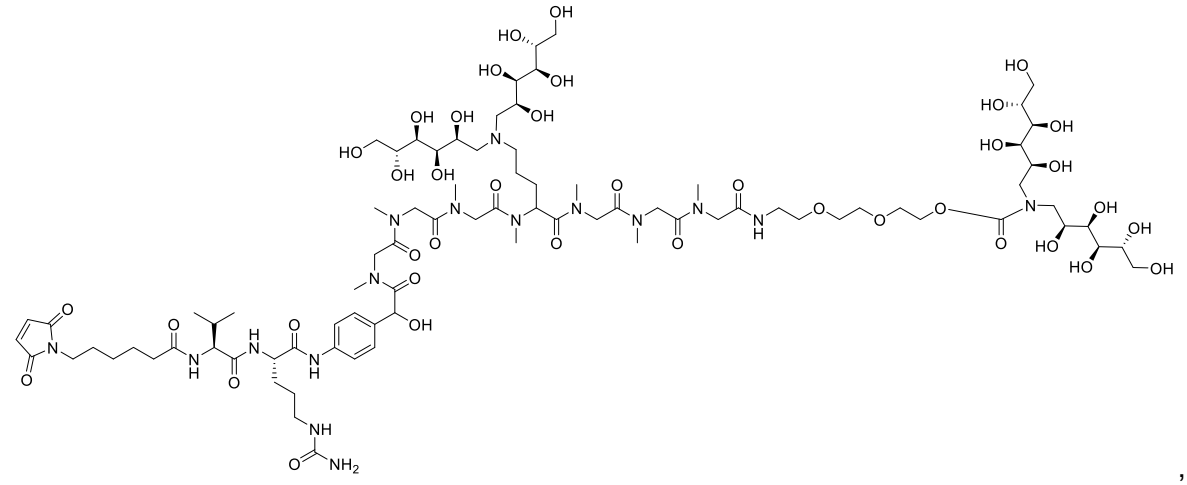
,



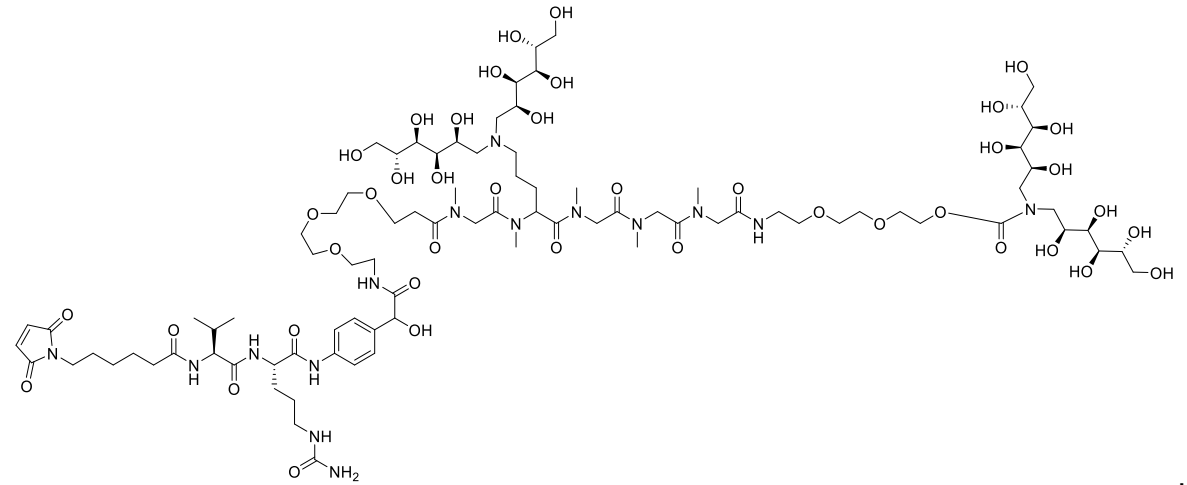
,



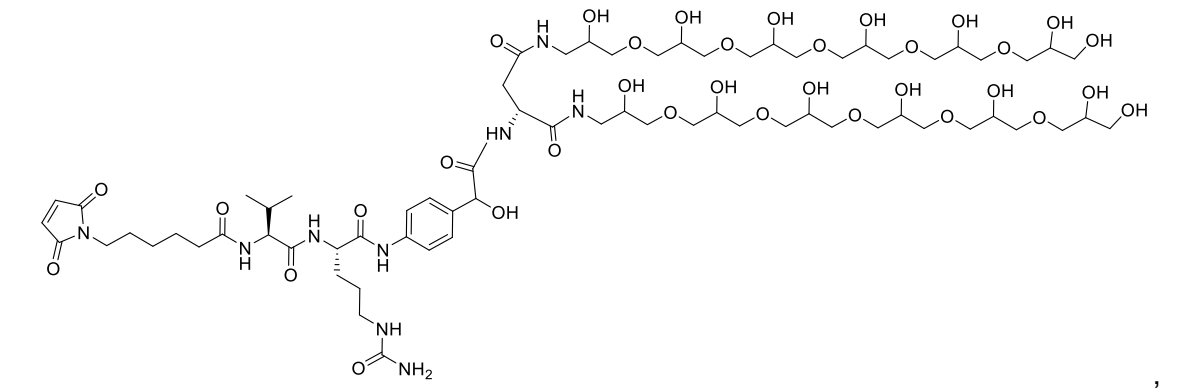
,



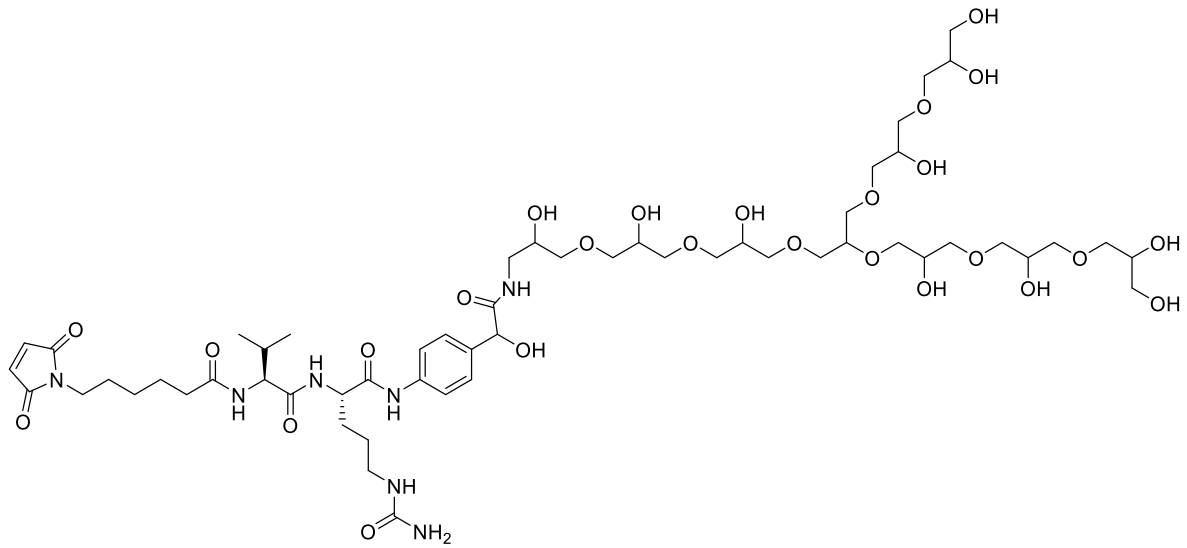
,



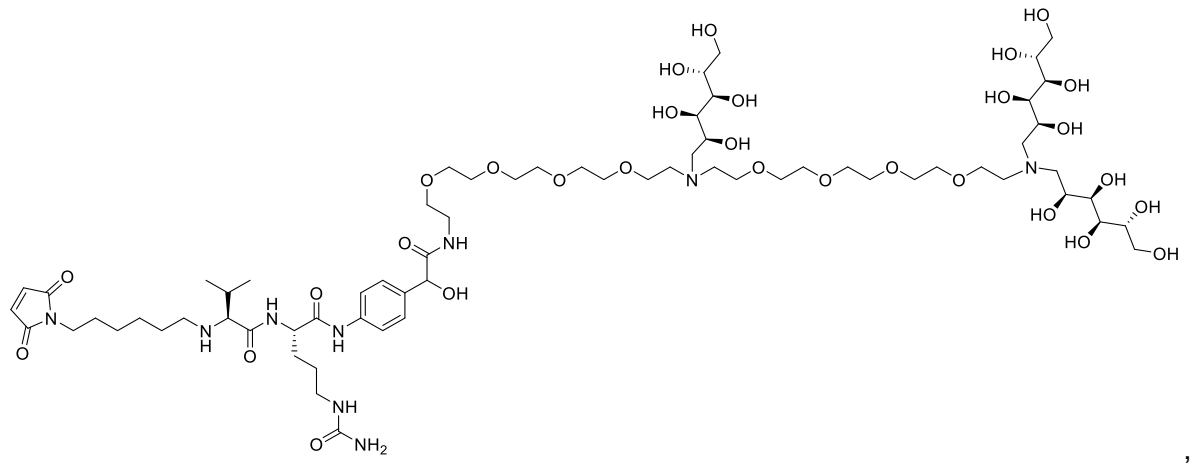
,



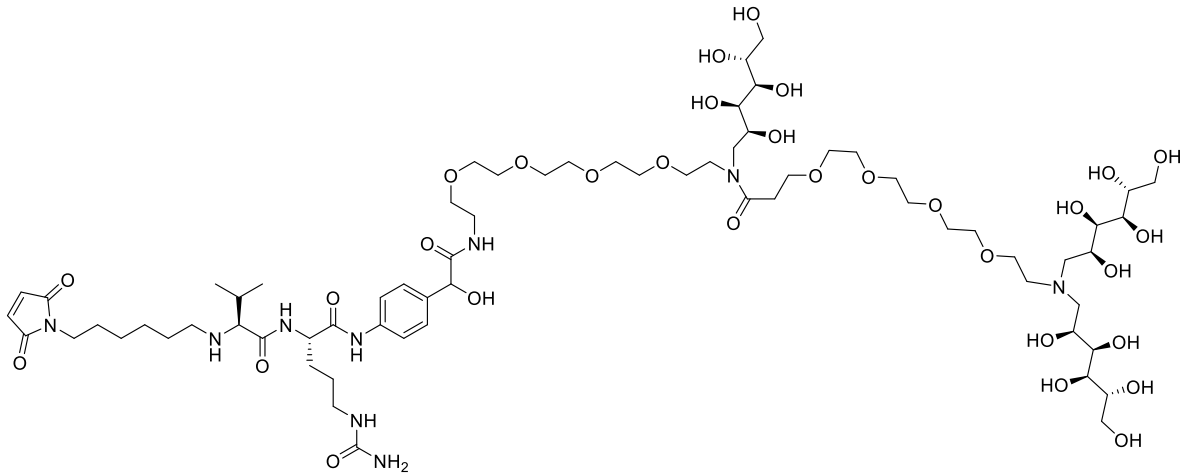
,



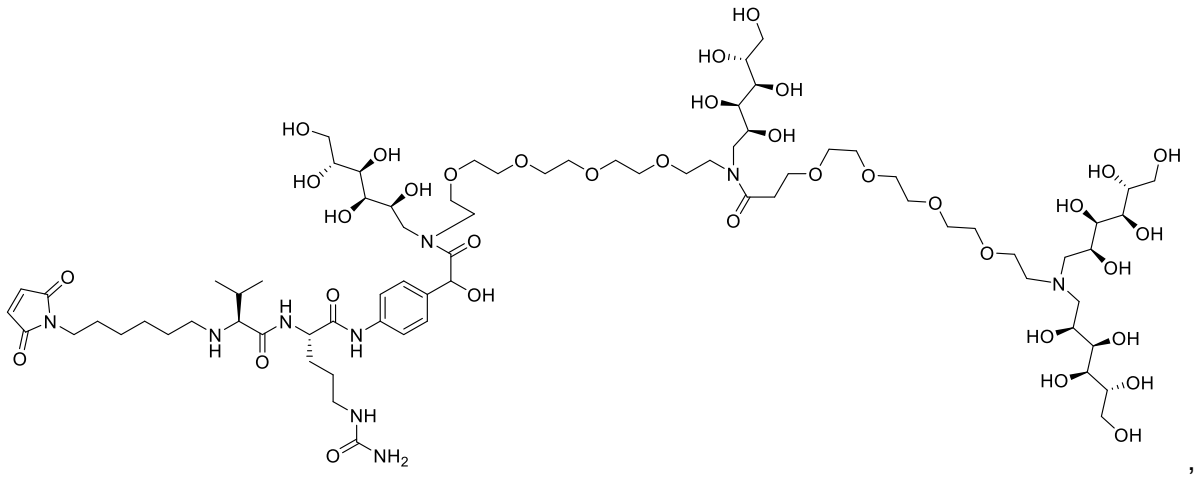
,



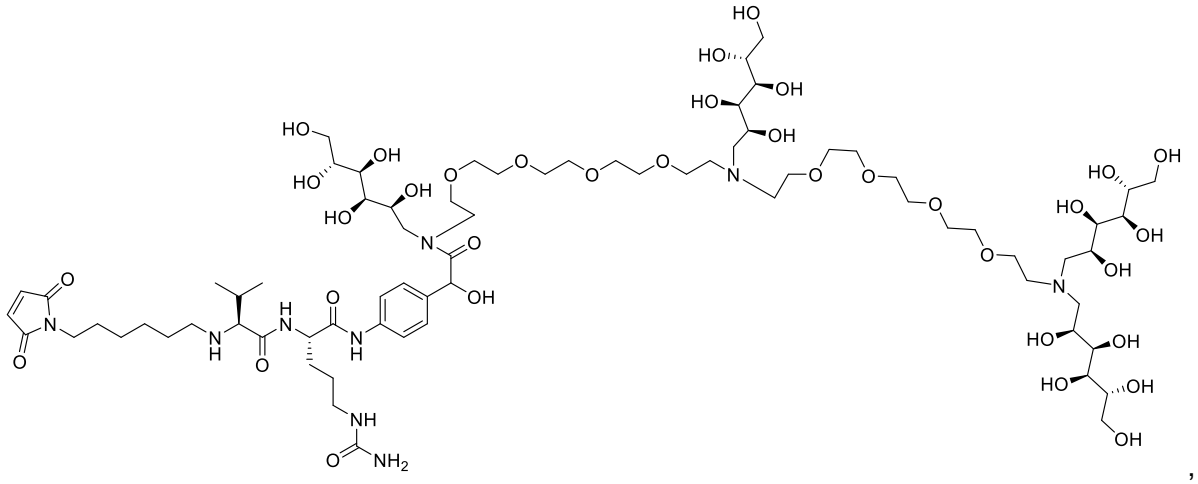
,



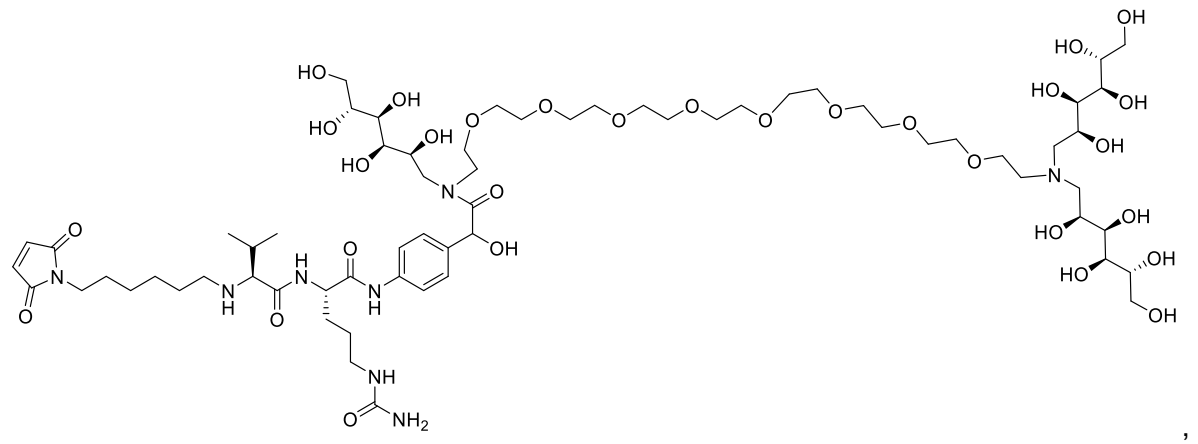
,



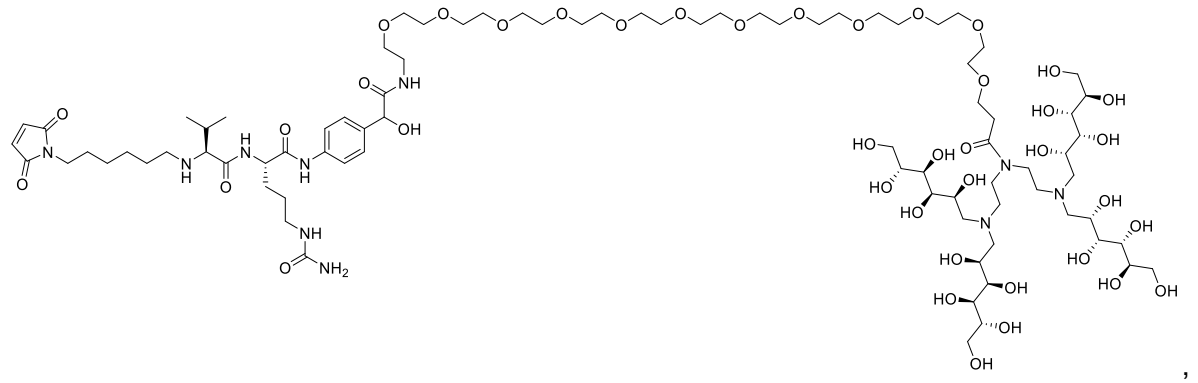
,



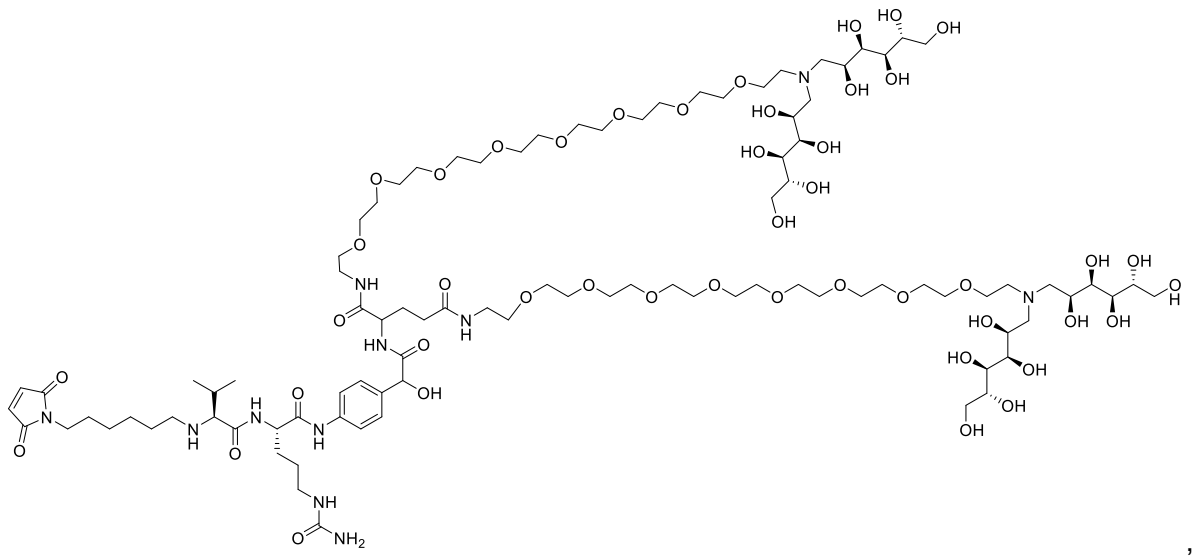
,



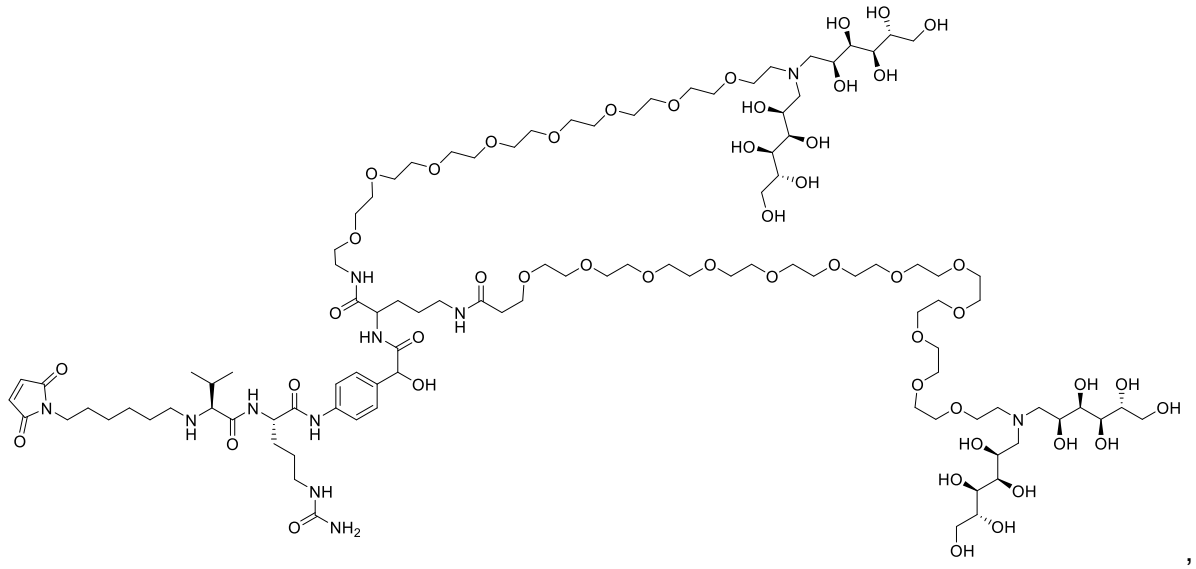
,



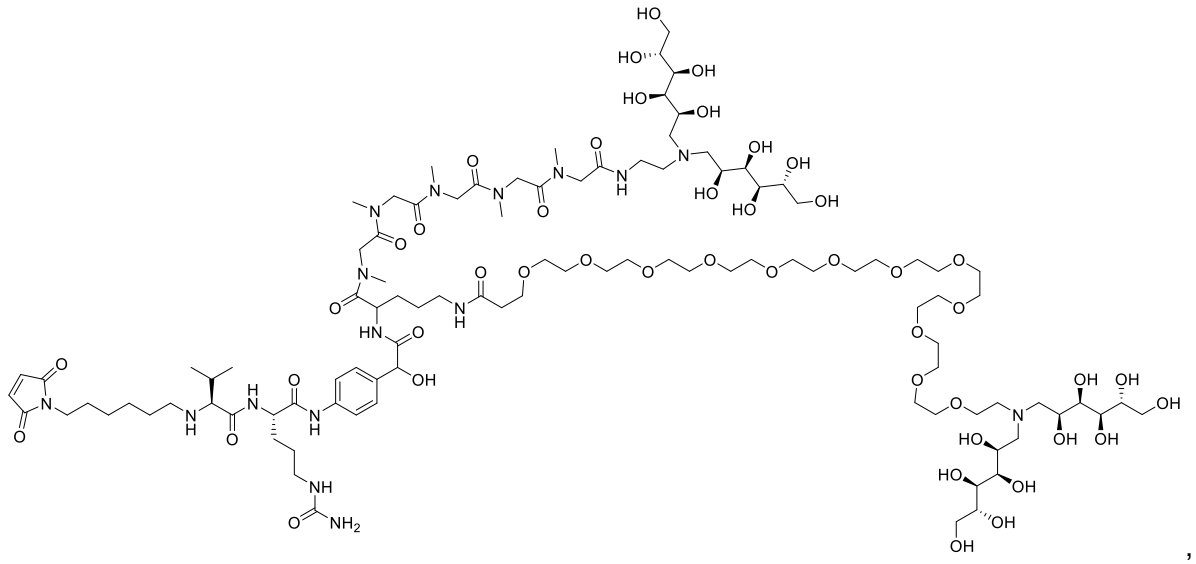
,



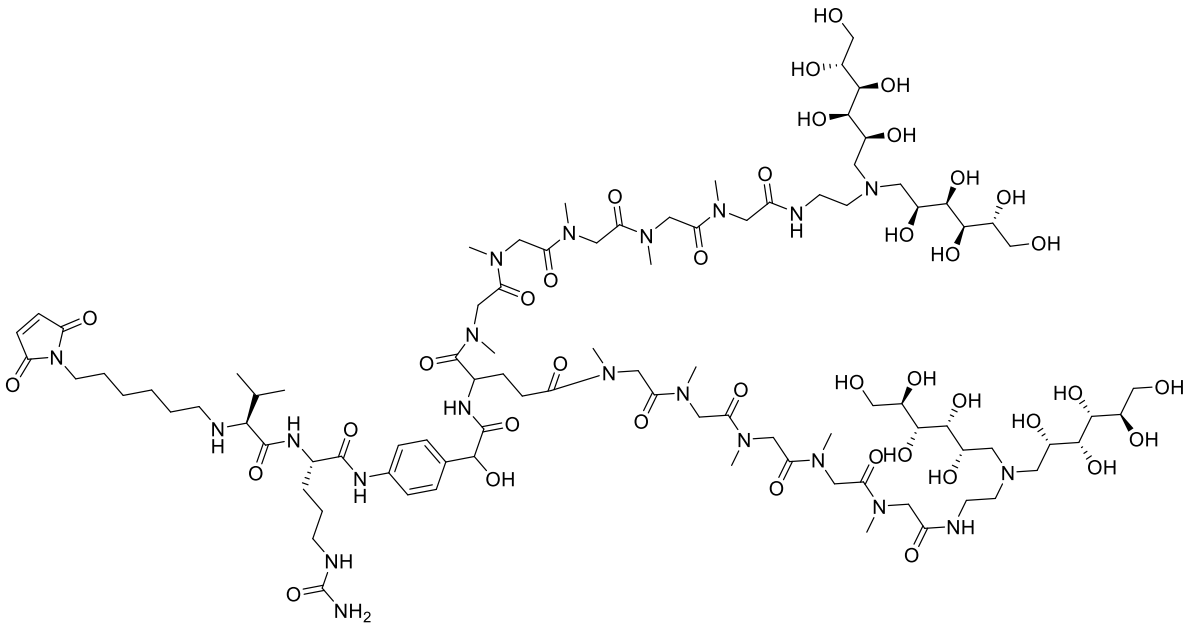
,



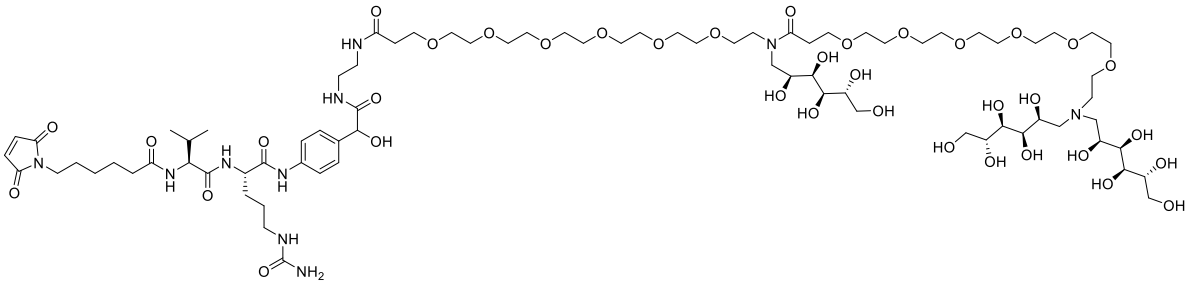
,



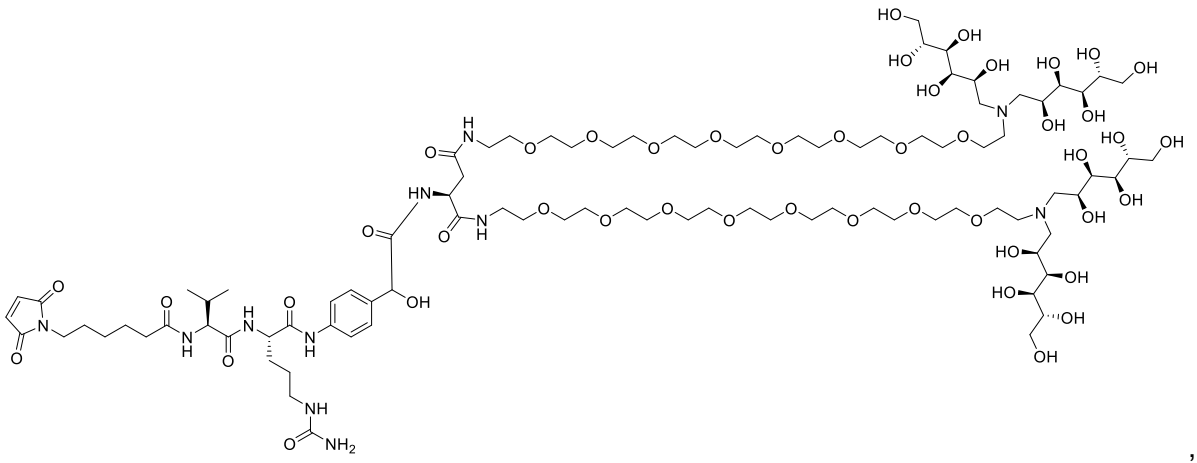
,



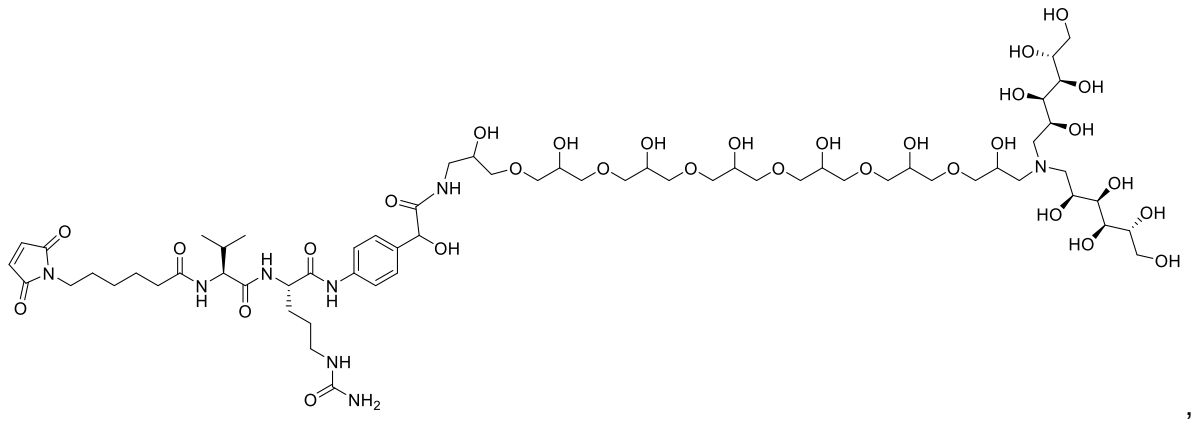
,



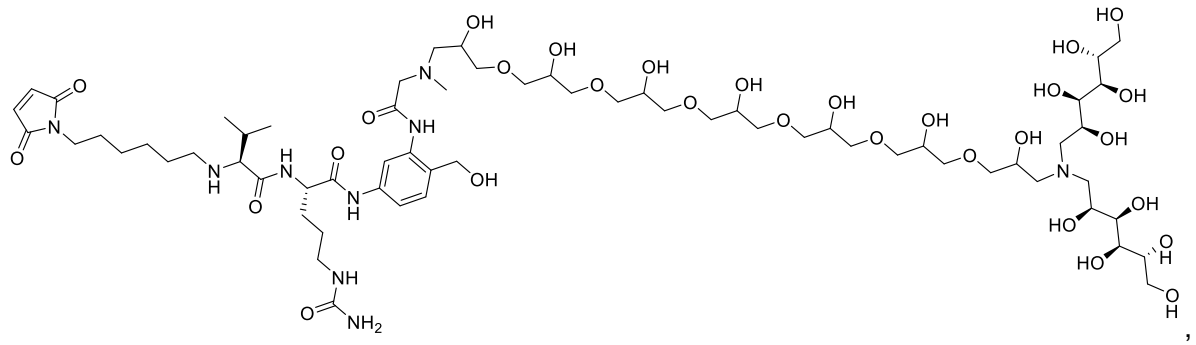
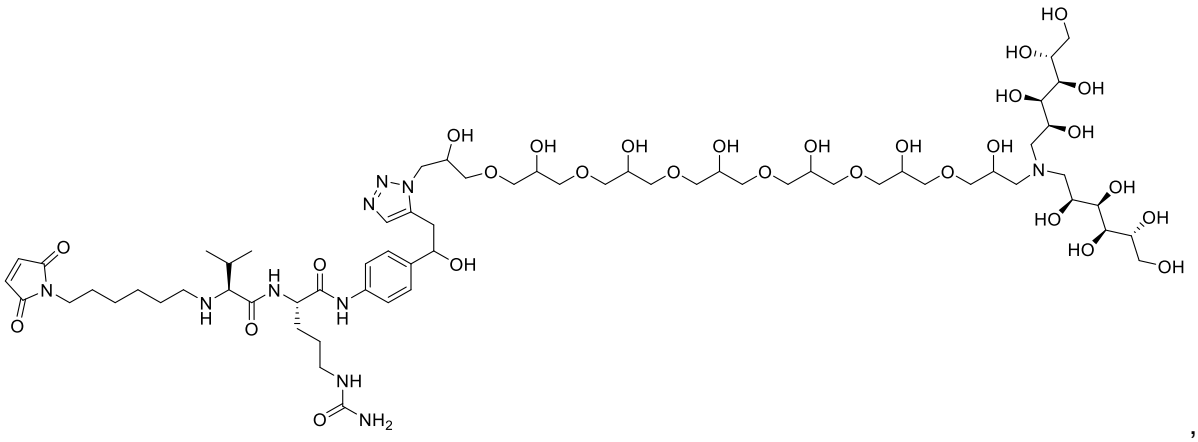
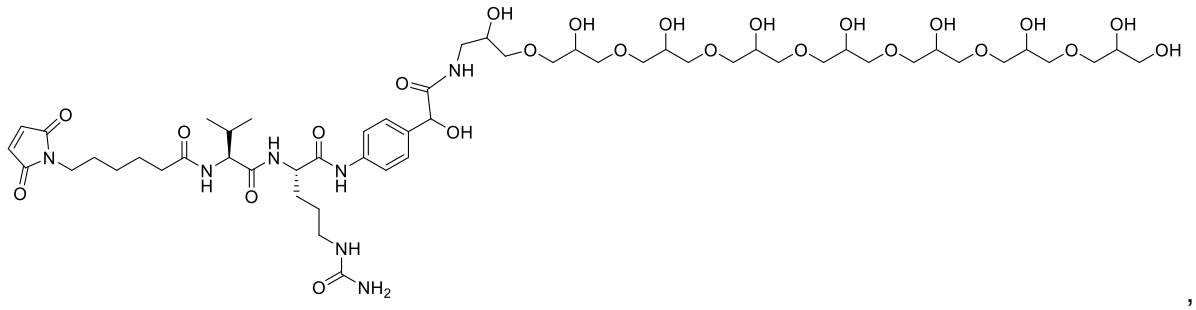
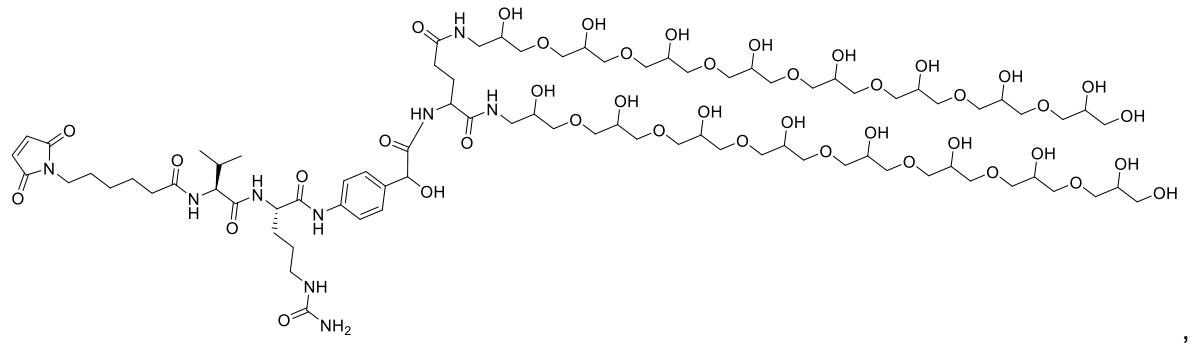
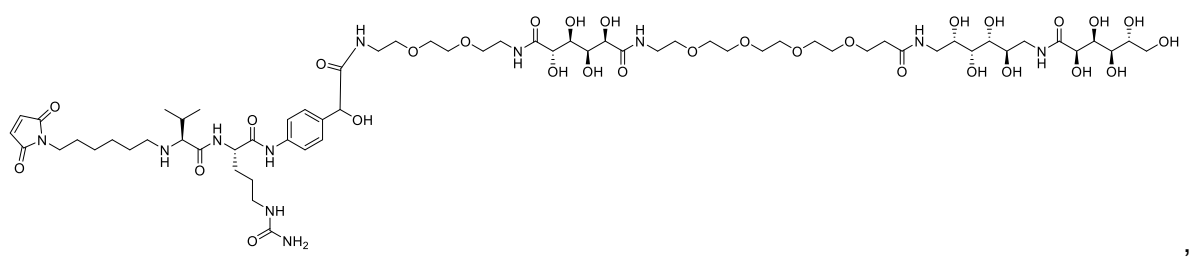
,

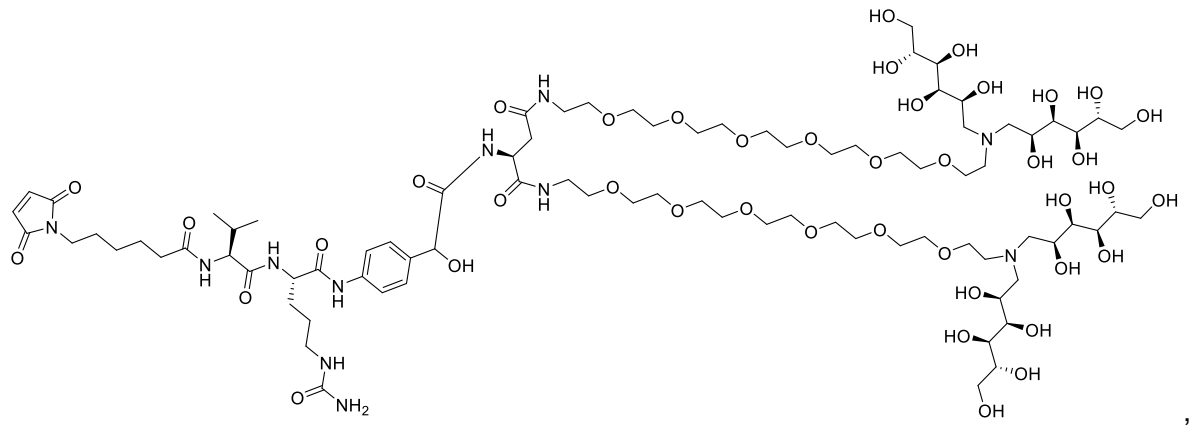


,

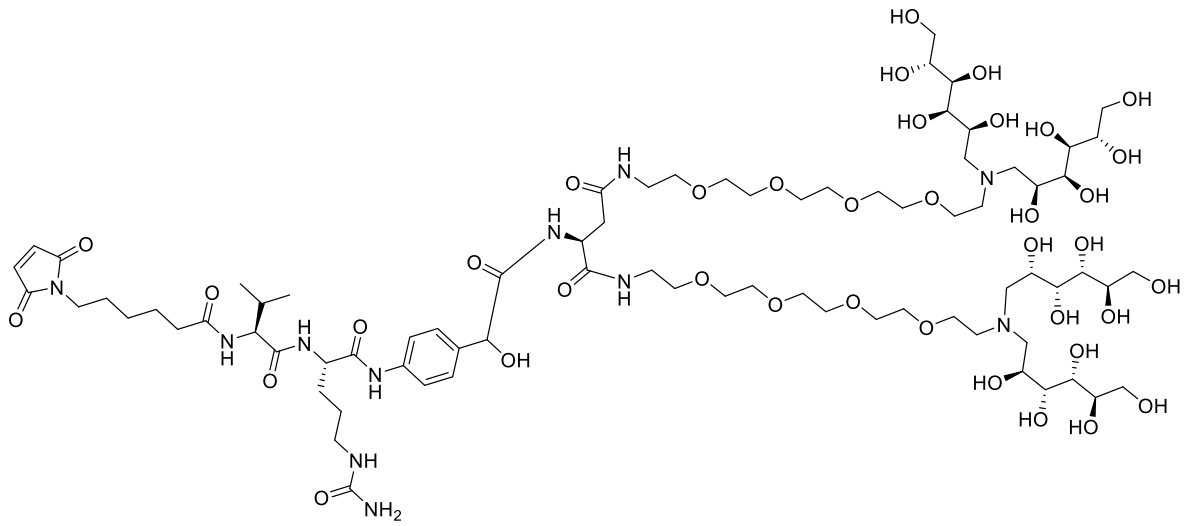


,

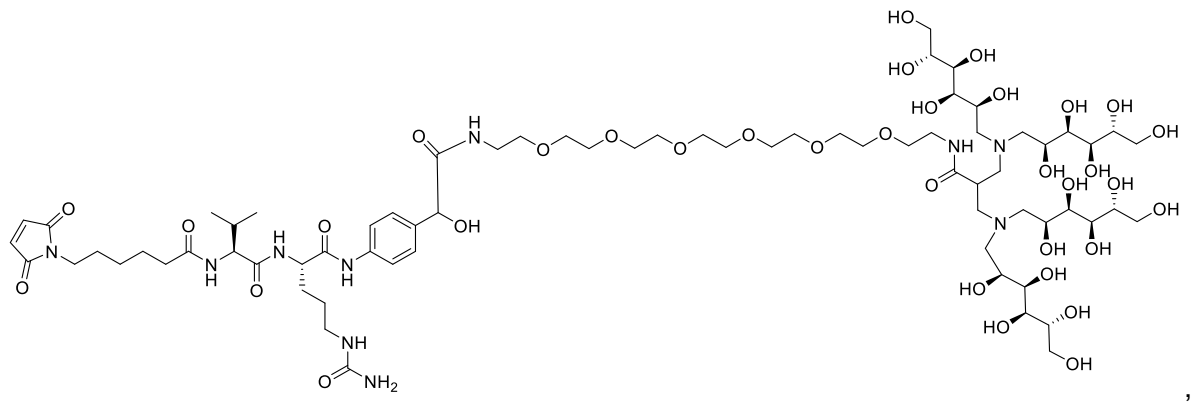

,

,

,

,

,



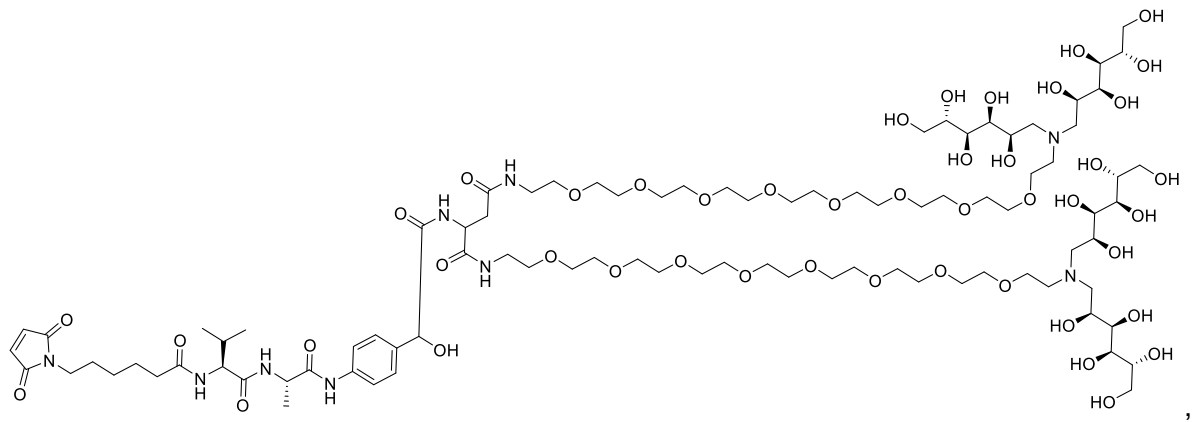
,



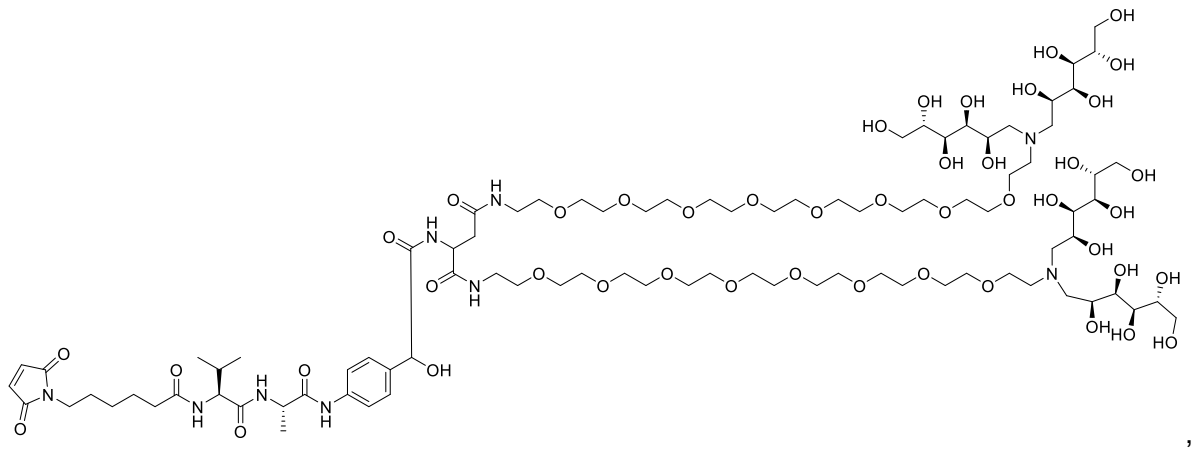
,



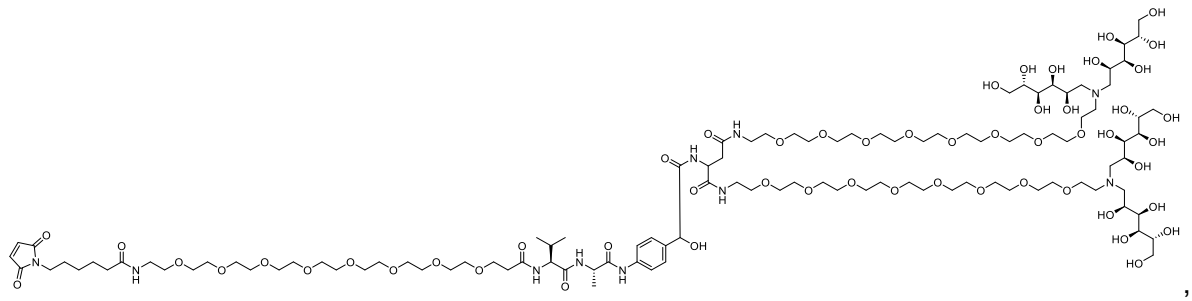
,



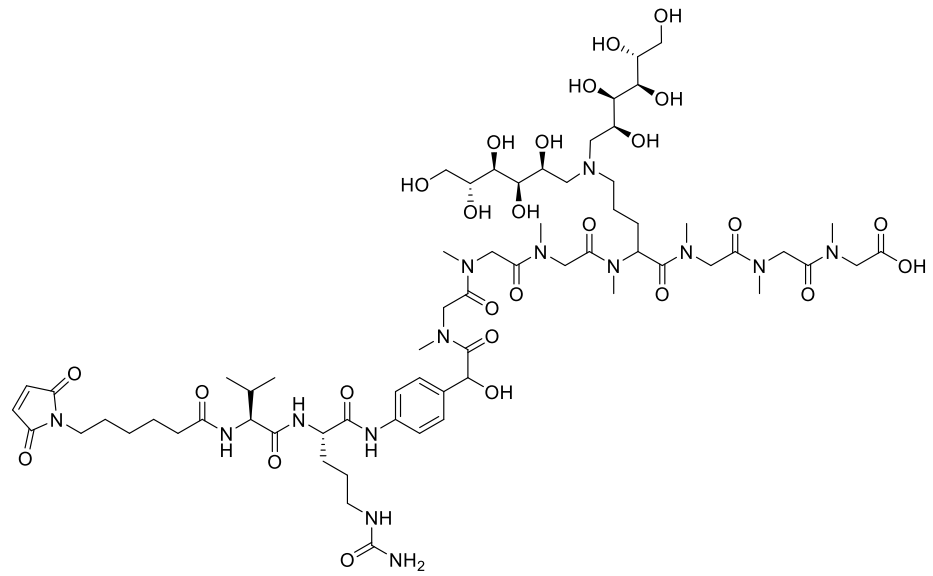
,



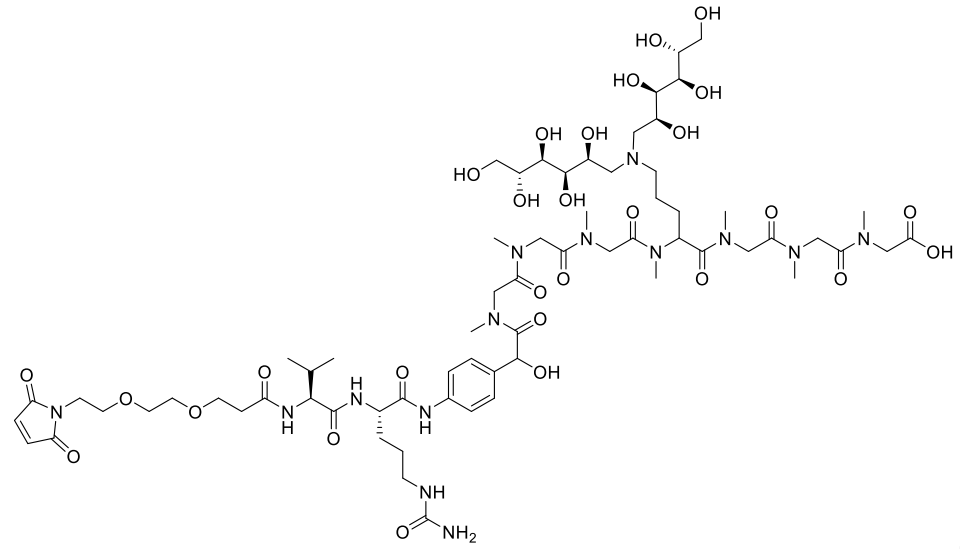
,



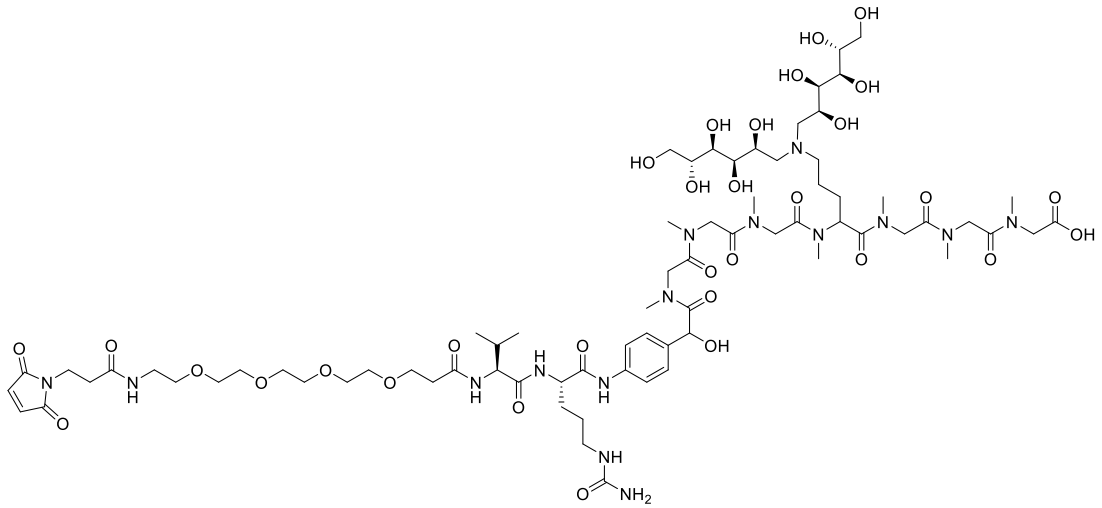
,



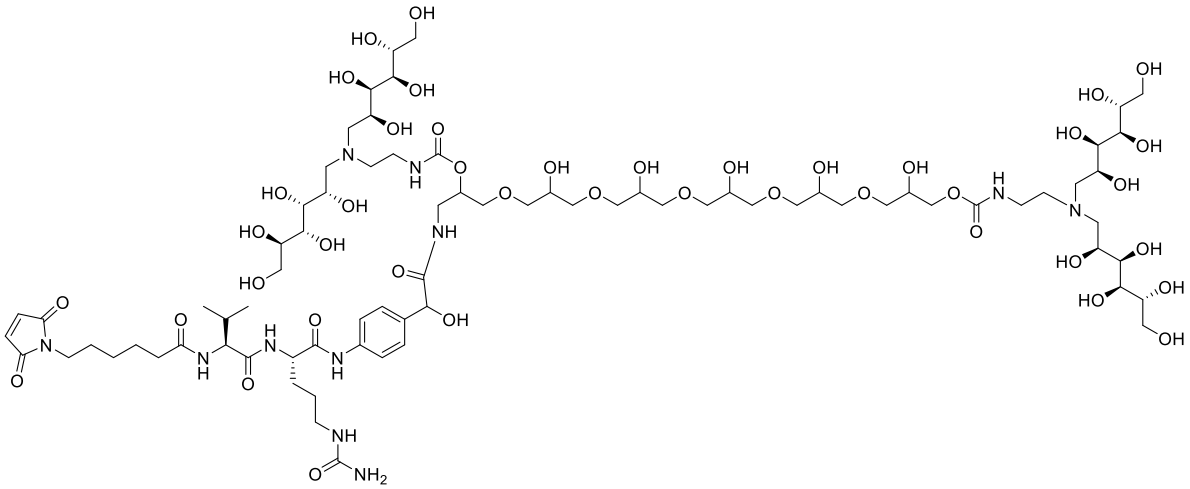
,



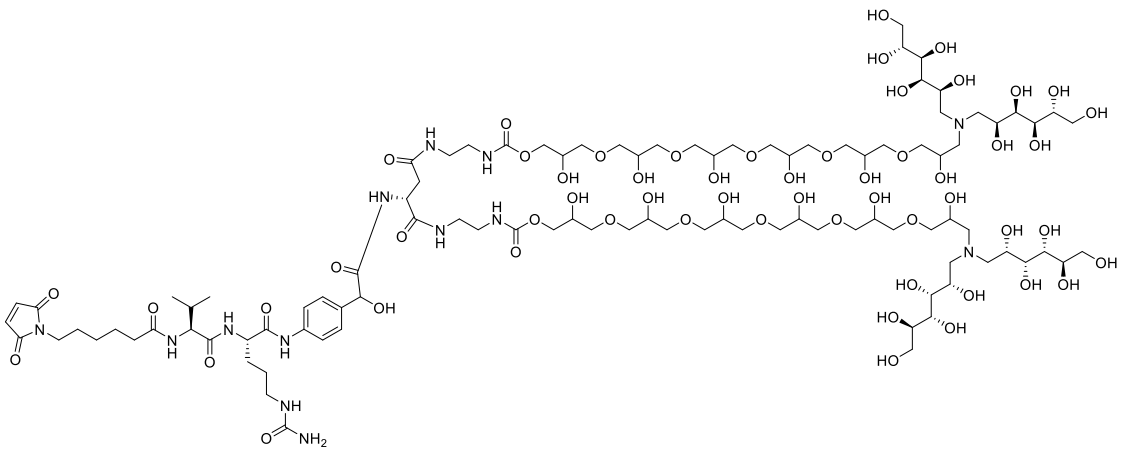
,



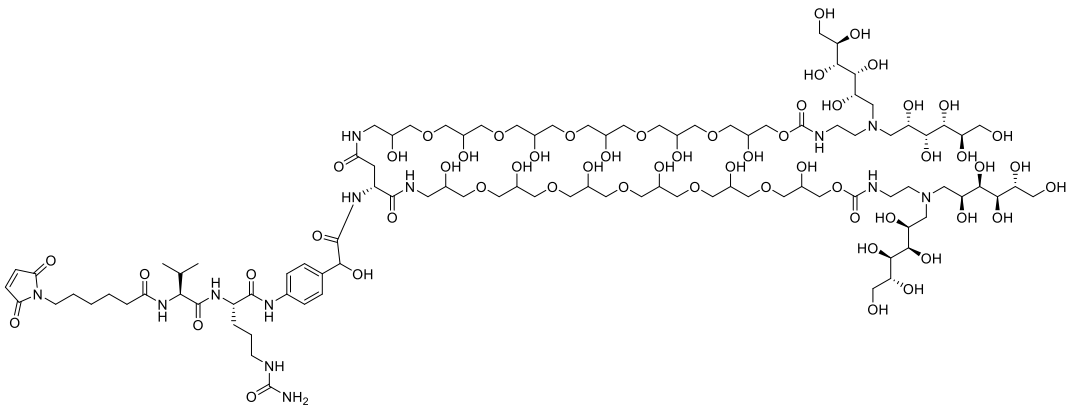
,



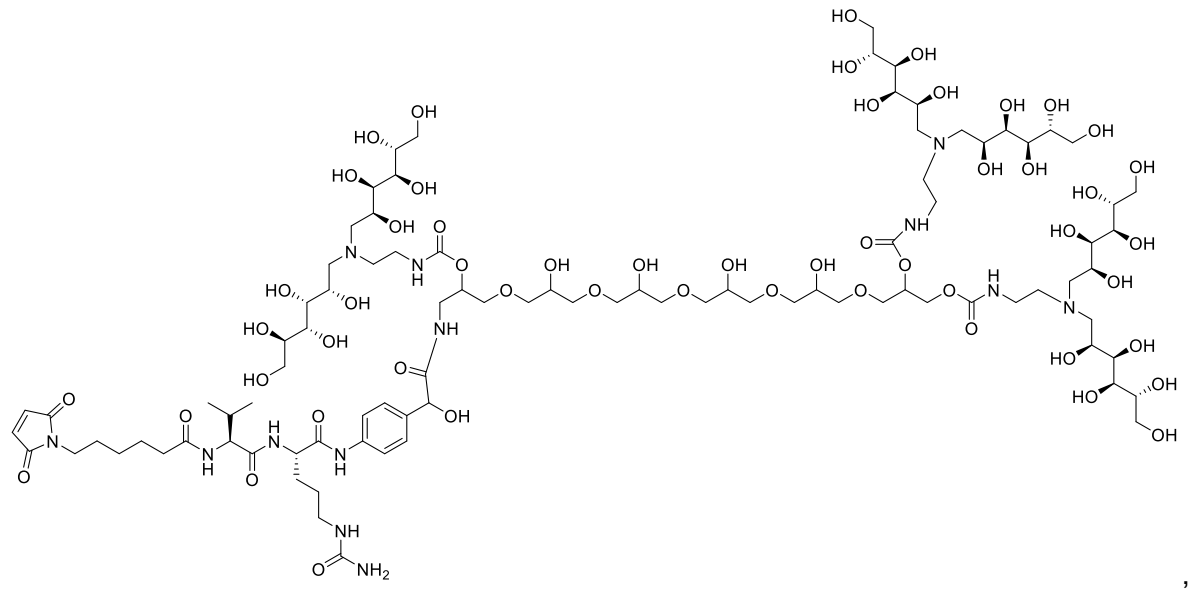
,



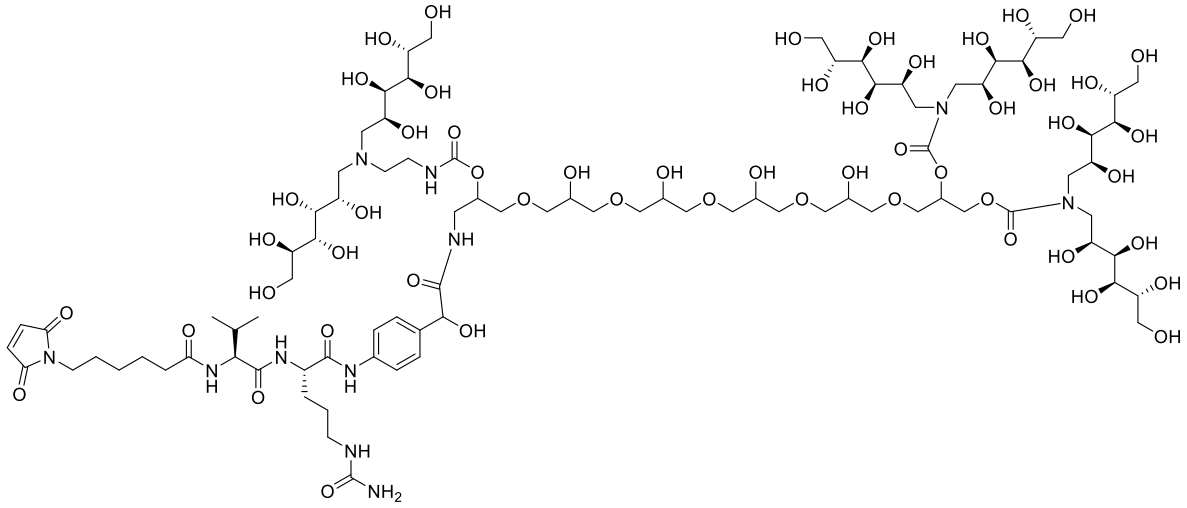
,



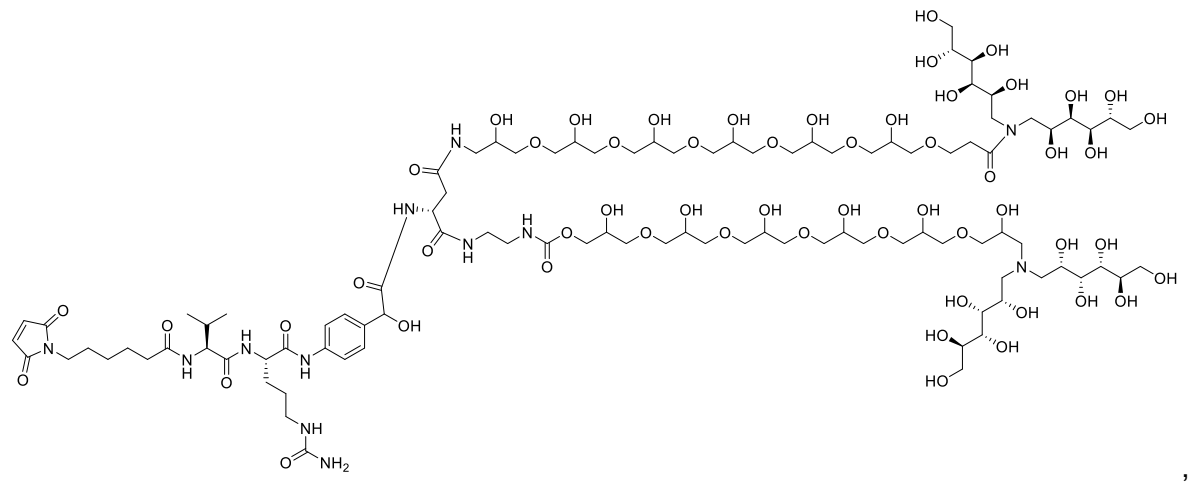
,



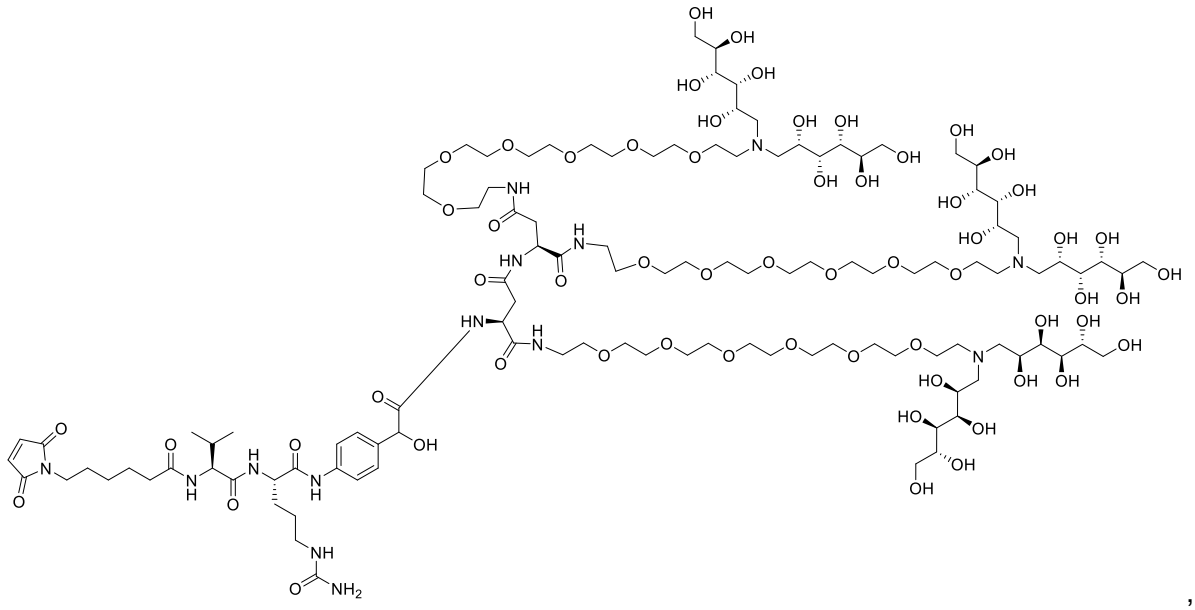
,



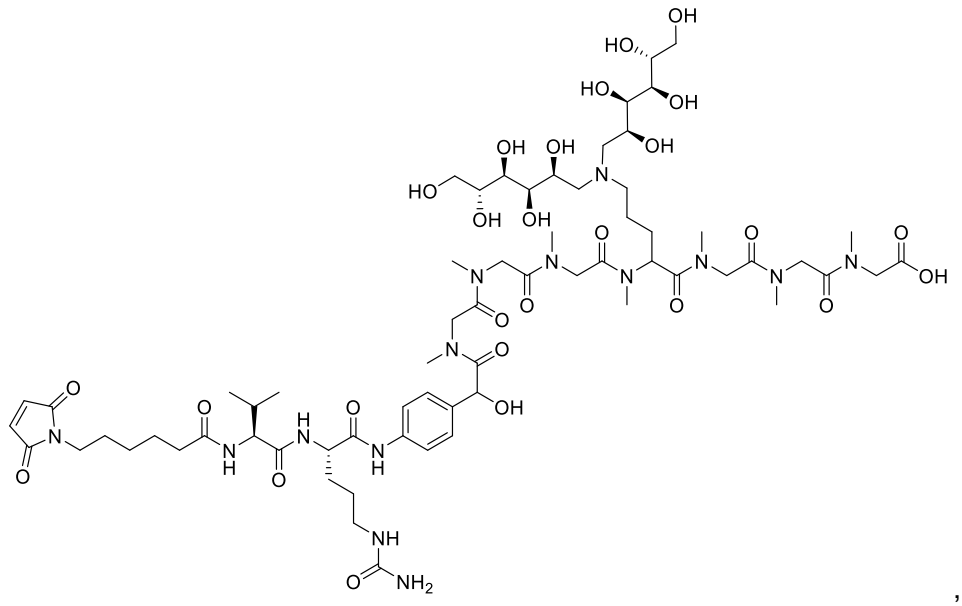
,



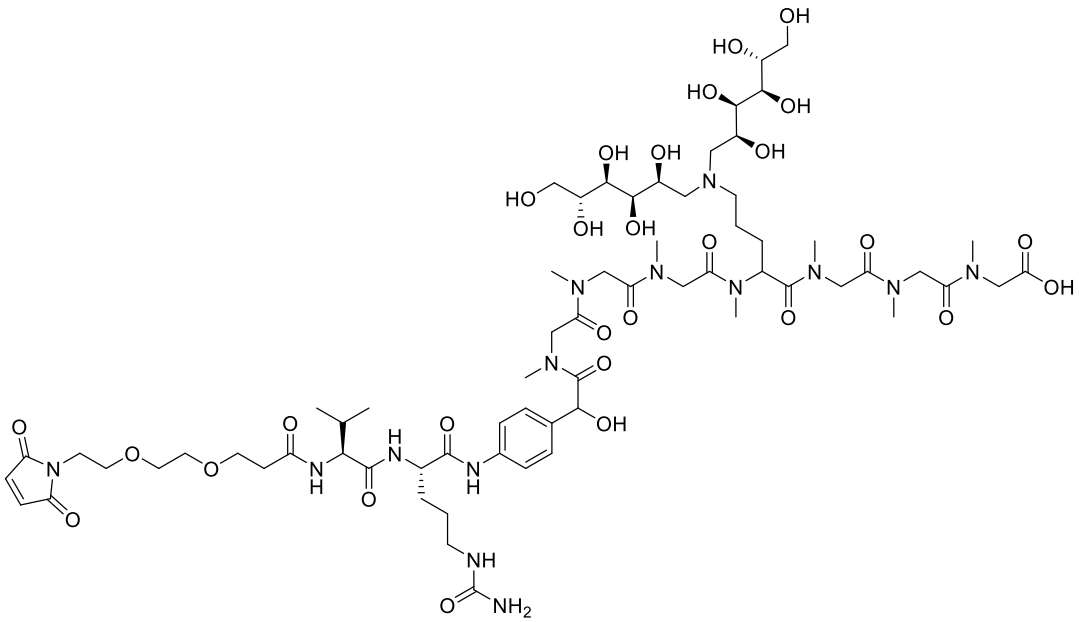
,



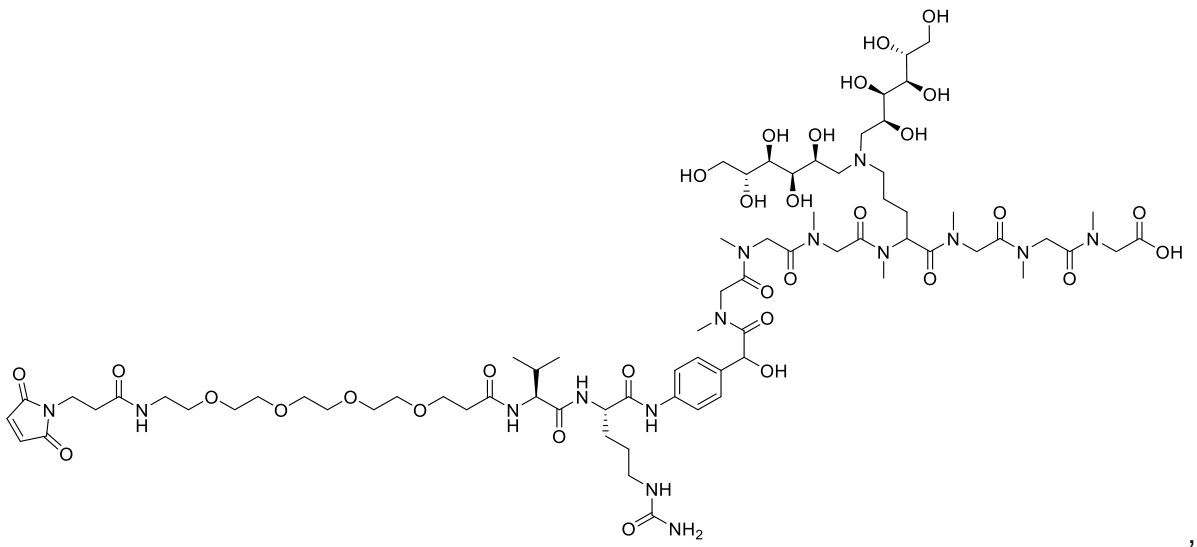
,



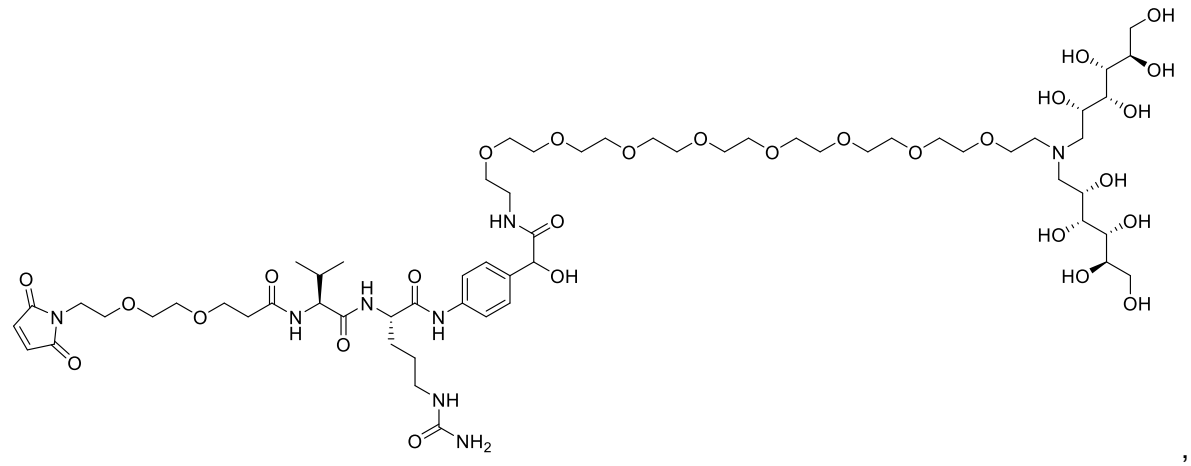
,



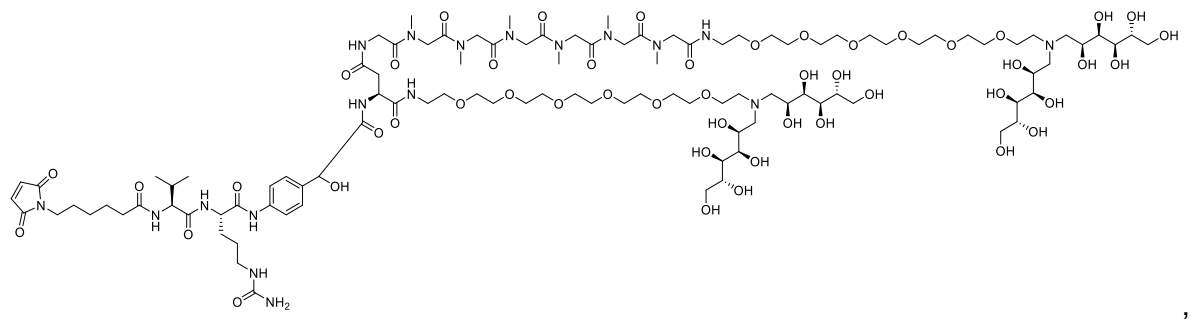
,



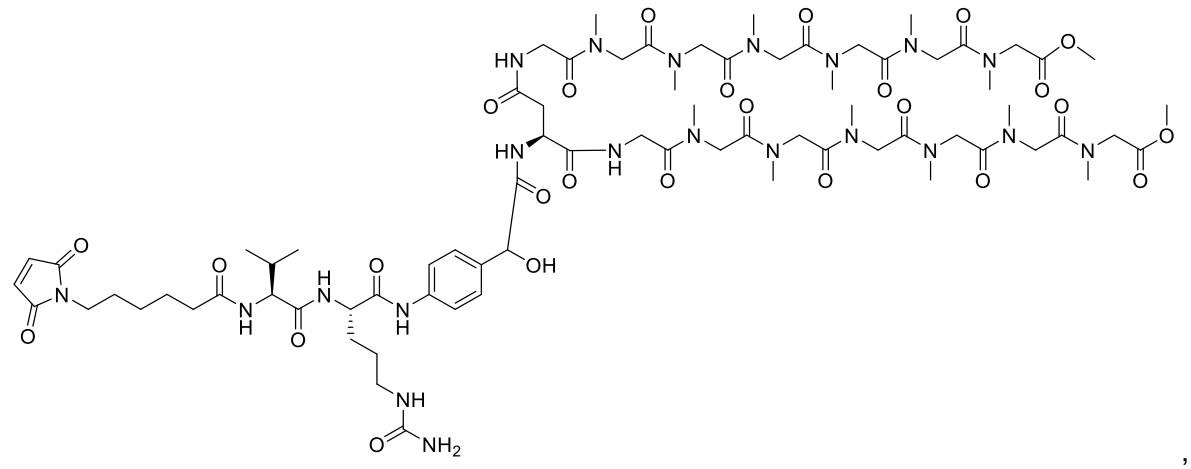
,



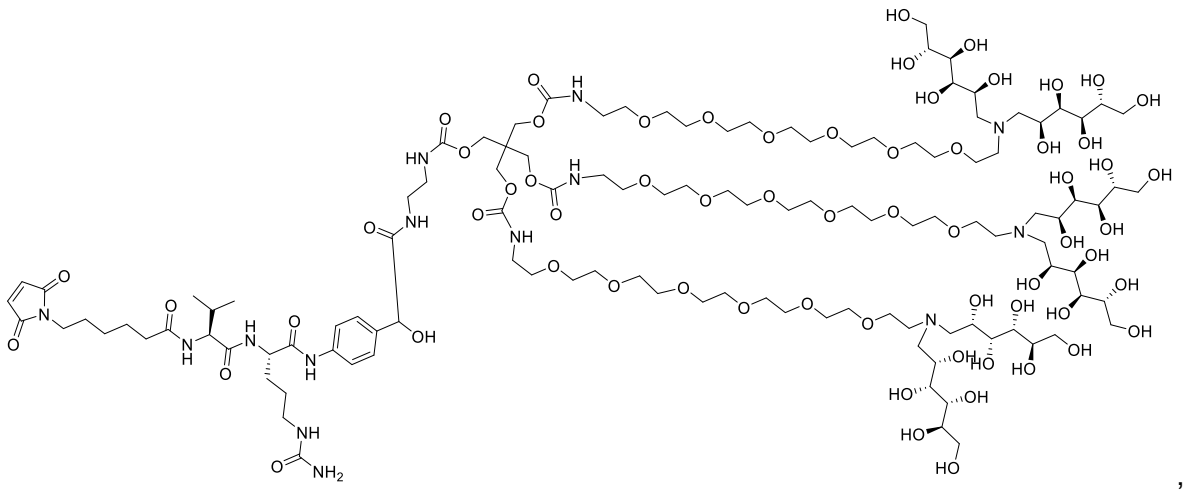
,



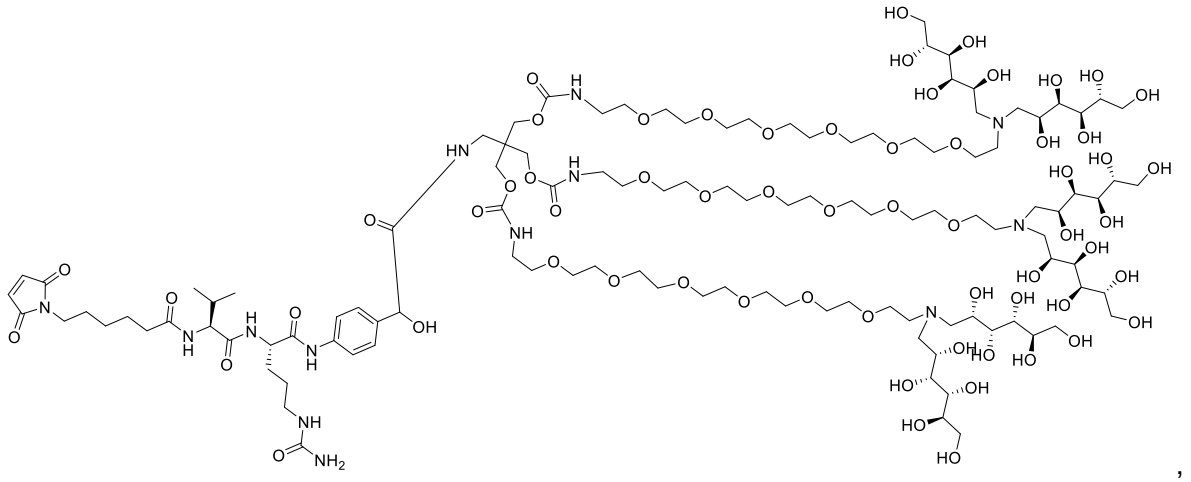
,



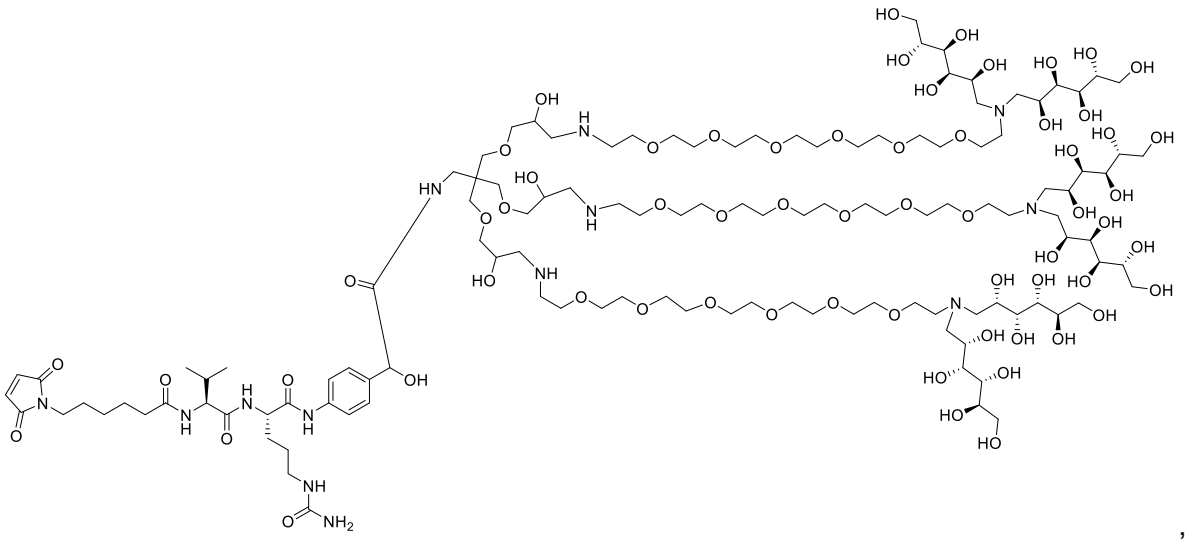
,



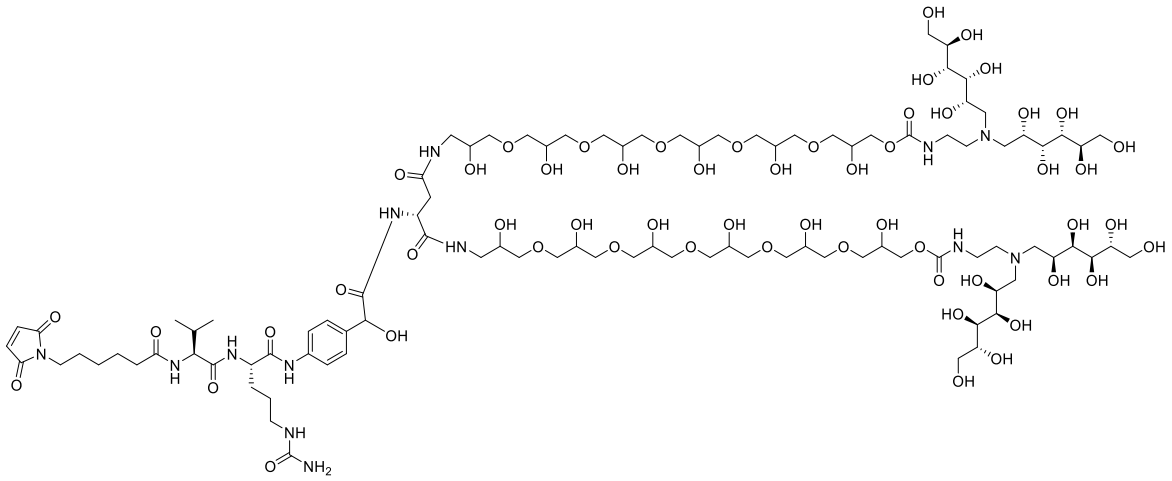
,



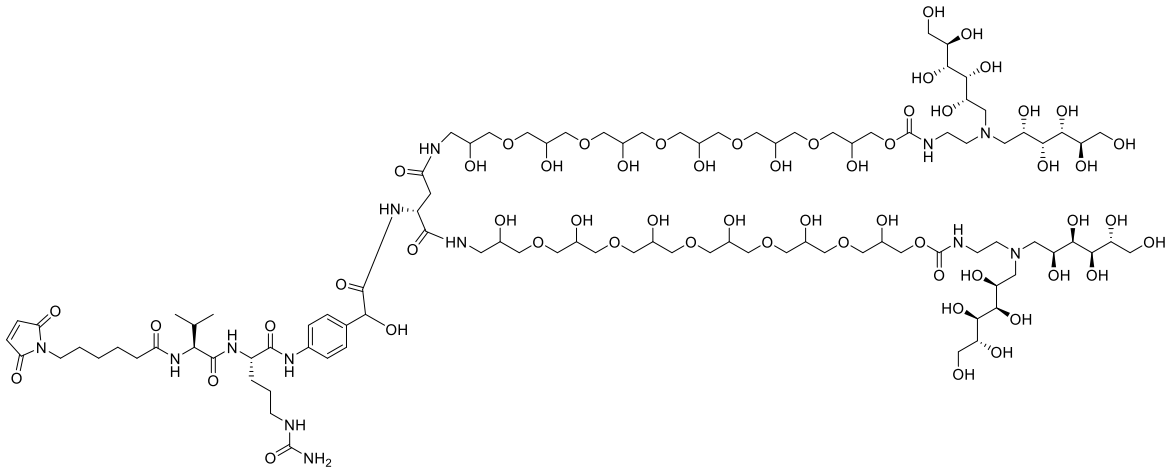
,



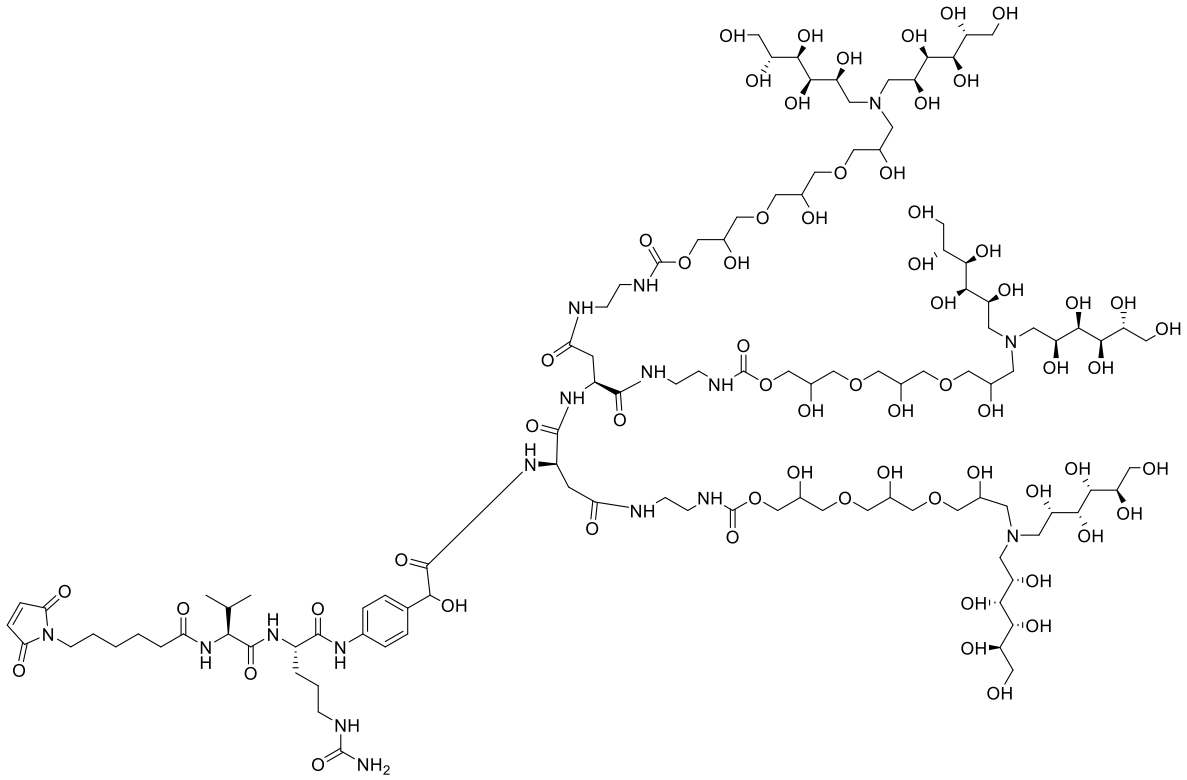
,



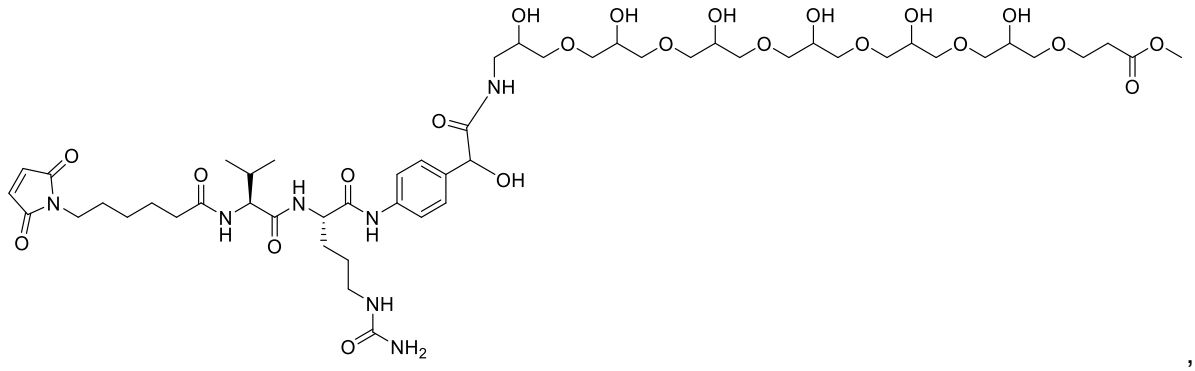
,



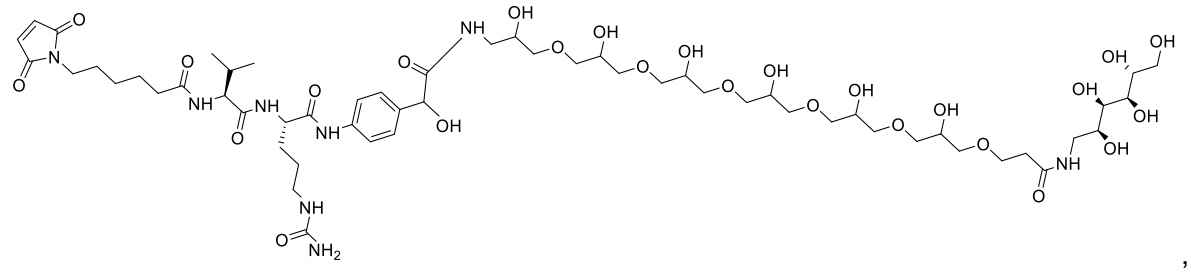
,



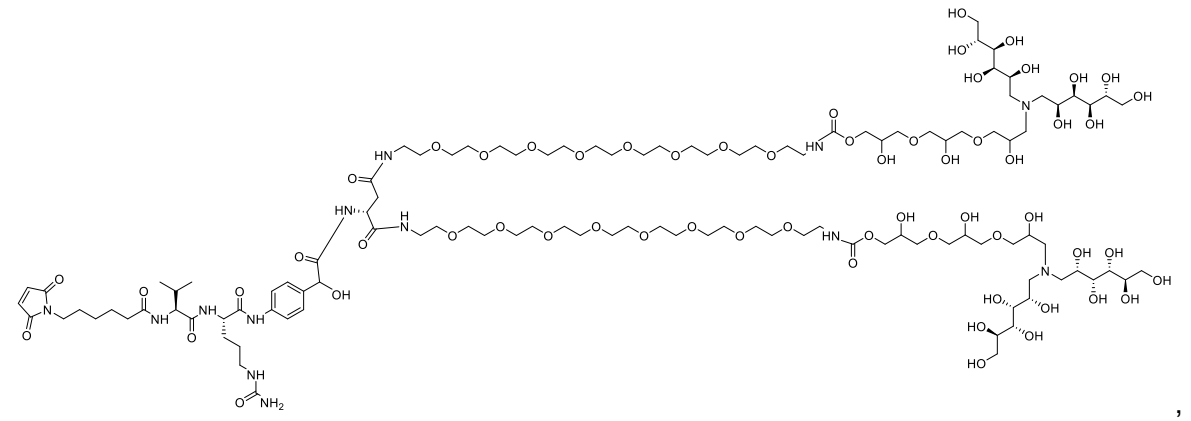
,



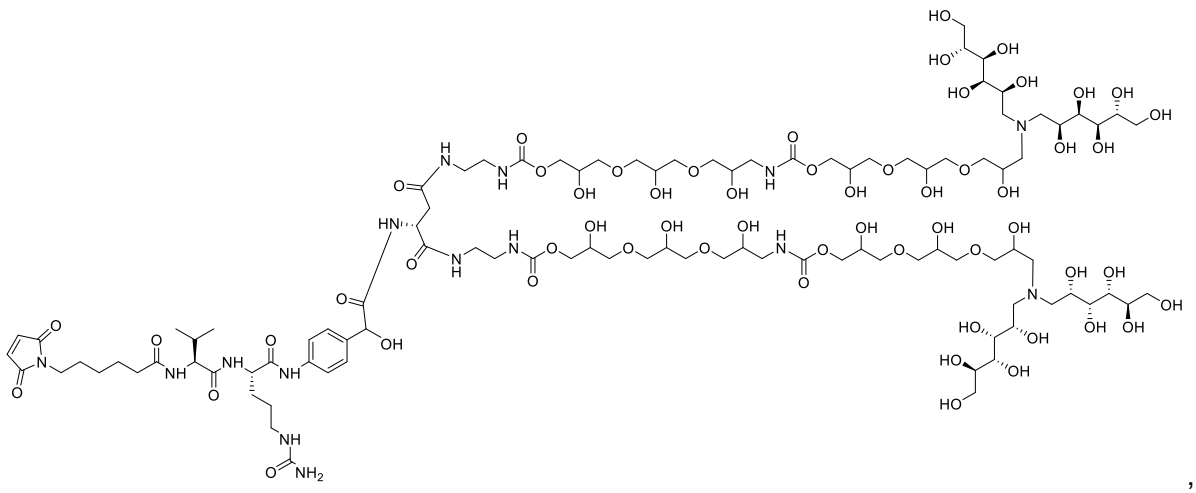
,



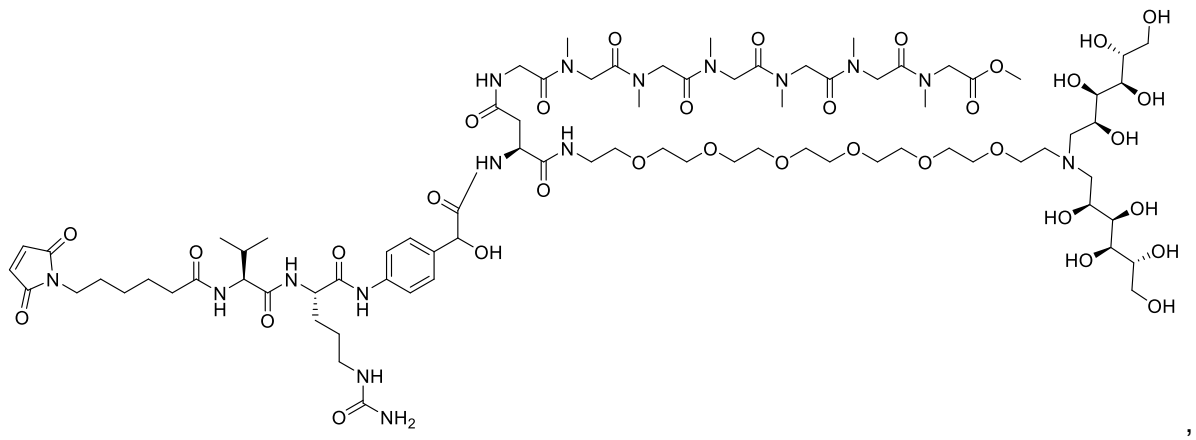
,



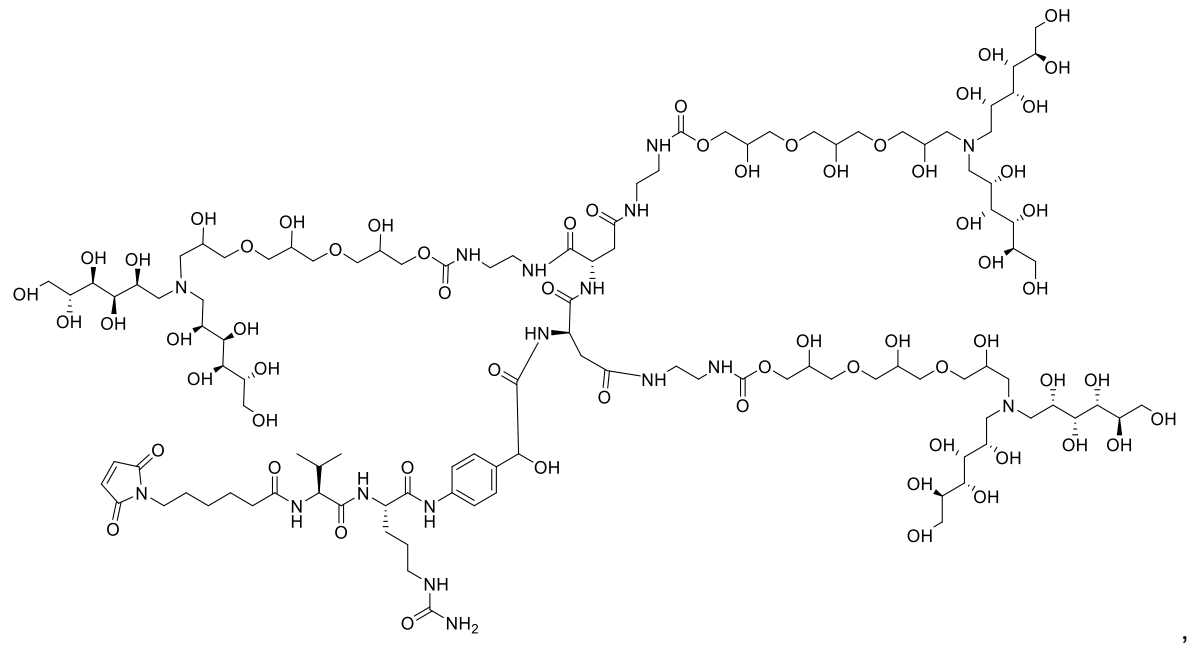
,



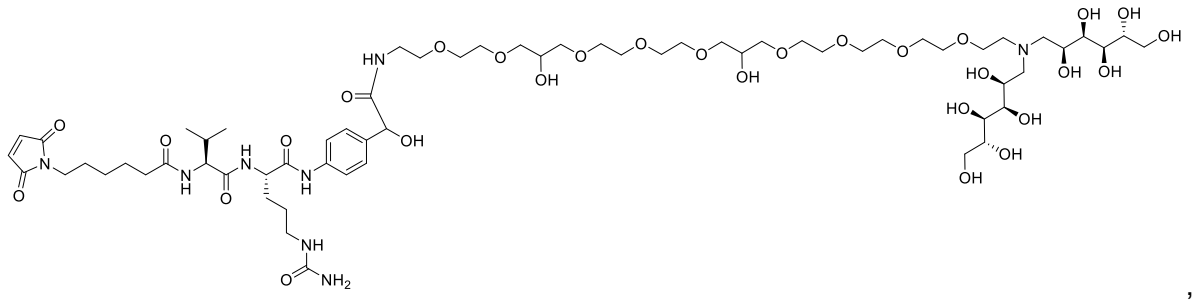
,



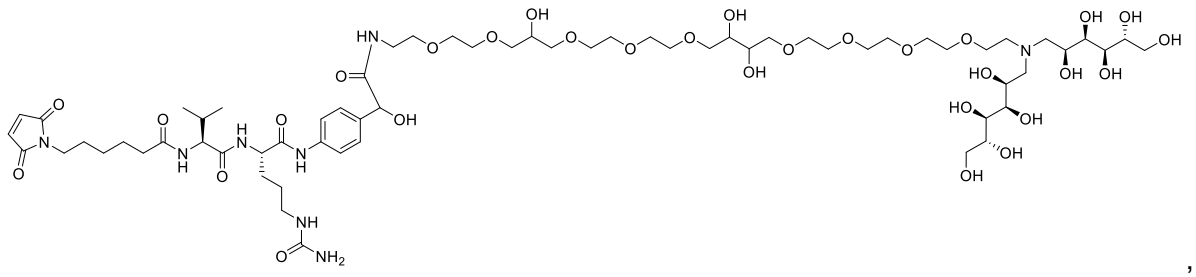
,



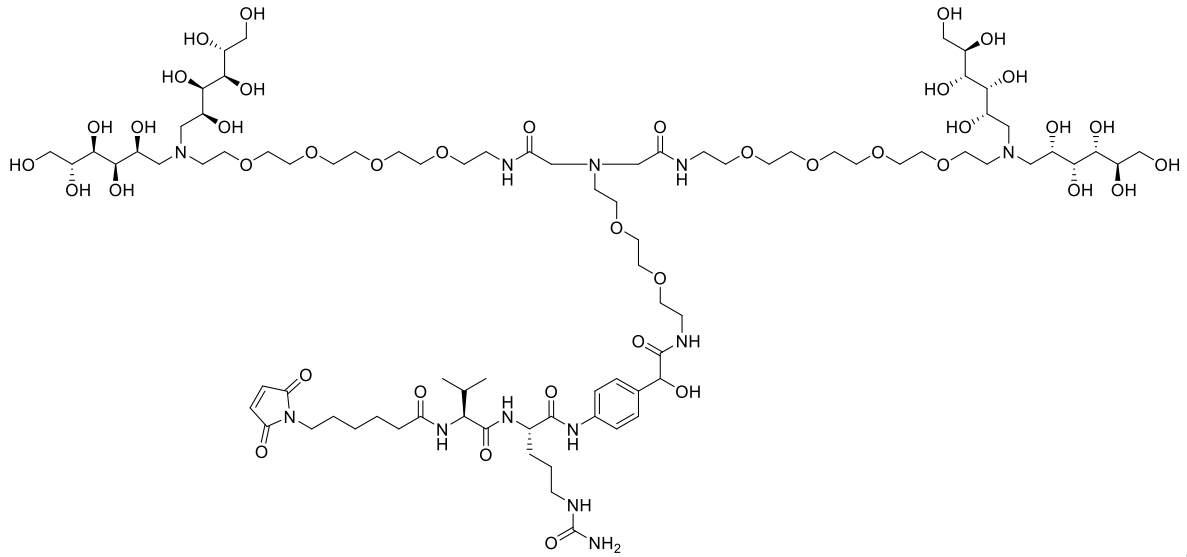
,



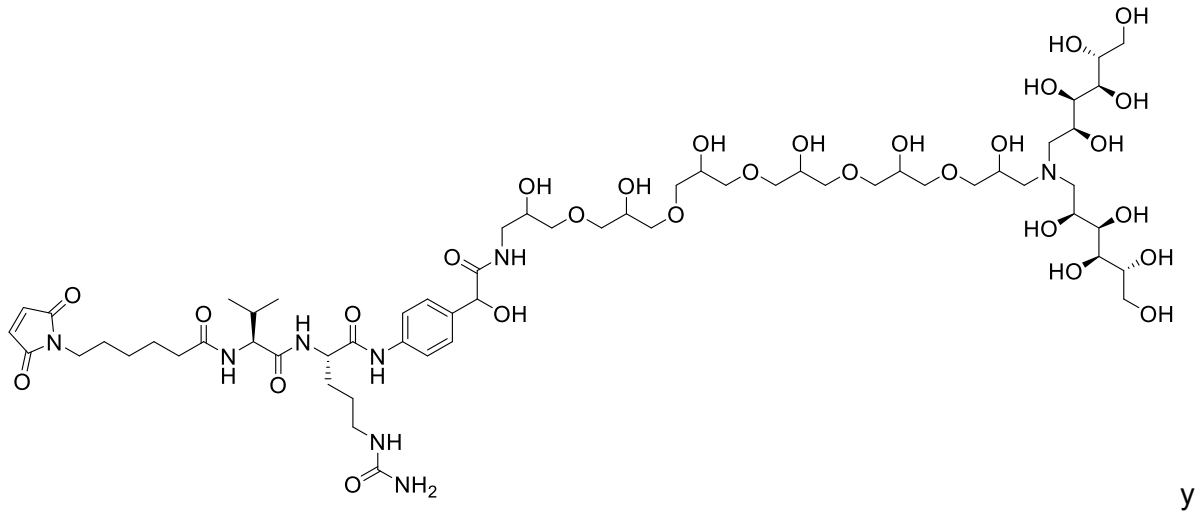
,



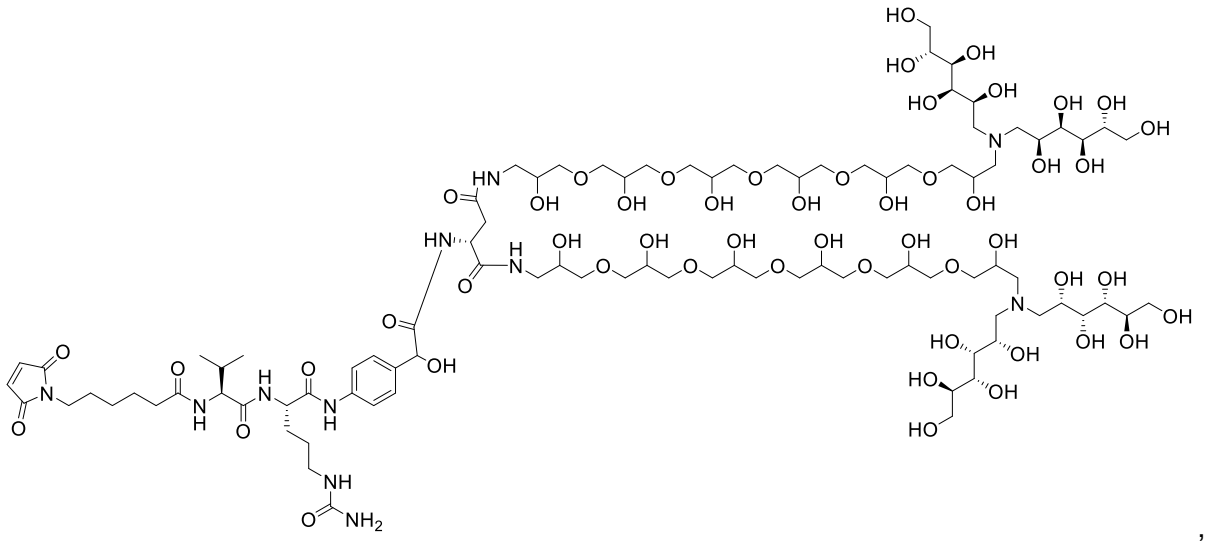
,



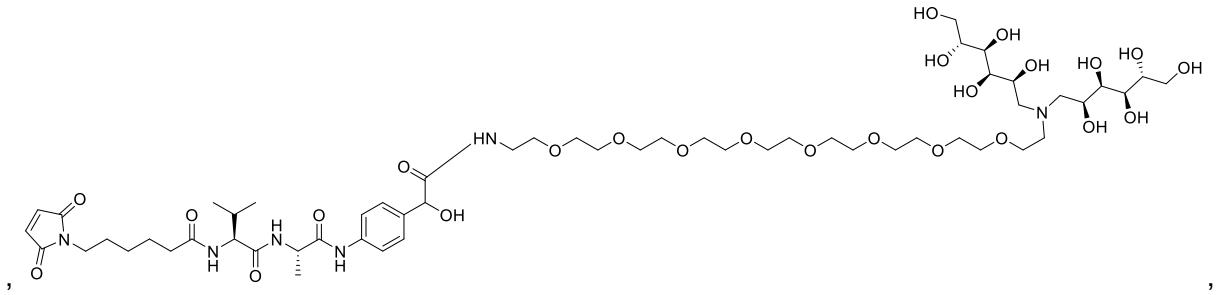
,

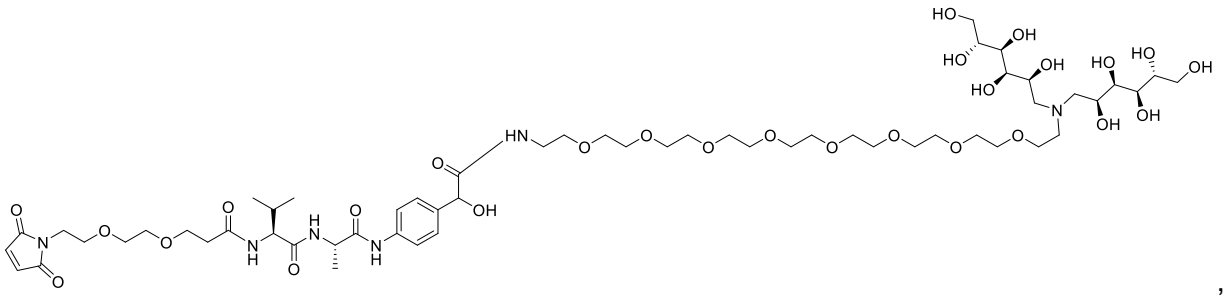


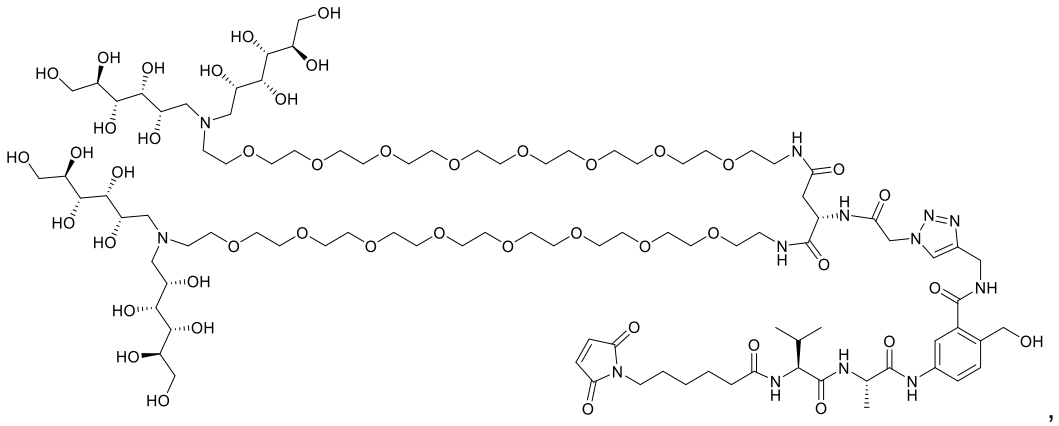
y



,







en donde el H en el OH bencílico está reemplazado opcionalmente por un enlace a dicha por lo menos una unidad de fármaco o al grupo conector unido a dicha por lo menos una unidad de fármaco.

[168] En algunas formas de realización, se provee un compuesto de fármaco-conector que comprende un compuesto conector descrito en la presente unido a dicha por lo menos una unidad de fármaco, o unido al grupo conector unido a dicha por lo menos una unidad de fármaco, en el sitio de unión.

Unidades de fármaco

[169] En algunas formas de realización, los conectores se unen a por lo menos una unidad de fármaco. En la presente, el término "unidad de fármaco" o fármaco se refiere a agentes citotóxicos (tales como agentes quimioterapéuticos o fármacos), agentes inmunomoduladores, ácidos nucleicos (incluyendo a los ARNip), agentes inhibidores del crecimiento, toxinas (por ejemplo, toxinas proteicas, toxinas con actividad enzimáticas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de las mismas), isótopos radioactivos, PROTAC y otros compuestos que son activos contra las células diana cuando se administran a dichas células.

[170] En algunas formas de realización, se provee un conector de fármaco donde la unidad de fármaco se selecciona entre un agente citotóxico, un agente inmunomodulador, un ácido nucleico, un agente inhibidor del crecimiento, una PROTAC, una toxina, un isótopo radioactivo y un ligando quelante.

Agentes citotóxicos

[171] En algunas formas de realización, la unidad de fármaco es un agente citotóxico. Un "agente citotóxico" se refiere a un agente que tiene un efecto citotóxico sobre una célula. Un "efecto citotóxico" se refiere a el empobrecimiento, eliminación o muerte de una o más células diana. Los agentes citotóxicos incluyen, por ejemplo, agentes que alteran la tubulina, inhibidores de topoisomerasa, ligantes del surco menor del ADN y agentes alquilantes del ADN.

[172] En algunas formas de realización, el agente citotóxico se selecciona entre el grupo que consiste en una auristatina, un maitansinoide, una camptotecina, una duocarmicina y una caliqueamicina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es una auristatina. En otras formas de realización, el agente citotóxico es MMAE o MMAF. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es una camptotecina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es exatecán, SN-38 o DxD. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es RS-exatecán o SS-exatecán. En otras formas de realización, el agente citotóxico es una caliqueamicina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es un maitansinoide. En algunas formas de realización, el maitansinoide es maitansina, maitansinol o ansamatocina-2.

[173] Los agentes que alteran la tubulina incluyen, por ejemplo, auristatinas, dolastatinas, tubulisinas, colchicinas, alcaloides de vinca, taxanos, criptoficinas, maitansinoides, hemiasterlinas, así como otros agentes que alteran la tubulina. Las auristatinas son derivados del producto natural dolastatina 10. Algunos ejemplos de auristatinas incluyen: MMAE (N-metilvalina-valina-dolaisoleuina-dolaproína-norefedrina), MMAF (N-metilvalina-valina-dolaisoleuina-dolaproína-fenilalanina) y AFP (véanse los documentos WO2004/010957 y WO2007/008603). Otros compuestos similares a la auristatina han sido descritos, por ejemplo, en las solicitudes publicadas en EE.UU. Nº US2021/0008099, US2017/0121282, US2013/0309192 y US2013/0157960. Las dolastatinas incluyen, por ejemplo, dolastatina 10 y dolastatina 15 (véanse, por ejemplo, Pettit et al., J. Am. Chem. Soc., 1987, 109, 6883-6885; Pettit et al., Anti-Cancer Drug Des., 1998, 13, 243-277; y la solicitud publicada de EE.UU. US2001/0018422). Otros derivados de dolastatina cuyo uso se contempla en la presente han sido descritos en la Patente US 9.345.785, que se incorpora a la presente

por referencia.

[174] Las tubulisinas incluyen, de manera no taxativa, tubulisina D, tubulisina M, tubufenilalanina y tubitirosina. En WO2017/096311 y WO/2016-040684 se han descrito análogos de la tubulisina, incluyendo a la tubulisina M.

[175] Las colchicinas incluyen, de manera no taxativa, la colchicina y la CA-4.

[176] Los alcaloides de vinca incluyen, de manera no limitante, vinblastina (VBL), vinorelbina (VRL), vincristina (VCR) y vindesina (VOS).

[177] Los taxanos incluyen, de manera no limitante, paclitaxel y docetaxel.

[178] Las criptoficinas incluyen, de manera no taxativa, criptoficina-1 y criptoficina-52.

[179] Los maitansinoides incluyen, de manera no limitante, maitansina, maitansinol, análogos de maitansina en DM1, DM3 y DM4, y ansamatocina-2. Algunos ejemplos de unidades de fármacos maitansinoides incluyen a aquellos con un anillo aromático modificado, tales como: C-19-decloro (Patente US N° 4.256.746) (preparado mediante reducción de ansamitocina P2 con hidruro de litio y aluminio); C-20-hidroxi (o C-20-desmetil) +/-C-19-decloro (Patentes US N° 4.361.650 y 4.307.016) (preparado por desmetilación con *Streptomyces* o *Actinomyces* o por decloración con LAH); y C-20-desmetoxi, C-20-aciloxi (--OCOR), +/-decloro (Patente US N° 4.294.757) (preparado por acilación usando cloruros de acilo), y aquellos que tienen modificaciones en otras posiciones.

[180] Las unidades de fármacos maitansinoides también incluyen a aquellos que tienen modificaciones tales como: C-9-SH (Patente US Nº 4.424.219) (preparado por la reacción de maitansinol con H_2S o P_2S_5); C-14-alcoximetil(desmetoxi/CH_2OR) (véase la Patente US Nº 4.331.598); C-14-hidroximetilo o aciloximetilo (CH_2OH o CH_2OAc) (véase la Patente US Nº 4.450.254) (preparado a partir de Nocardia); C-15-hidroxi/aciloxi (véase la Patente US Nº 4.364.866) (preparado por conversión de maitansinol por *Streptomyces*); C-15-metoxi (véanse las Patentes US Nº 4.313.946 y 4.315.929) (aislado de *Trewia nudiflora*); C-18-N-desmetilo (véanse las Patentes US Nº 4.362.663 y 4.322.348) (preparado por desmetilación del maitansinol por *Streptomyces*); y 4,5-desoxi (véase la Patente US Nº 4.371.533) (preparado por reducción del maitansinol con tricloruro de titanio/LAH).

[181] Las hemiasterlinas incluyen, de manera no taxativa, hemiasterlina y HTI-286.

[182] Otros agentes que alteran la tubulina incluyen taccalonolida A, taccalonolida B, taccalonolida AF, taccalonolida AJ, taccalonolida AI-epóxido, discodermolida, epotilona A, epotilona B y laulimalida.

[183] En algunas formas de realización, un agente citotóxico puede ser un inhibidor de

topoisomerasa, tal como una camptotecina. Algunos ejemplos de camptotecinas incluyen, por ejemplo, camptotecina, irinotecán (que también se conoce como CPT-11), belotecán, (7-(2-(N-isopropilamino)etil)camptotecina), topotecán, 10-hidroxi-CPT, SN-38, exatecán y el análogo de exatecán DXd (véase US20150297748). En algunas formas de realización, el agente citotóxico es exatecán, SN-38 o DxD. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es RS exatecán o SS exatecán. Otras camptotecinas han sido descritas en WO1996/021666, WO00/08033, US2016/0229862 y WO2020/156189.

[184] En algunas formas de realización, un agente citotóxico es una duocarmcicina, incluyendo a los análogos sintéticos KW-2189 y CBI-TMI.

Agentes inmunomoduladores

[185] En algunas formas de realización, una unidad de fármaco es un agente inmunomodulador. Un agente inmunomodulador puede ser, por ejemplo, un agonista de TLR7 y/o TLR8, un agonista de STING, un agonista de RIG-I u otro agente inmunomodulador. En algunas formas de realización, el agente inmunomodulador se selecciona entre un agonista de TRL7, un agonista de TLR8, un agonista de STING o un agonista de RIG-I.

[186] En algunas formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de TLR7. En algunas formas de realización, el agonista de TLR7 es una imidazoquinolina, una imidazoquinolina amina, una tiazoquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina, heteroarotiadiazida-2,2-dióxido, una benzonaftiridina, un análogo de guanosina, un análogo de adenosina, un homopolímero de timidina, ARNhs, CpG-A, PoliG10 o PoliG3. En algunas formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de TLR8. En algunas formas de realización, el agonista de TLR8 se selecciona entre una imidazoquinolina, una tiazoloquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina o un ARNhs. En algunas formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de STING. En otras formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de RIG-I. En algunas formas de realización, el agonista de RIG-I se selecciona entre KIN1148, SB-9200, KIN700, KIN600, KIN500, KIN100, KIN101, KIN400 y KIN2000.

[187] En algunas formas de realización, una unidad de fármaco es un agente inmunomodulador, como un agonista de TLR7 y/o TLR8. En algunas formas de

realización, un agonista de TLR7 se selecciona entre una imidazoquinolina, una imidazoquinolina amina, una tiazoquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina, heteroarotiadiazida-2,2-dióxido, una benzonaftiridina, un análogo de guanosina, un análogo de adenosina, un homopolímero de timidina, ARNhs, CpG-A, PoliG10 y PoliG3. En algunas formas de realización, el agonista de TLR7 se selecciona entre una imidazoquinolina, una imidazoquinolina amina, una tiazoquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina, heteroarotiadiazida-2,2-dióxido o una benzonaftiridina. En algunas formas de realización, un agonista de TLR7 es un compuesto artificial. Algunos ejemplos de moduladores de TLR7 se incluyen GS-9620, GSK-2245035, imiquimod, resiquimod, DSR-6434, DSP-3025, IMO-4200, MCT-465, MEDI-9197, 3M-051, SB-9922, 3M-052, Limtop, TMX-30X, TMX-202, RG-7863, RG-7795 y los compuestos que se describen en los documentos US20160168164, US20150299194, US20110098248, US20100143301 y US20090047249.

[188] En algunas formas de realización, un agonista de TLR8 se selecciona entre una benzazepina, una imidazoquinolina, una tiazoloquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-bencimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina o un ARNhs. En algunas formas de realización, un agonista de TLR8 se selecciona entre una benzazepina, una imidazoquinolina, una tiazoloquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-bencimidazol-2-amina y una tetrahidropiridopirimidina. En algunas formas de realización, un agonista de TLR8 es un compuesto no natural. Algunos ejemplos de agonistas de TLR8 incluyen motolimod, resiquimod, 3M-051, 3M-052, MCT-465, IMO-4200, VTX-763 y VTX-1463.

[189] En algunas formas de realización, un agonista de TLR8 puede ser cualquiera de los compuestos que se describen en WO2018/170179, WO2020/056198 y WO2020056194.

[190] Otros agonistas de TLR7 y TLR8 han sido descritos, por ejemplo, en, WO2016142250, WO2017046112, WO2007024612, WO2011022508, WO2011022509, WO2012045090, WO2012097173, WO2012097177, WO2017079283, US20160008374, US20160194350, US20160289229, US Patente Nº 6043238, US20180086755, WO2017216054, WO2017190669, WO2017202704,

WO2017202703, WO20170071944, US20140045849, US20140073642, WO2014056953, WO2014076221, WO2014128189, US20140350031, WO2014023813, US20080234251, US20080306050, US20100029585, US20110092485, US20110118235, US20120082658, US20120219615, US20140066432, US20140088085, US20140275167, y US20130251673, WO2018198091, y US20170131421.

[191] En algunas formas de realización, un agente inmunomodulador es un agonista de STING. Algunos ejemplos de agonistas de STING incluyen, por ejemplo, a aquellos que se describen en WO2020059895, WO2015077354, WO2020227159, WO2020075790, WO2018200812, y WO2020074004.

[192] En algunas formas de realización, un agente inmunomodulador es un agonista de RIG-I. Algunos ejemplos de agonistas de RIG-I incluyen a KIN1148, SB-9200, KIN700, KIN600, KIN500, KIN100, KIN101, KIN400 y KIN2000.

Toxinas

[193] En algunas formas de realización, la unidad de fármaco es una toxina con actividad enzimática o un fragmento de la misma, incluyendo, de manera no taxativa, a la cadena A de la difteria, fragmentos activos no ligantes de la toxina de la difteria, cadena A de la exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena A de la ricina, cadena A de la abrina, cadena A de la modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas diantina, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y los tricotecenos.

Radioisótopos

[194] En algunas formas de realización, la unidad de fármaco es un átomo radioactivo. Hay disponible una variedad de isótopos radioactivos para la producción de radioconjugados. Algunos ejemplos de estos incluyen itrio-88, itrio-90, tecnecio-99, cobre-67, renio-188, renio-186, galio-66, galio-67, indio-111, indio-114, indio-115, lutecio-177, estroncio-89, sarario-153 y plomo-212.

PROTAC

[195] En algunas formas de realización, la unidad de fármaco es una quimera dirigida hacia la proteólisis (PROTAC). Las PROTAC han sido descritas, por ejemplo, en las solicitudes publicadas US N° 20210015942, 20210015929, 20200392131, 20200216507, US20200199247 y US20190175612. Cuyas divulgaciones se incorporan a la presente por referencia.

Ligandos

[196] En algunas formas de realización, una unidad de fármaco incluye ligandos que se pueden unir mediante una unidad carboxilo, tal como platino (Pt), rutenio (Ru), rodio (Rh), oro (Au), plata (Ag), cobre (Cu), molibdeno (Mo), titanio (Ti) o iridio (Ir); un radioisótopo tal como itrio-88, itrio-90, tecnecio-99, cobre-67, renio-188, renio-186, galio-66, galio-67, indio-111, indio-114, indio-115, lutecio-177, estroncio-89, samario-153 y plomo-212.

Compuestos fármaco-conector

[197] En algunas formas de realización, se proveen compuestos fármaco-conector que comprenden un compuesto conector según se describió anteriormente que tienen por lo menos una unidad de fármaco unida al sitio de unión.

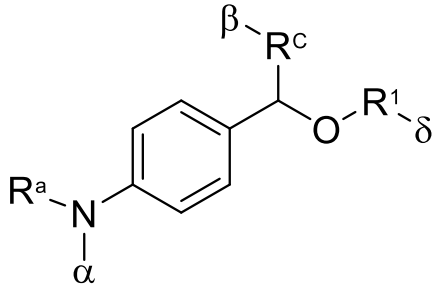
[198] En algunas formas de realización, se proveen compuestos fármaco-conector que comprenden una unidad de fármaco que se selecciona entre: un agente citotóxico, un agente inmunomodulador, un ácido nucleico, un agente inhibidor del crecimiento, una PROTAC, una toxina, un isótopo radioactivo y un ligando quelante. En algunas formas de realización más específicas, la unidad de fármaco es un agente citotóxico. En algunas formas de realización más específicas, el agente citotóxico se selecciona entre el grupo que consiste en una auristatina, un maitansinoide, una camptotecina, una duocarmicina y una caliqueamicina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es una auristatina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es MMAE o MMAF. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es SS-exatecán. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es RS-exatecán. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es una camptotecina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es exatecán o SN-38. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es exatecán. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es DxD. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es una caliqueamicina. En algunas formas de realización, el agente citotóxico es un maitansinoide. En algunas formas de realización más específicas, el maitansinoide es maitansina, maitansinol o ansamatocina-2.

[199] En algunas formas de realización, se proveen compuestos fármaco-conector que comprenden un compuesto conector según se describió anteriormente con una unidad de fármaco unida al sitio de unión, donde la unidad de fármaco es un agente inmunomodulador. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el agente inmunomodulador se selecciona entre un agonista de TRL7, un agonista de TLR8, un agonista de STING o un agonista de RIG-I. En algunas formas de realización más específicas, el agente inmunomodulador es un agonista de TLR7. En algunas formas

de realización más específicas, el agonista de TLR7 es una imidazoquinolina, una imidazoquinolina-amina, una tiazoquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina, heteroarotiadiazida-2,2-dióxido, una benzonaftiridina, un análogo de guanosina, un análogo de adenosina, un homopolímero de timidina, ARNhs, CpG-A, PoliG10 o PoliG3. En algunas formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de TLR8. En algunas formas de realización más específicas, el agonista de TLR8 se selecciona entre una imidazoquinolina, una tiazoloquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido[3,2-d]pirimidina-2,4-diamina, pirimidina-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina o un ARNhs. En algunas formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de STING. En otras formas de realización, el agente inmunomodulador es un agonista de RIG-I. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el agonista de RIG-I se selecciona entre KIN1148, SB-9200, KIN700, KIN600, KIN500, KIN100, KIN101, KIN400 y KIN2000.

[200] En algunas formas de realización, se proveen compuestos fármaco-conector que comprenden un compuesto conector según se describió anteriormente con una unidad de fármaco unida al sitio de unión, donde la unidad de fármaco es un ligando quelante. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el ligando quelante se selecciona entre platino (Pt), rutenio (Ru), rodio (Rh), oro (Au), plata (Ag), cobre (Cu), molibdeno (Mo), titanio (Ti) o iridio (Ir); un radioisótopo tal como itrio-88, itrio-90, tecnecio-99, cobre-67, renio-188, renio-186, galio-66, galio-67, indio-111, indio-114, indio-115, lutecio-177, estroncio-89, samario-153 y plomo-212.

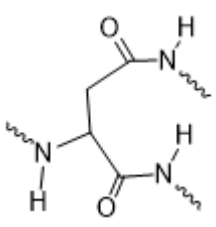
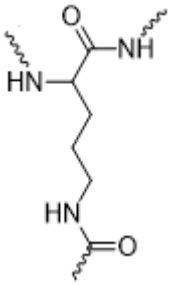
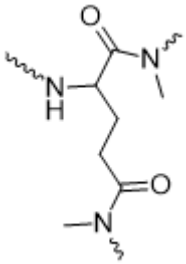
[0201] En algunas formas de realización, se provee un compuesto fármaco-conector, representado por la estructura de Fórmula (A)



Fórmula (A);

o una sal de la misma, donde:

(i) β es $R^{20}(-R^{21}-[O-CH_2-CH_2]_{n20}-R^{22}-NR^{24}R^{25})_z$; donde

R^{20} es NH,  ,  , o  ;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; y grupo -C(O)-polihidroxilo; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; z es 1 o 2;

y

n20 es entre 2 y 26;

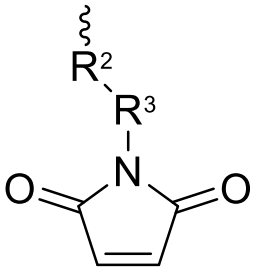
(ii) R^a es H o C_1-C_6 alquilo;

(iii) R^c es un enlace, -C(O)-, -S(O)-, -SO_2-, C_{1-6} alquileno, C_{1-6} alquinileno, o C_{1-6} alquinileno-triazolilo;

(iv) R^1 es un enlace, -C(O)-, o C_{1-6} alquileno; y

(v) δ se selecciona entre un Fármaco;

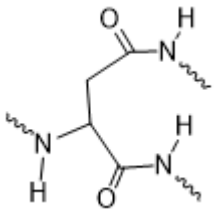
(vi) α se representa por medio de la fórmula

 ; donde

R^2 es un péptido que tiene 2-5 aminoácidos;

R^3 es -C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-,-C_1-C_{10}alquileno-C(O)NH-C_1-C_8alquileno-[O-CH_2-CH_2]$_n$-C(O)- (donde n es entre 1 y 26), o -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C(=O)- (donde b es entre 1 y 26).

[0202] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^{20} es

 .

[0203] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, z es 1.

[0204] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, z es 2.

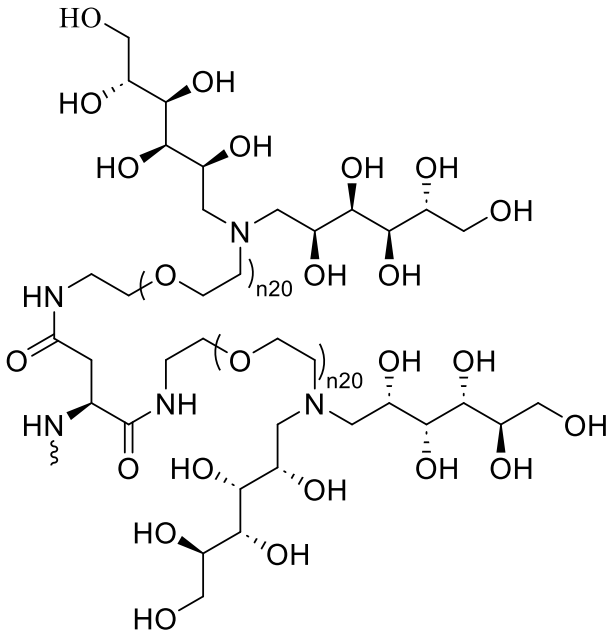
[0205] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre un grupo polihidroxilo.

[0206] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^{21} es C_1-C_3 alquileno.

En algunos casos, R^{21} es C_2 alquileno.

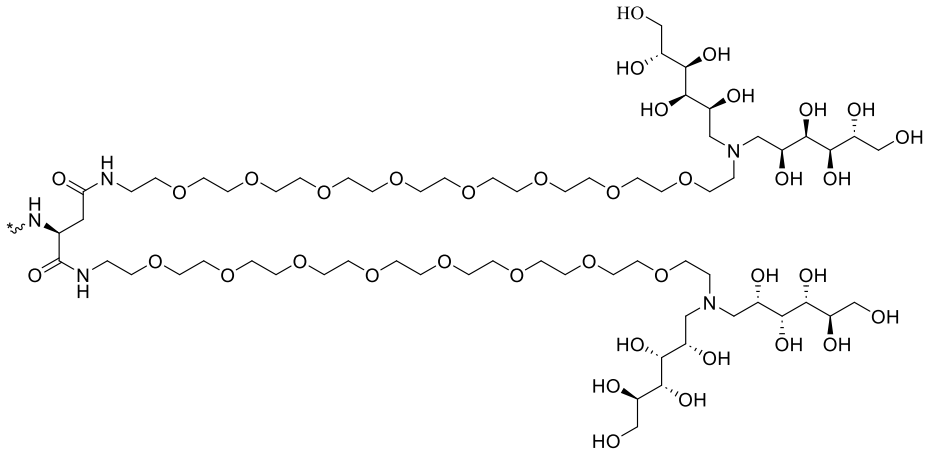
[0207] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^{22} es un enlace.

[0208] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, β es



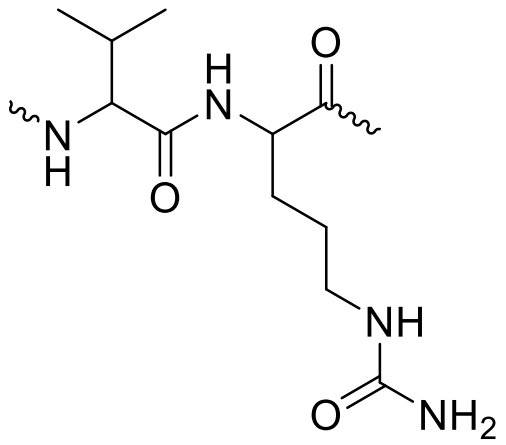
y n20 es entre 4 y 12;

[0209] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, β es

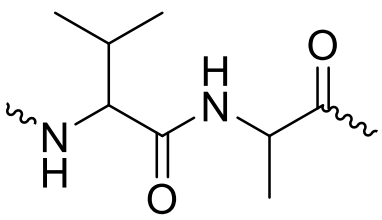


.

[0210] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^2 se selecciona entre:

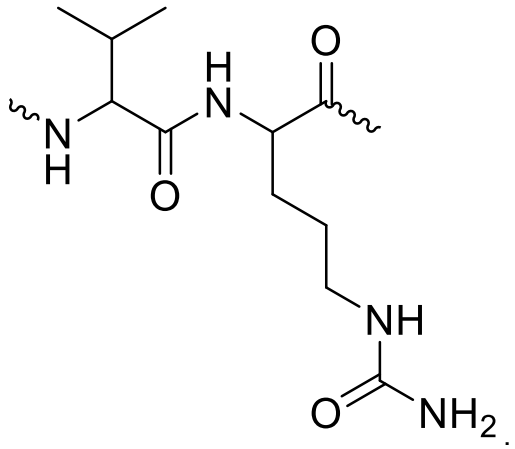


y

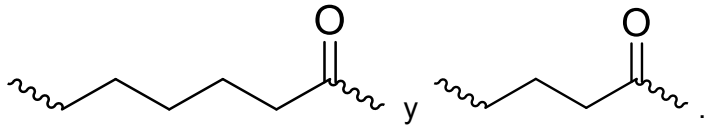


.

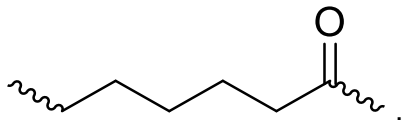
[0211] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^2 se selecciona entre:



[0212] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^3 se selecciona entre:



[0213] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^3 se selecciona entre:



[0214] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^c es un -C(O)- o C_{1-6} alquinileno-triazolilo;

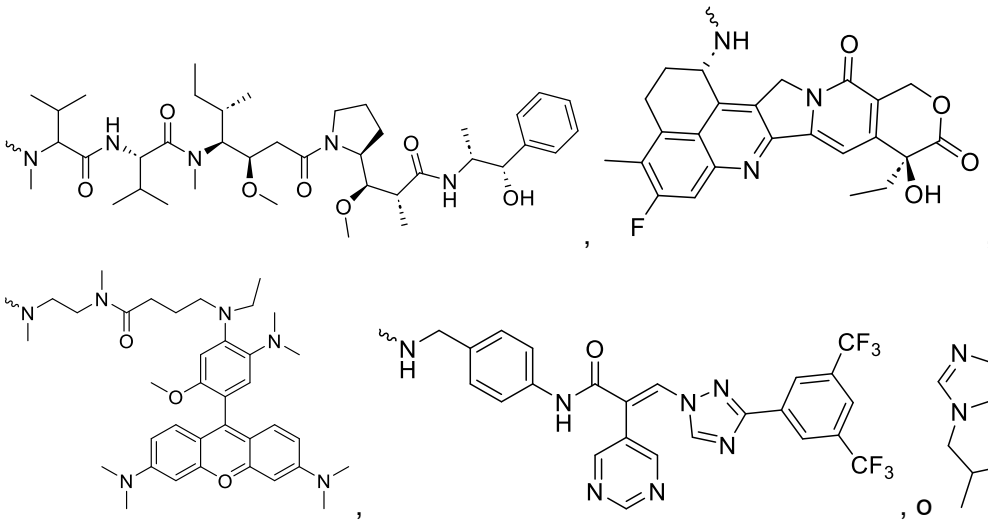
[0215] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^c es -C(O)-.

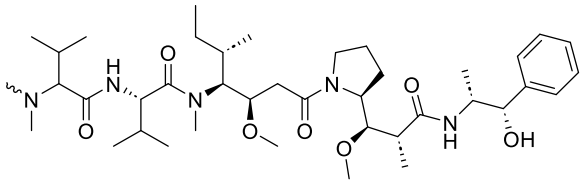
[0216] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, R^1 es -C(O)-.

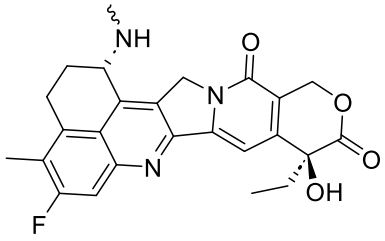
[0217] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, el fármaco se selecciona entre un agente citotóxico. En algunas formas de realización, el fármaco es MMAE o MMAF. En algunas formas de realización, el fármaco es MMAE. En algunas formas de realización, el fármaco es exatecan.

[0218] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, el fármaco se selecciona entre un agente inmunomodulador.

[0219] En algunas formas de realización, para un Fármaco-Conector, δ se selecciona entre

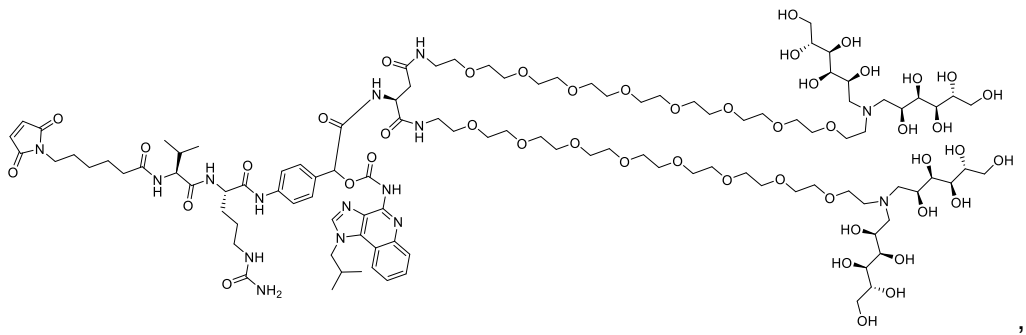


algunas formas de realización, δ es  . En algunas

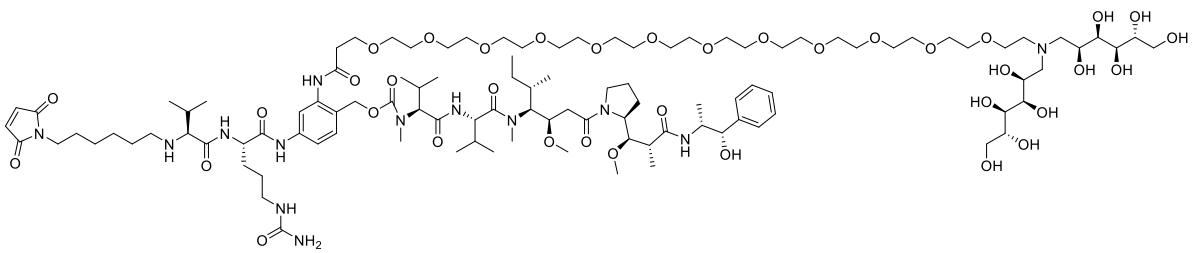
formas de realización, δ es  .

[0220] En algunas formas de realización, la línea ondulada indica un punto de unión al Fármaco-Conector.

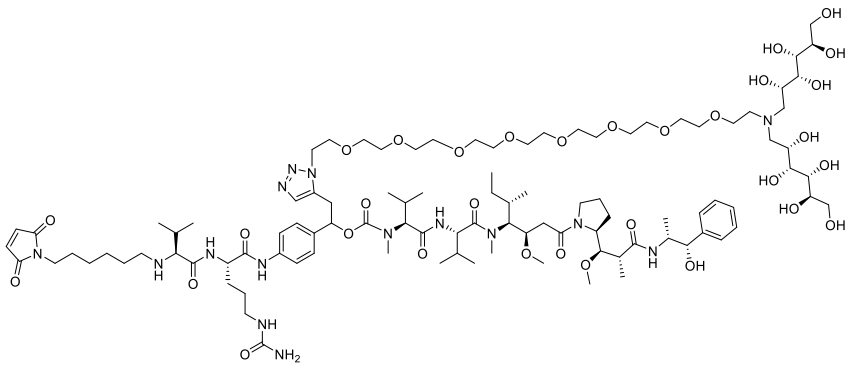
[0221] En algunas formas de realización, se proveen compuestos Fármaco-Conector seleccionados entre las siguientes estructuras:



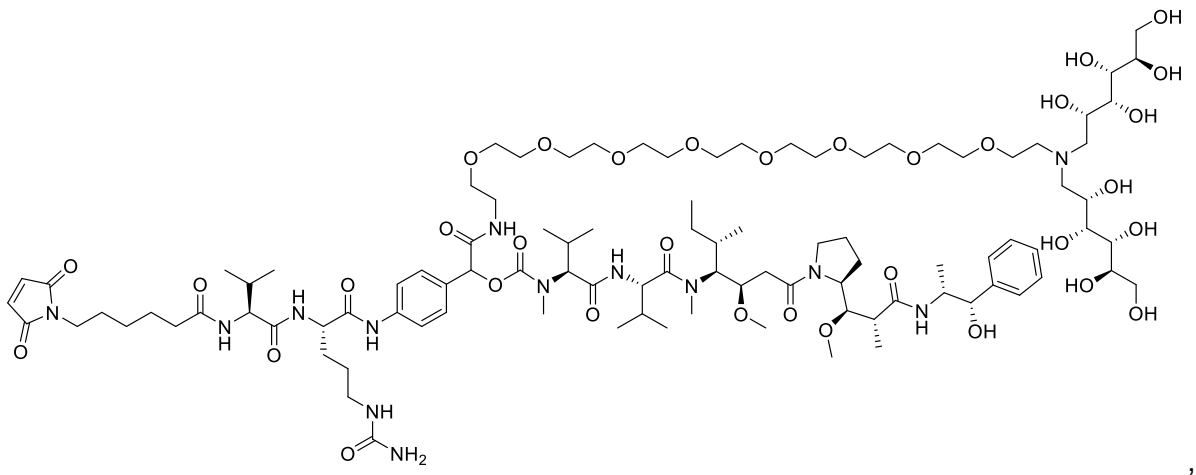
,



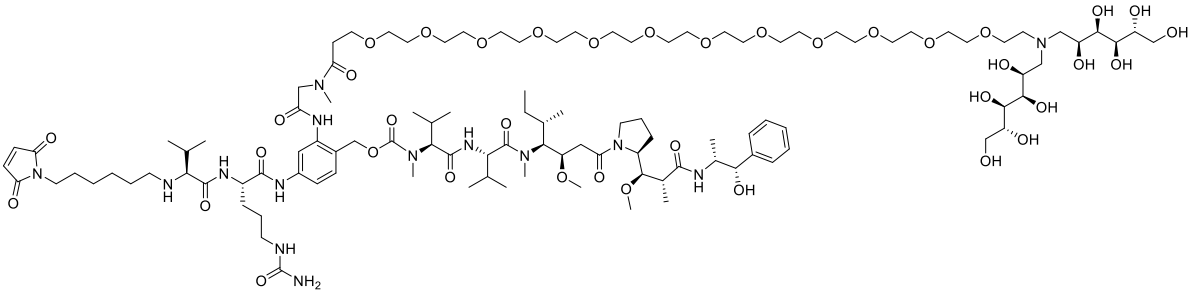
,



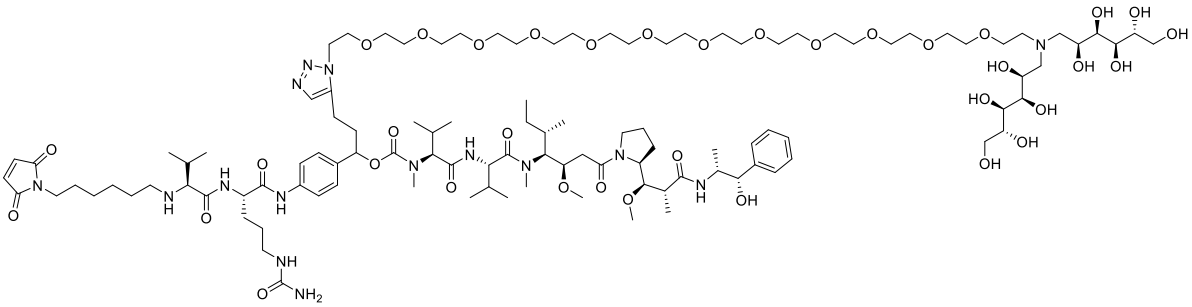
,



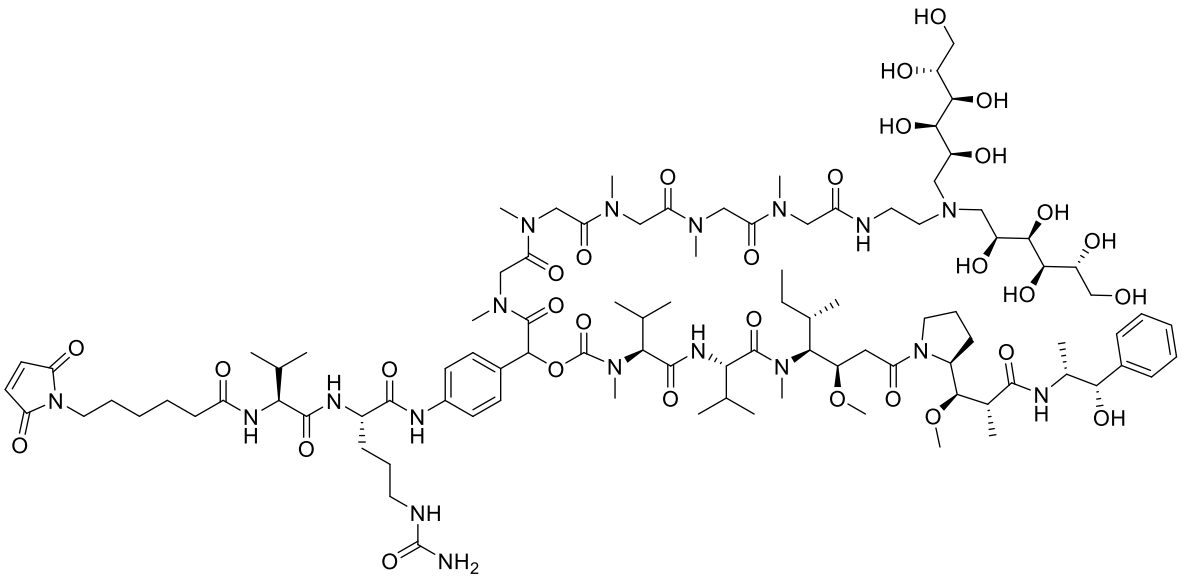
,



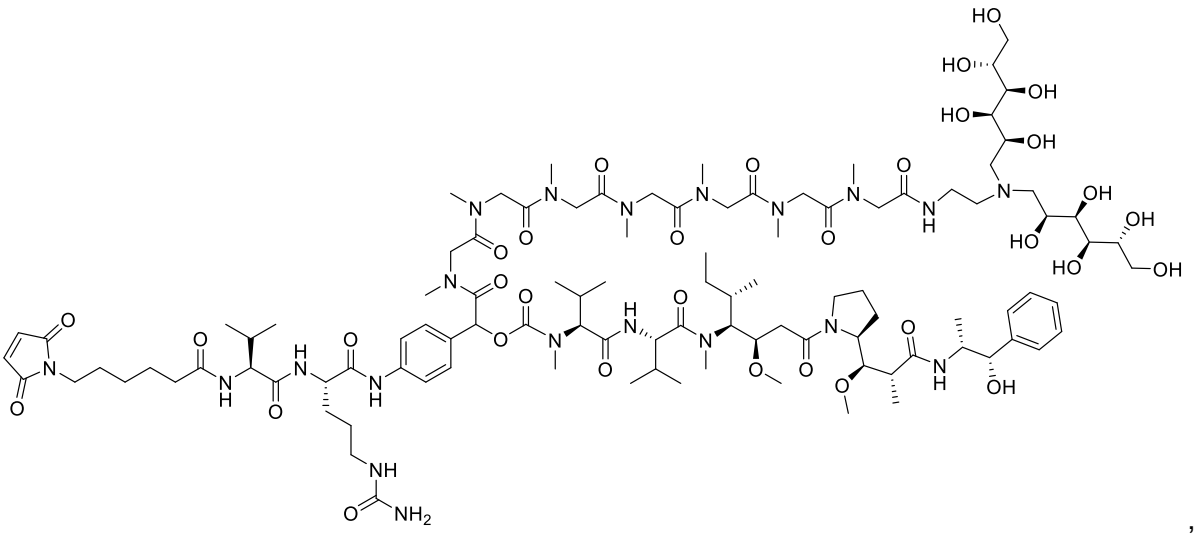
,



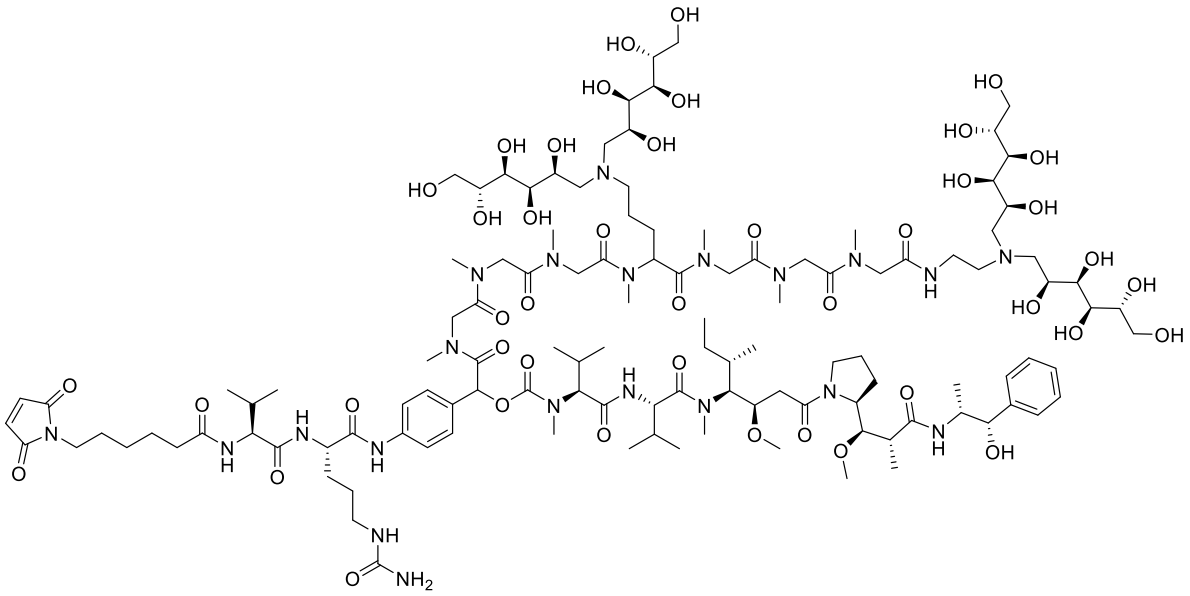
,



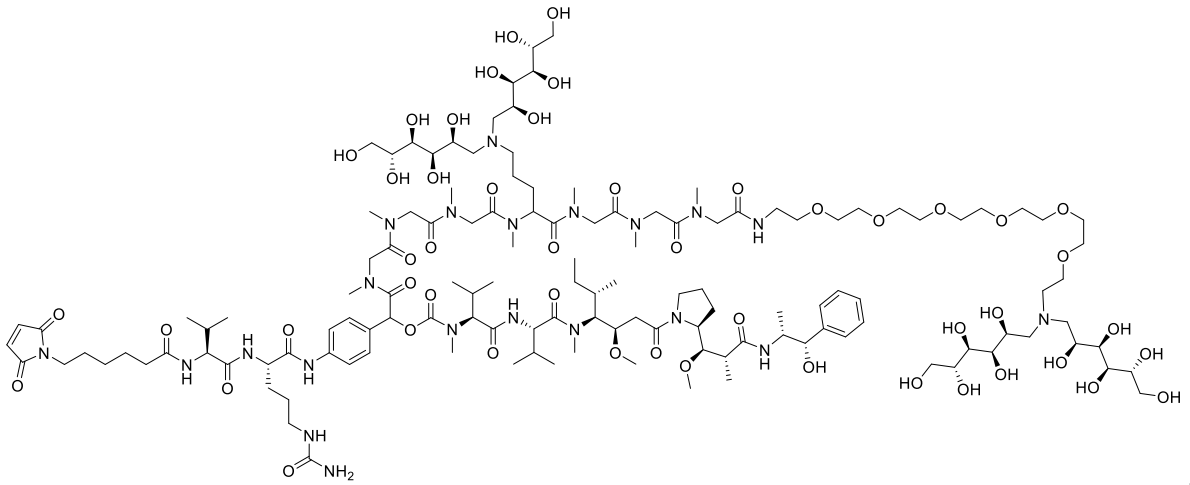
,



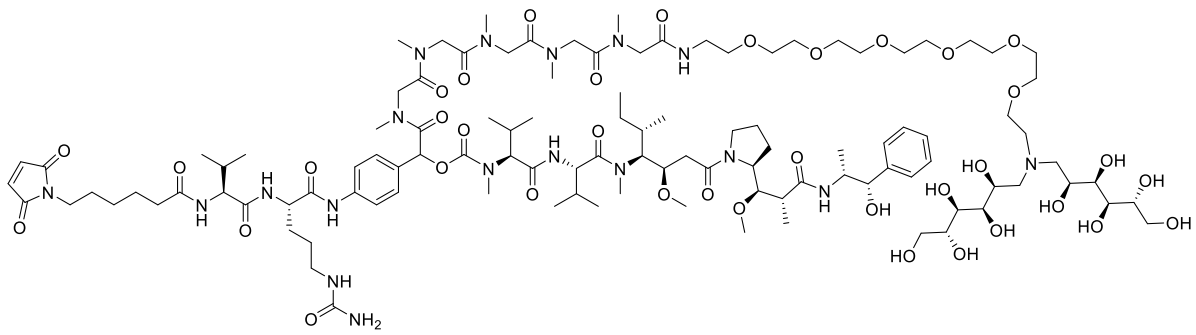
,



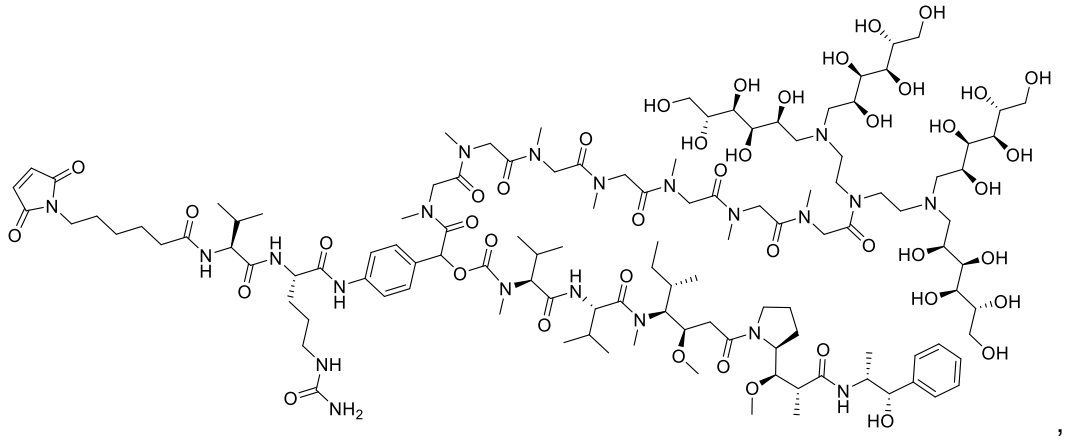
,



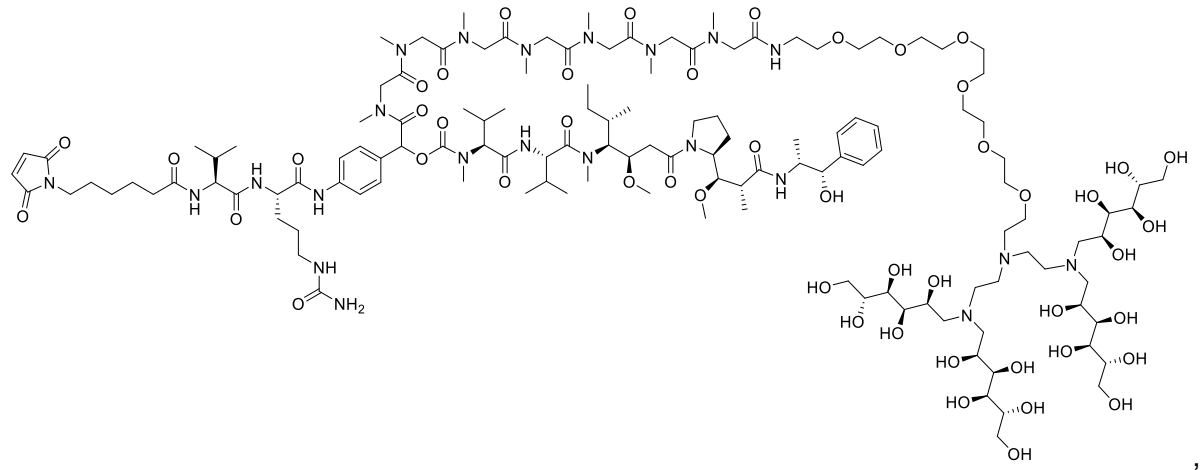
,



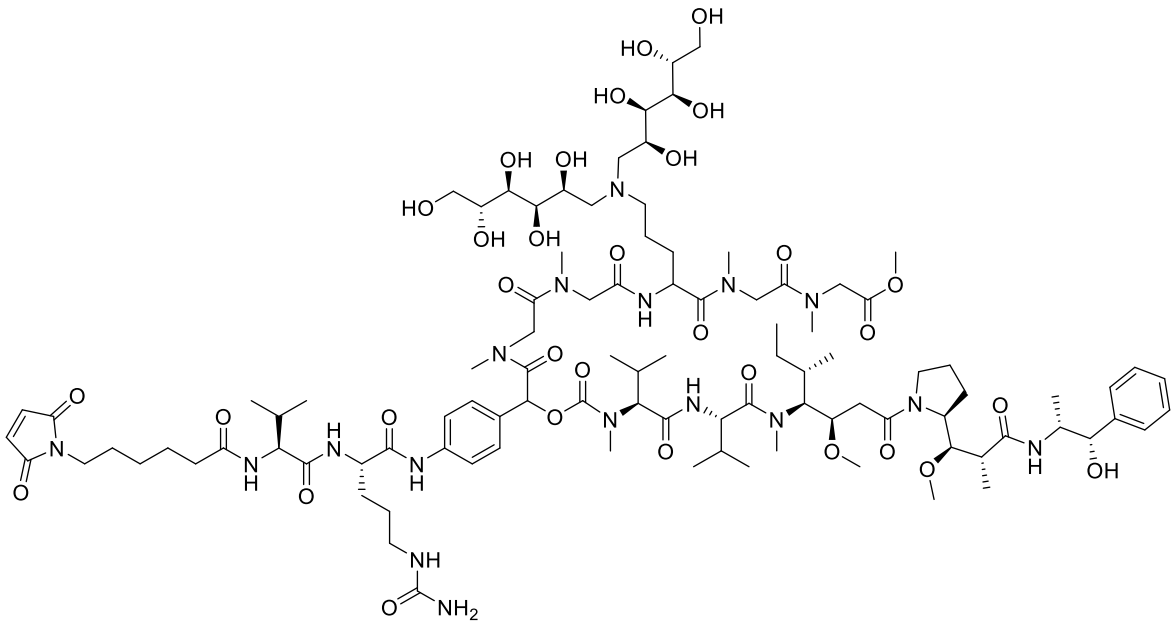
,



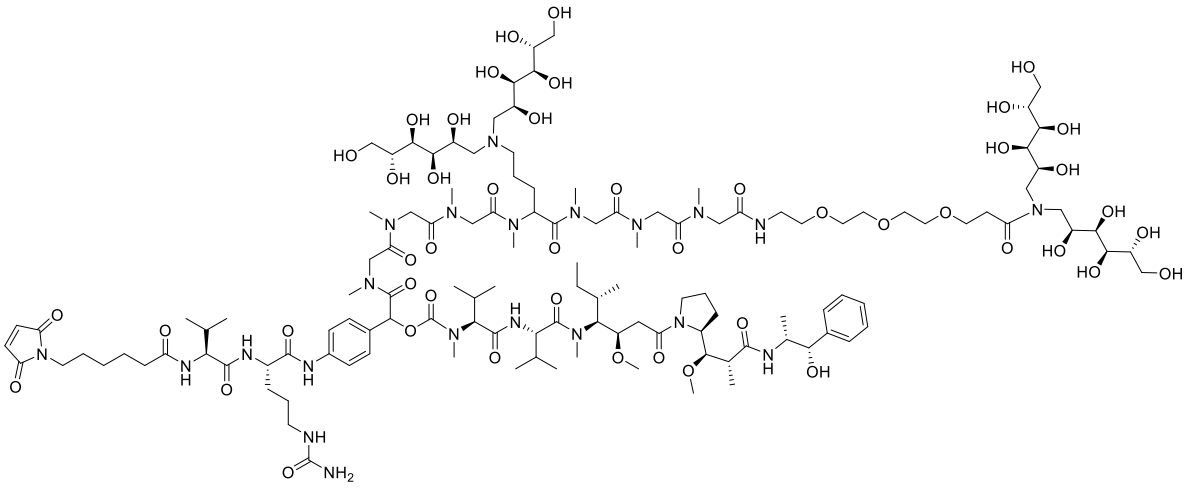
,



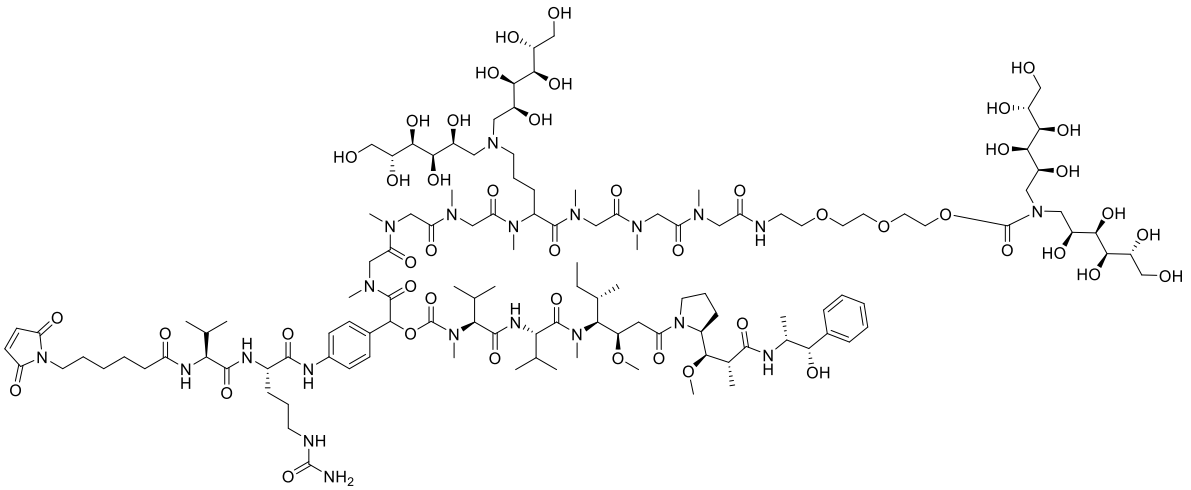
,



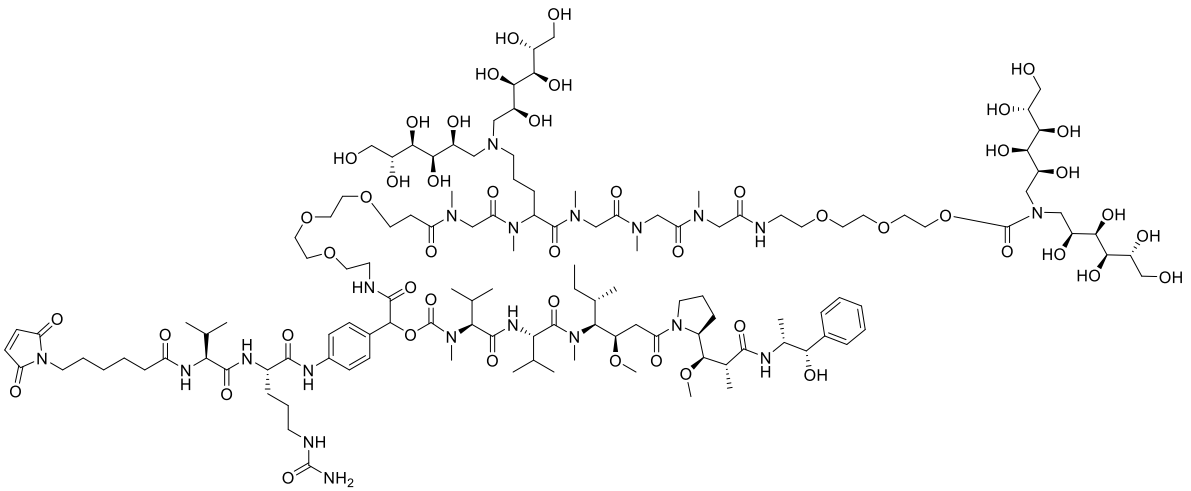
,



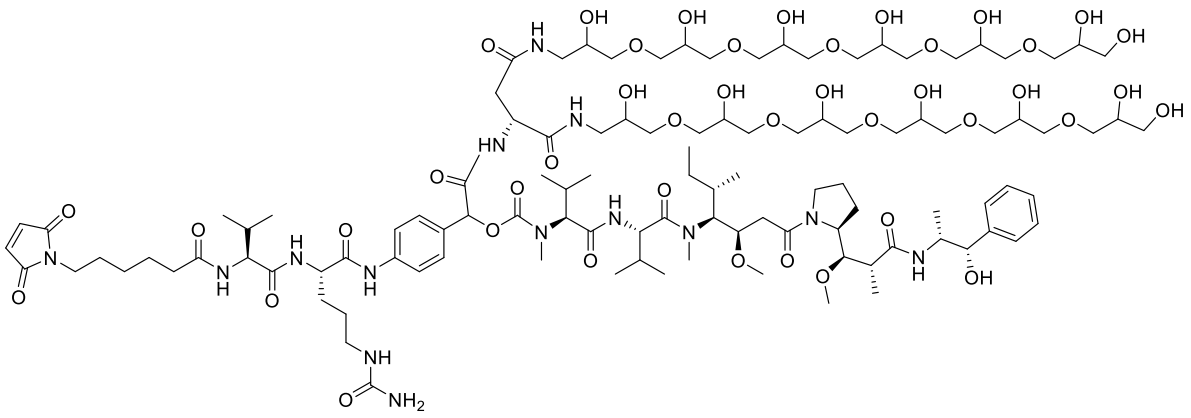
,



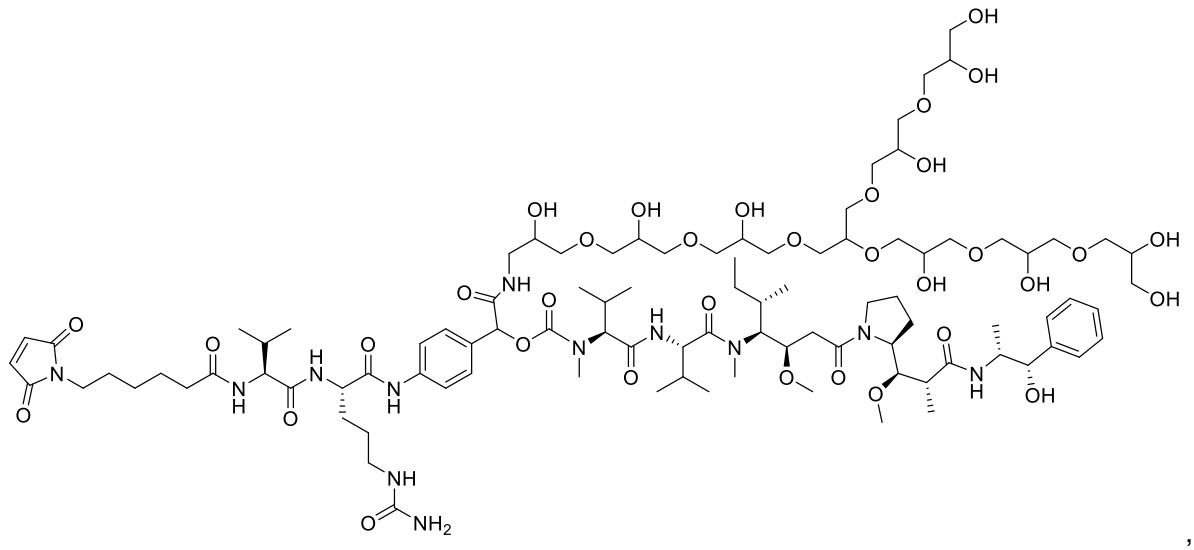
,



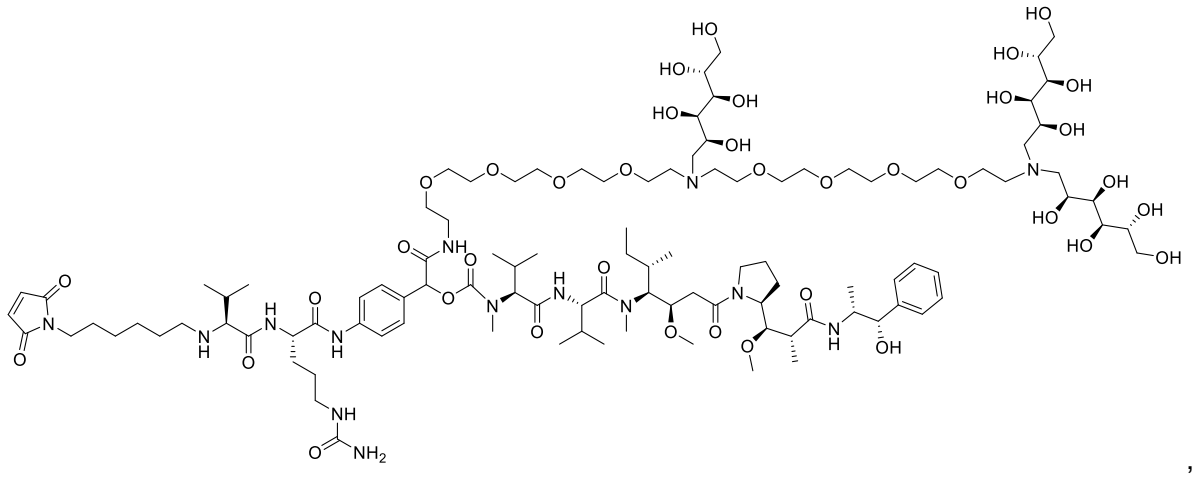
,



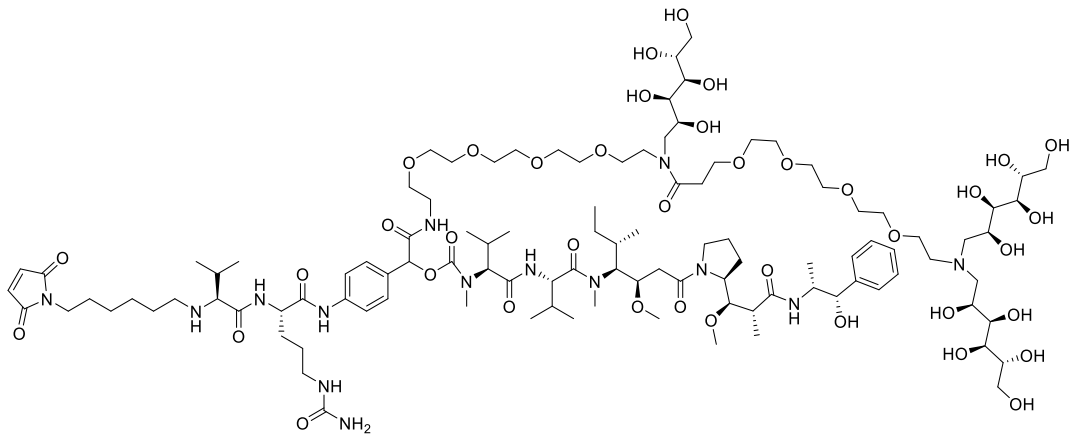
,



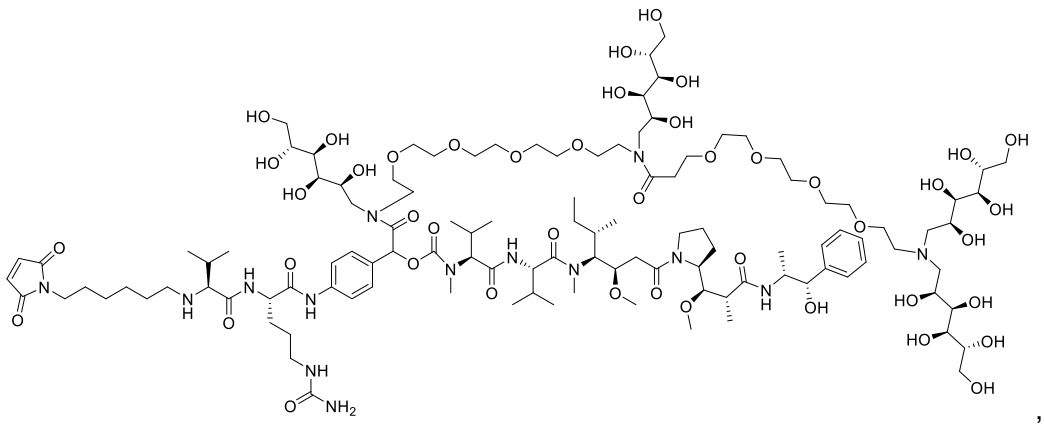
,



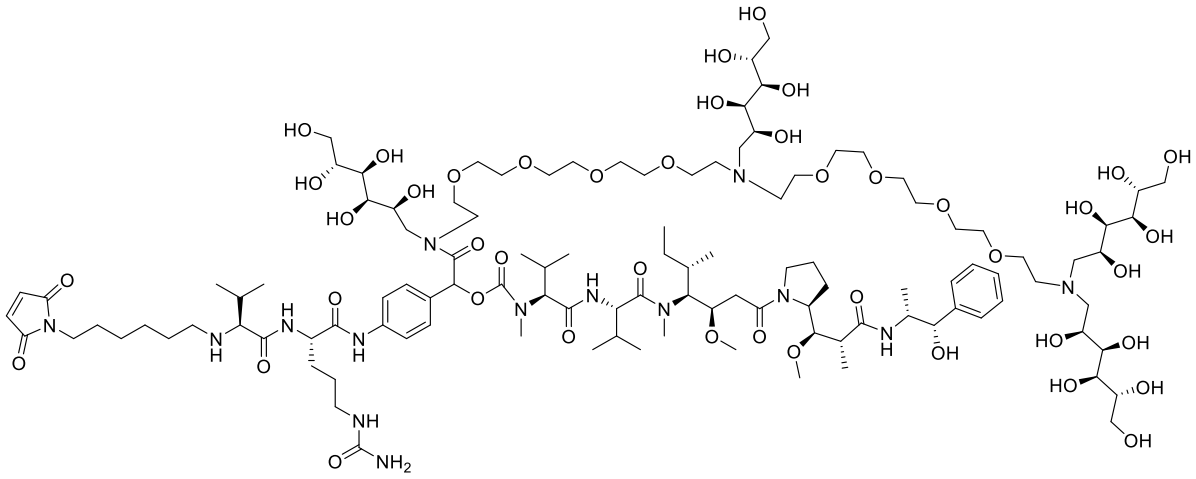
,



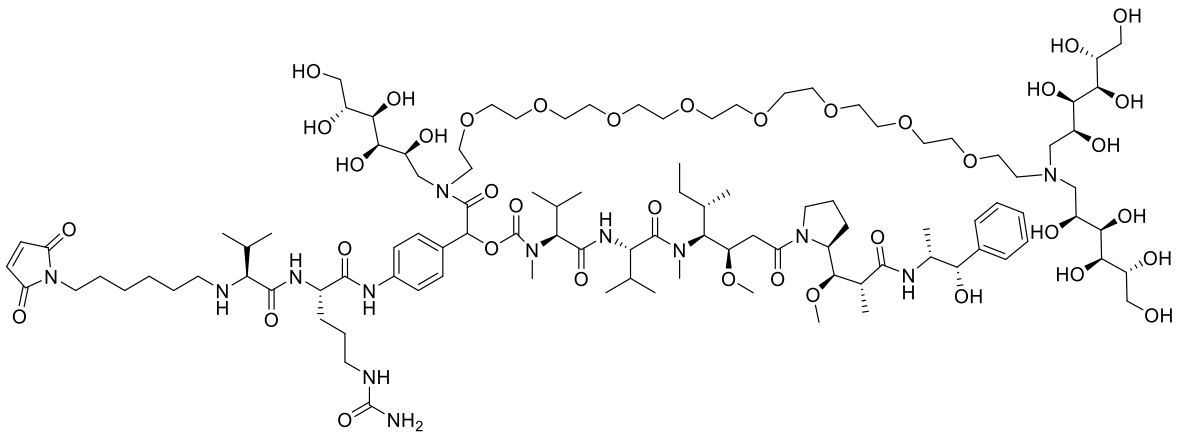
,



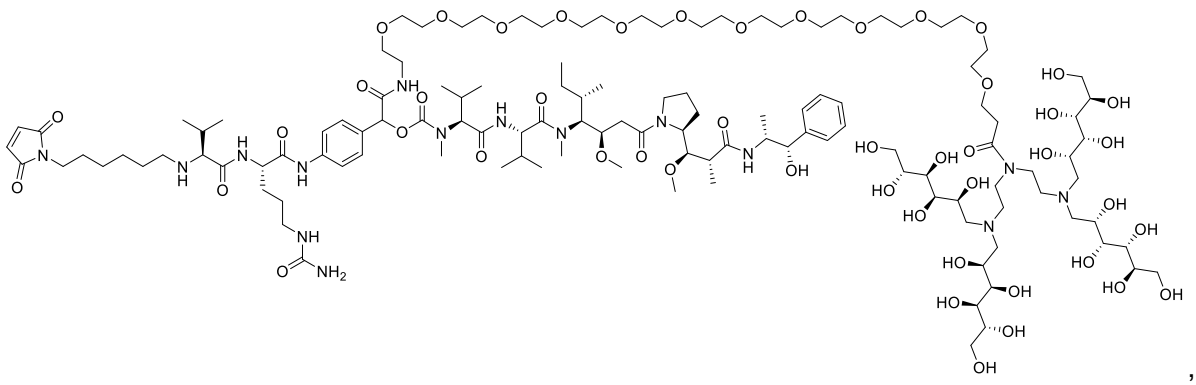
,



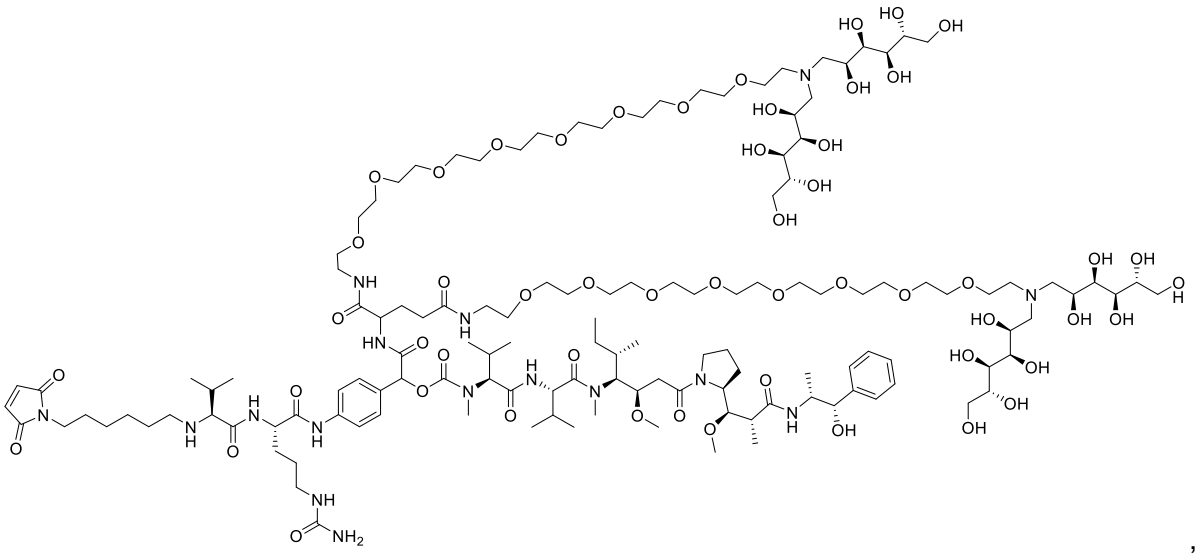
,



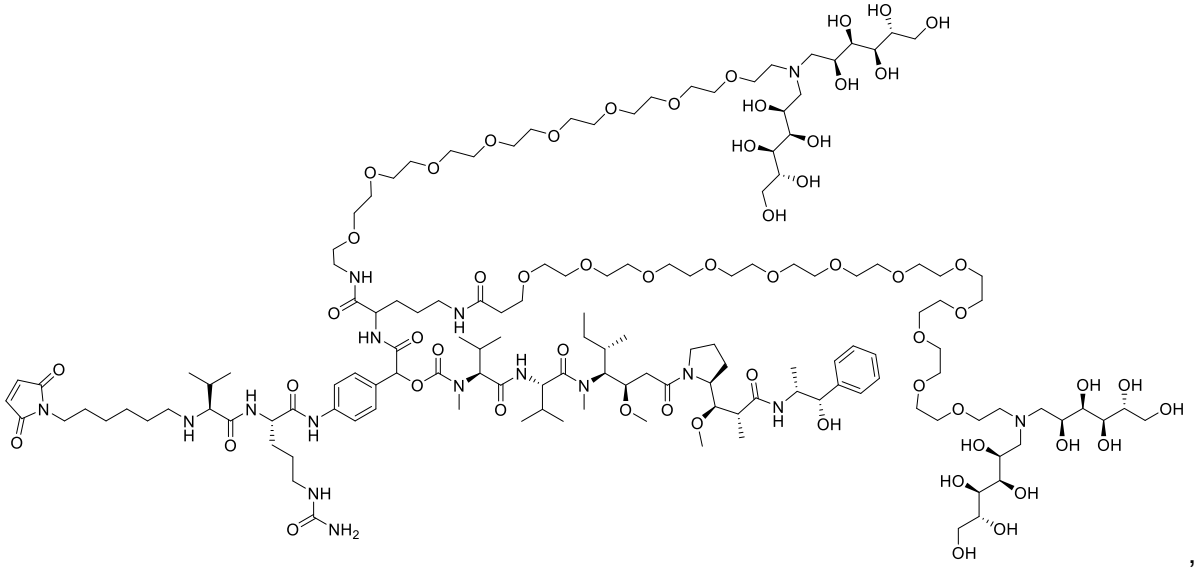
,



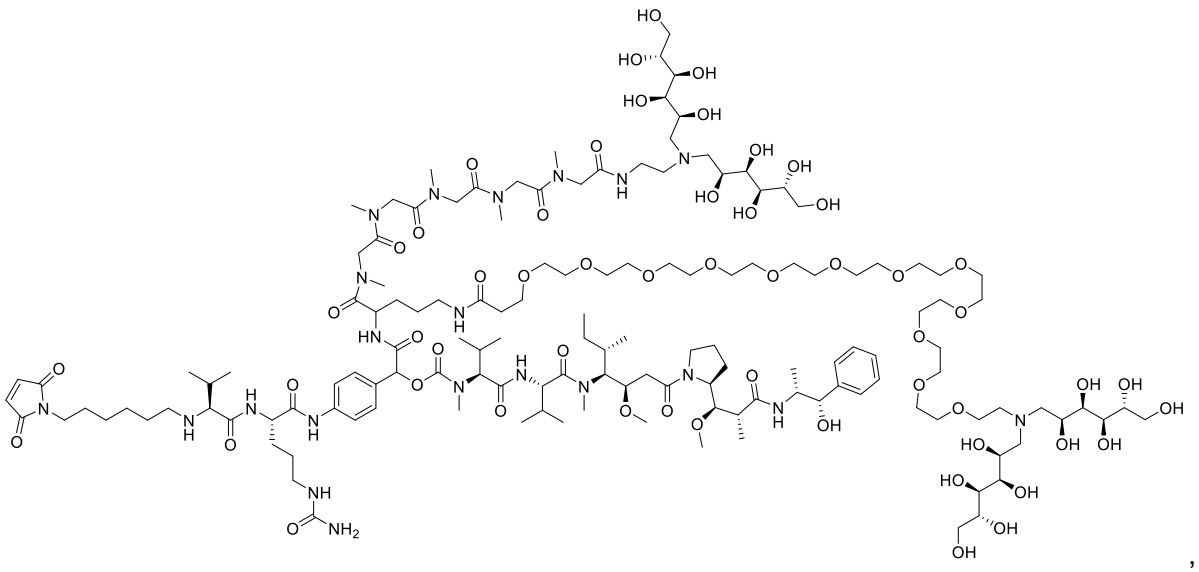
,



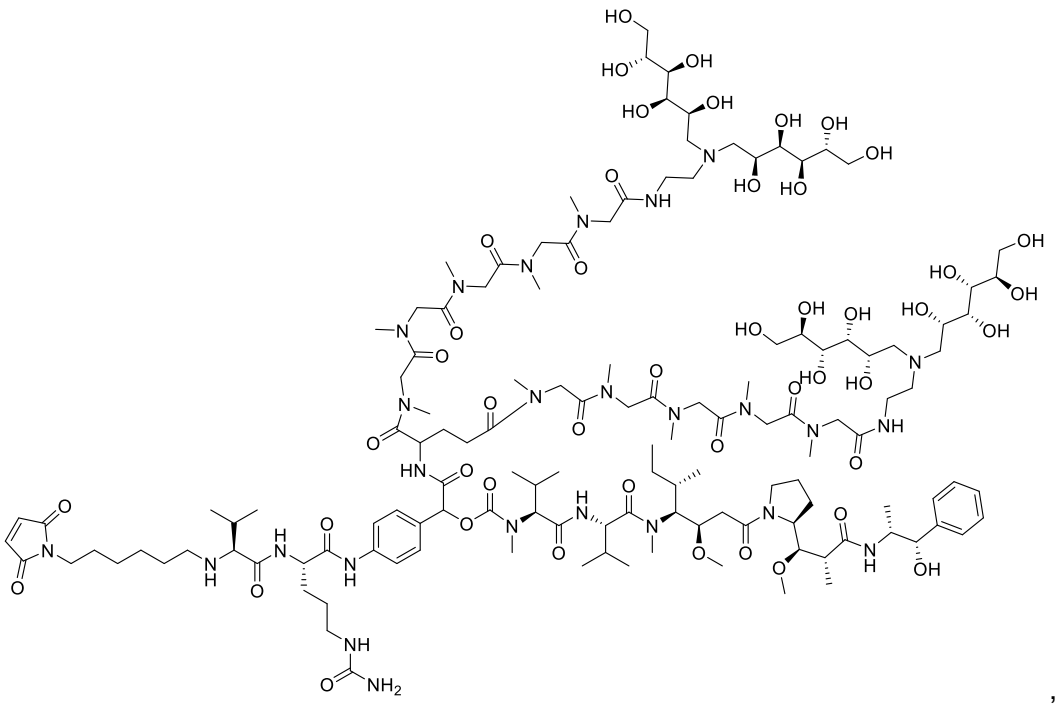
,



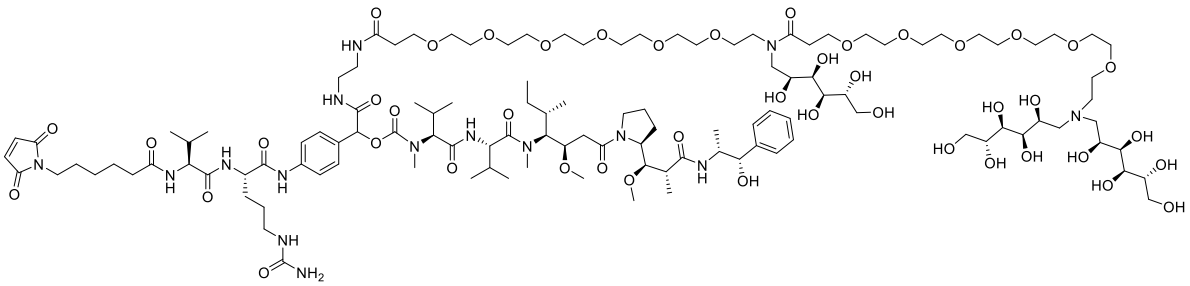
,



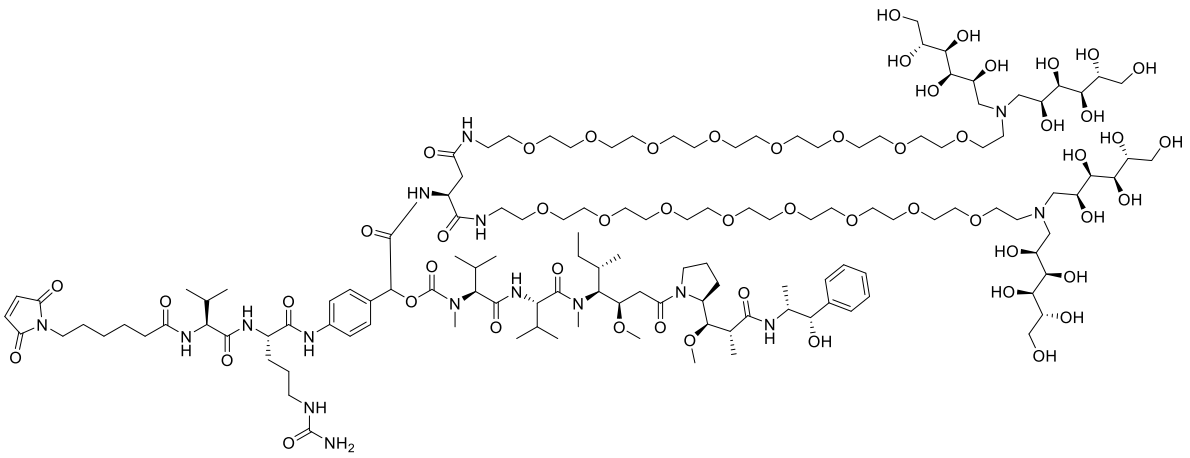
,



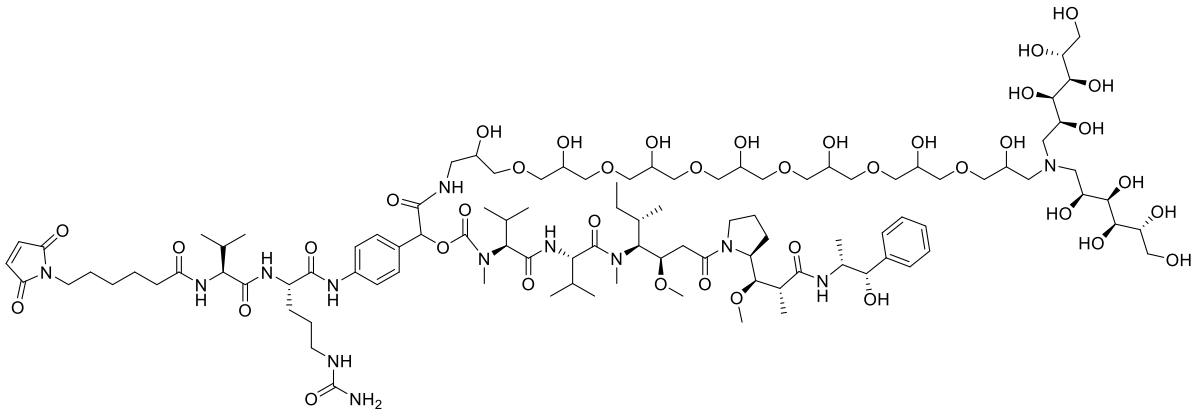
,



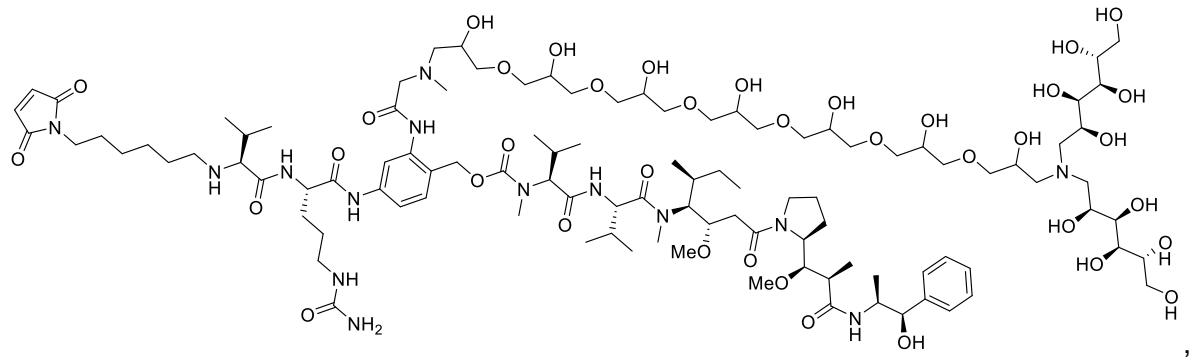
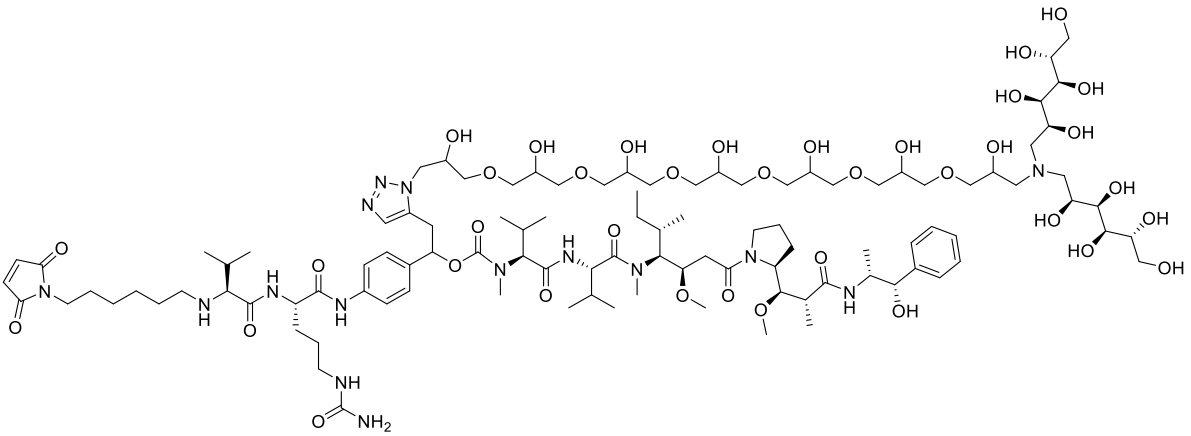
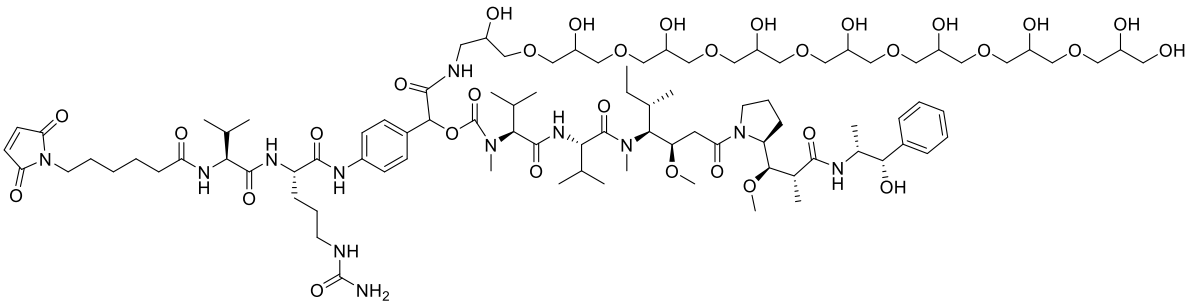
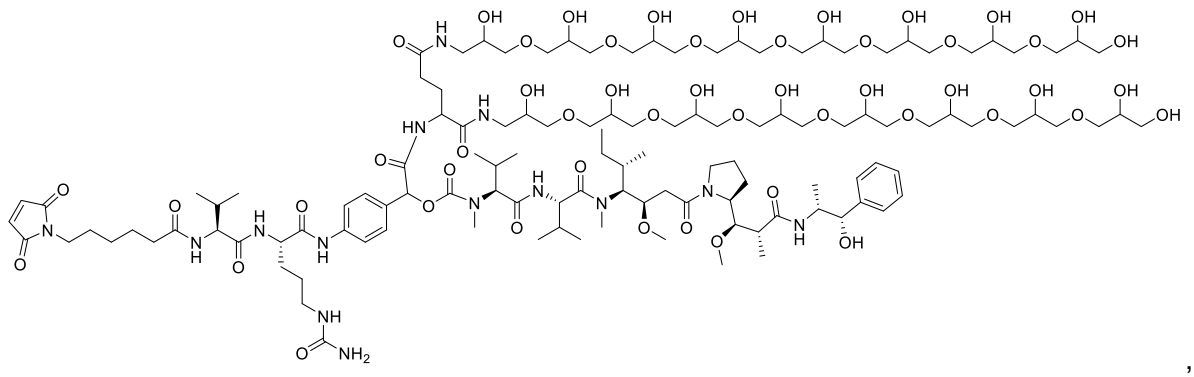
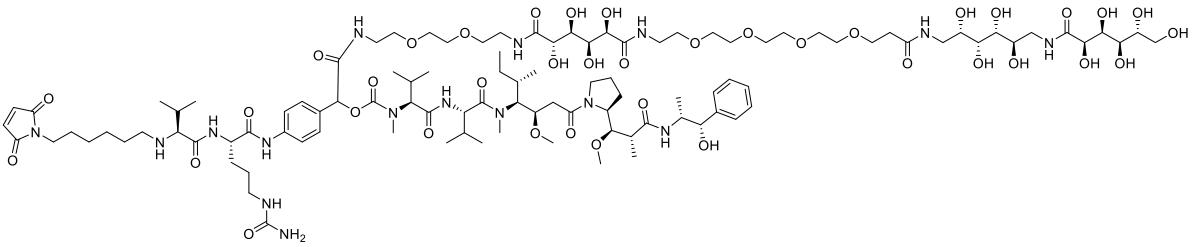
,

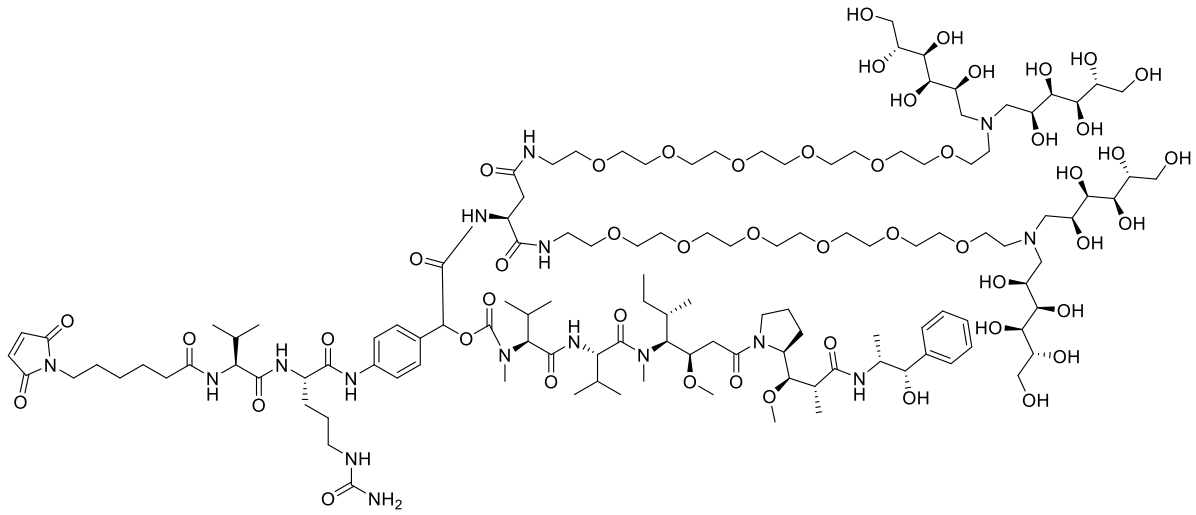


,

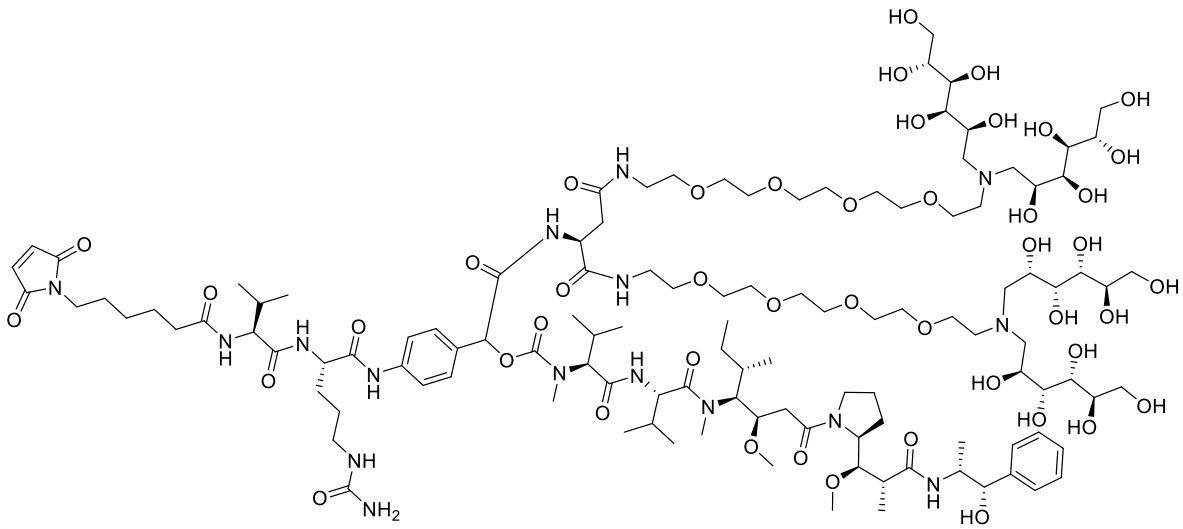


,

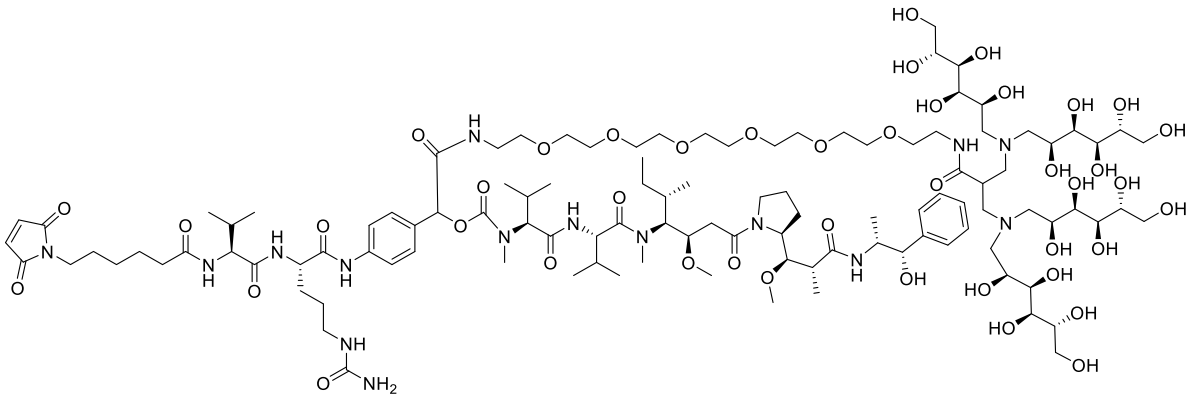

,

,

,

,

,



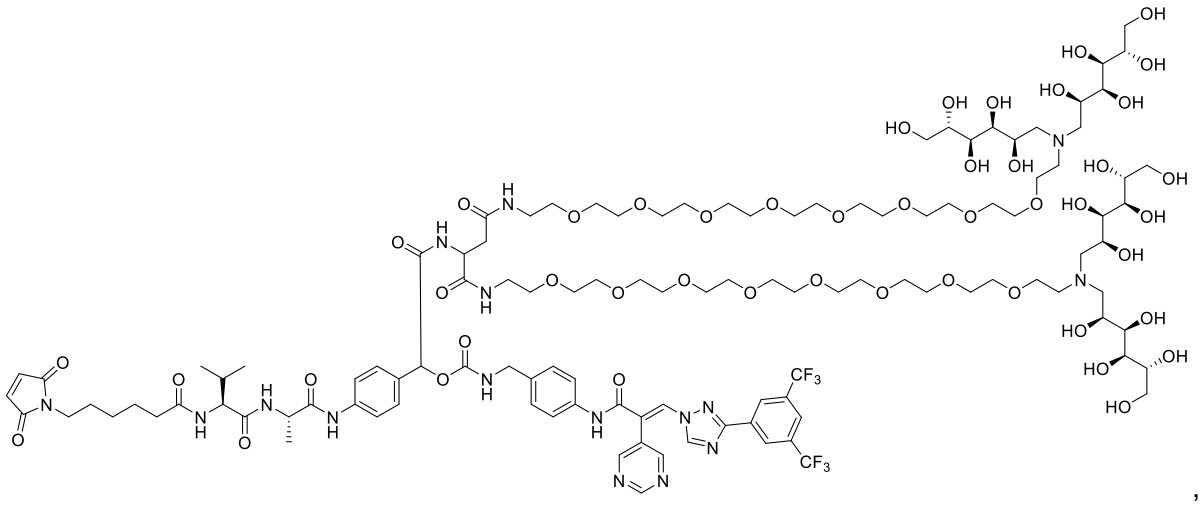
,



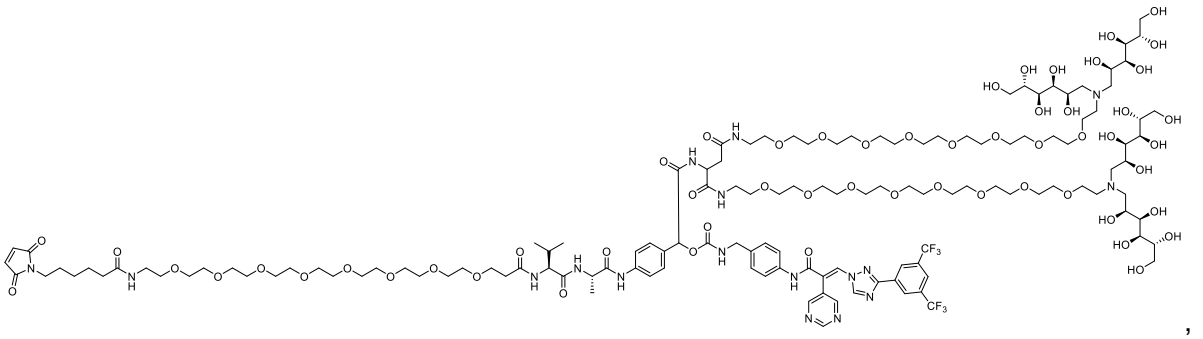
. ,



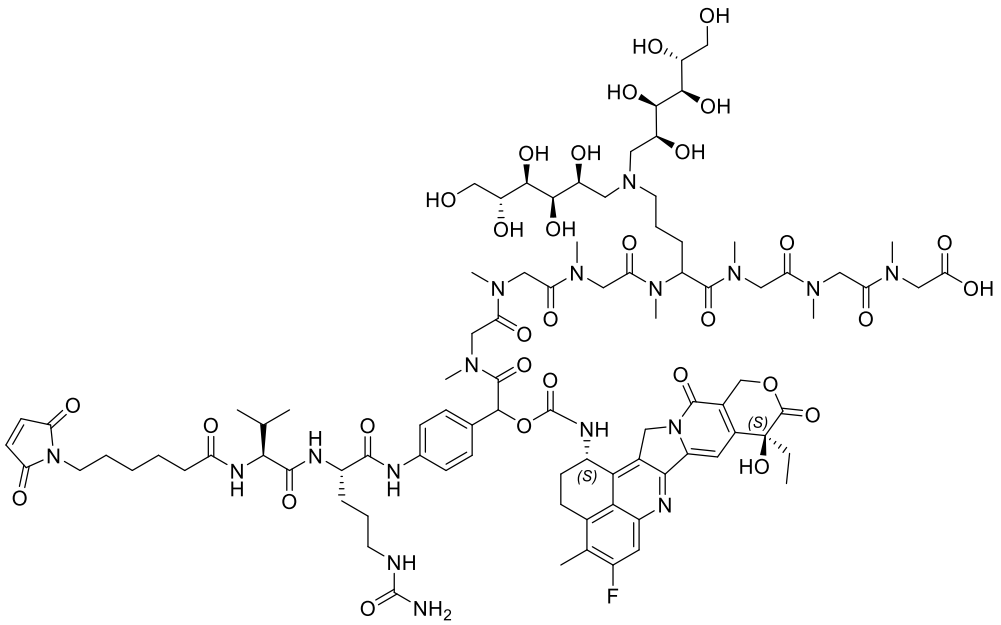
,



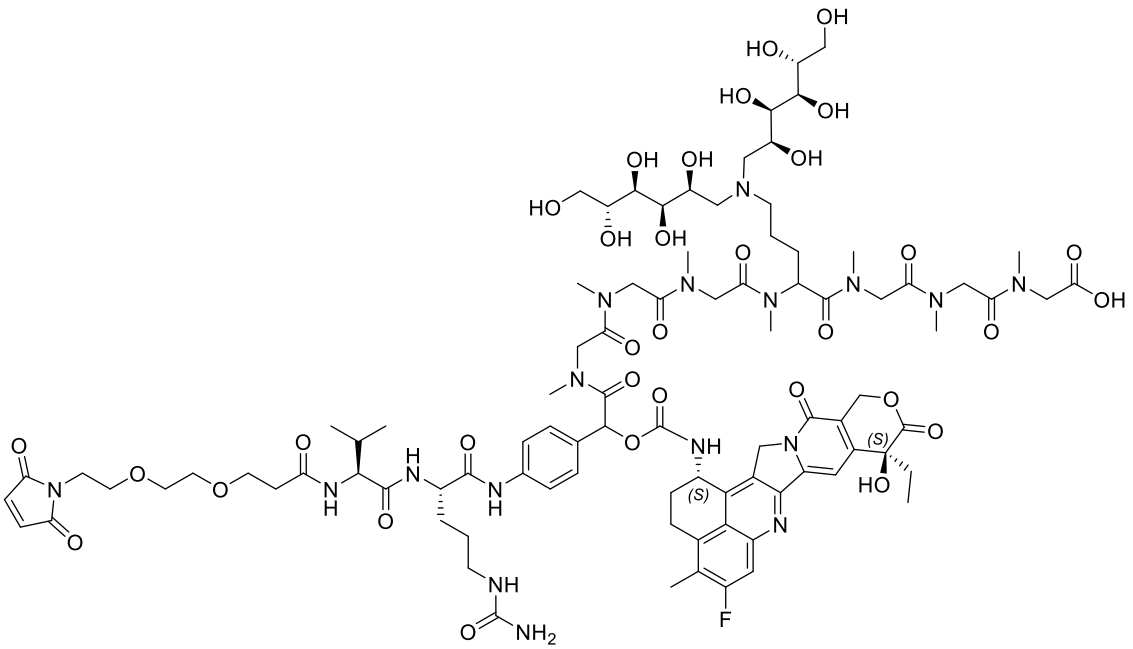
,



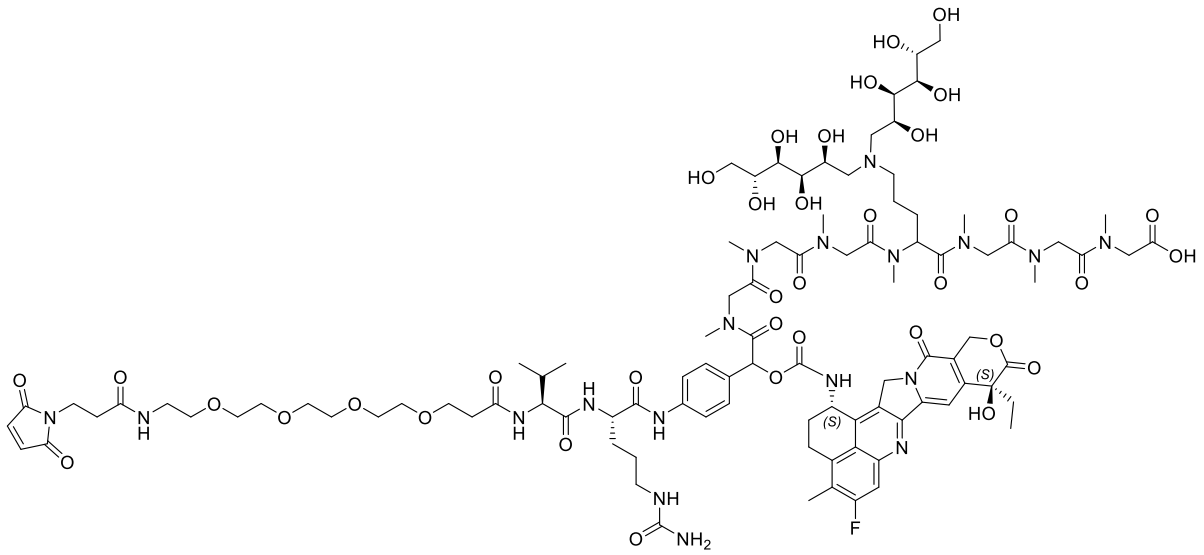
,



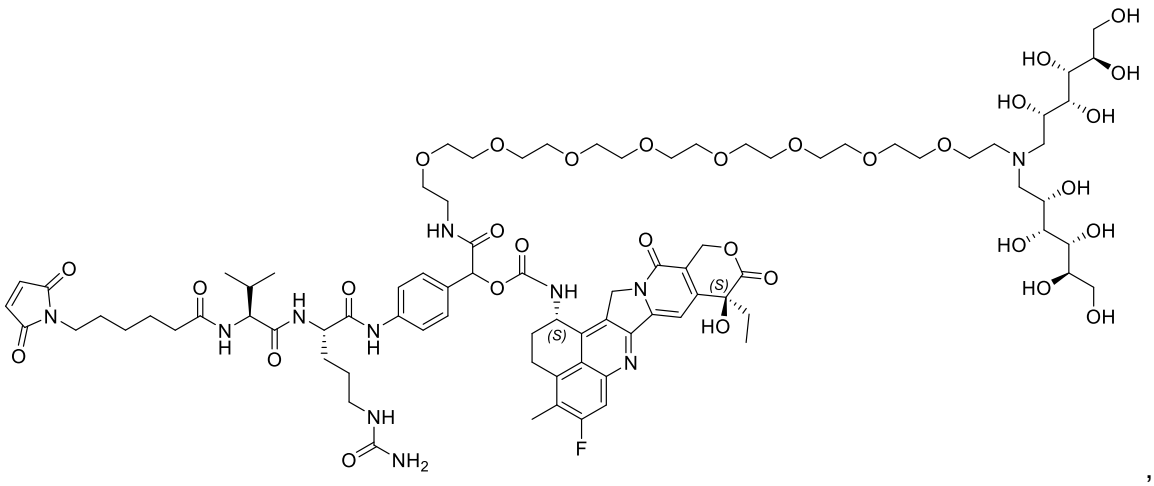
,



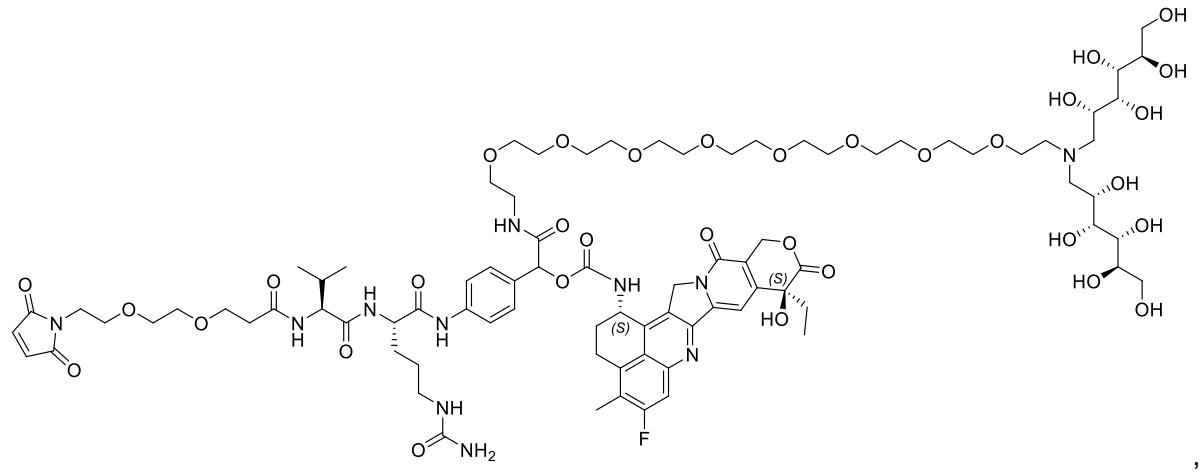
,



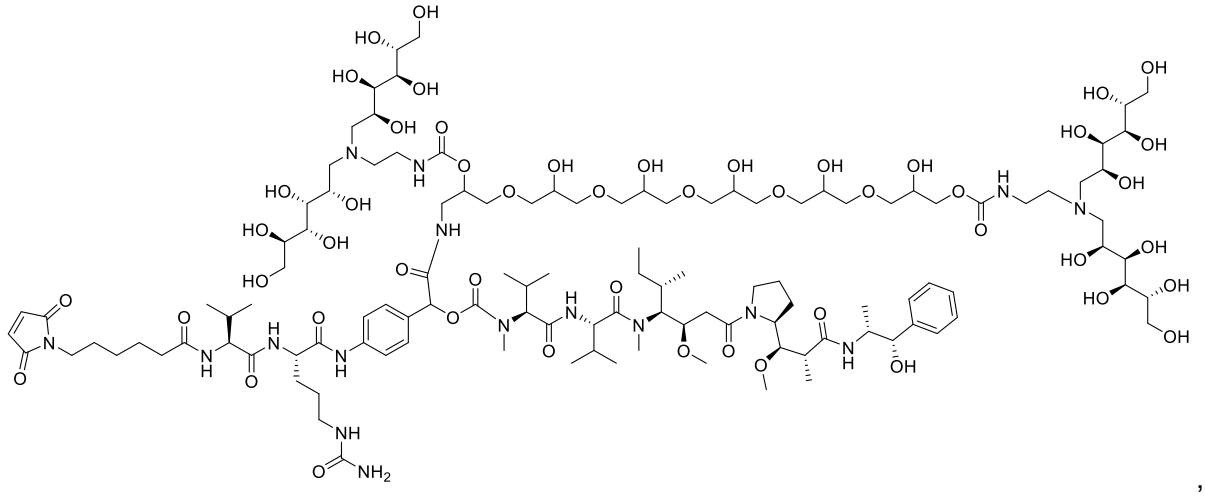
,



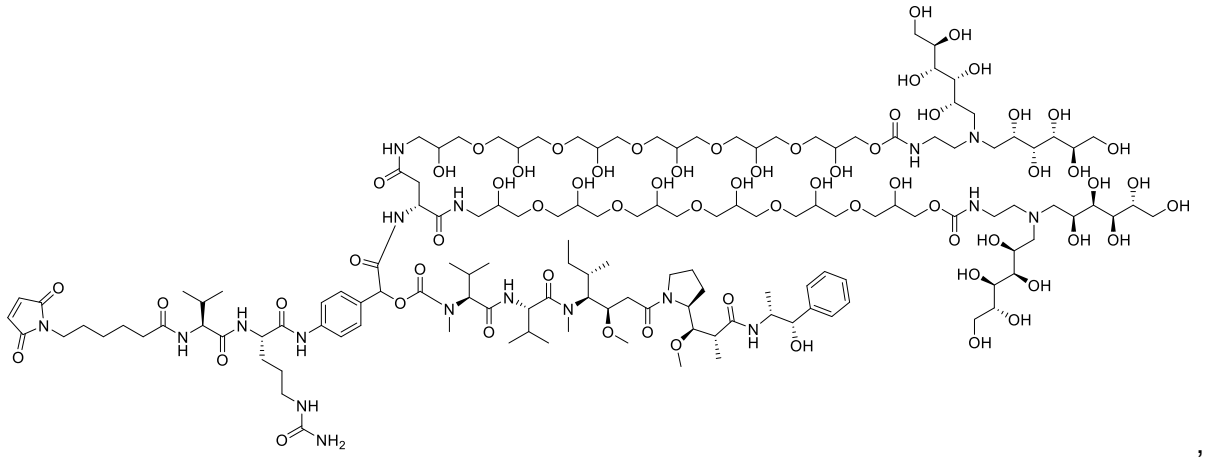
,



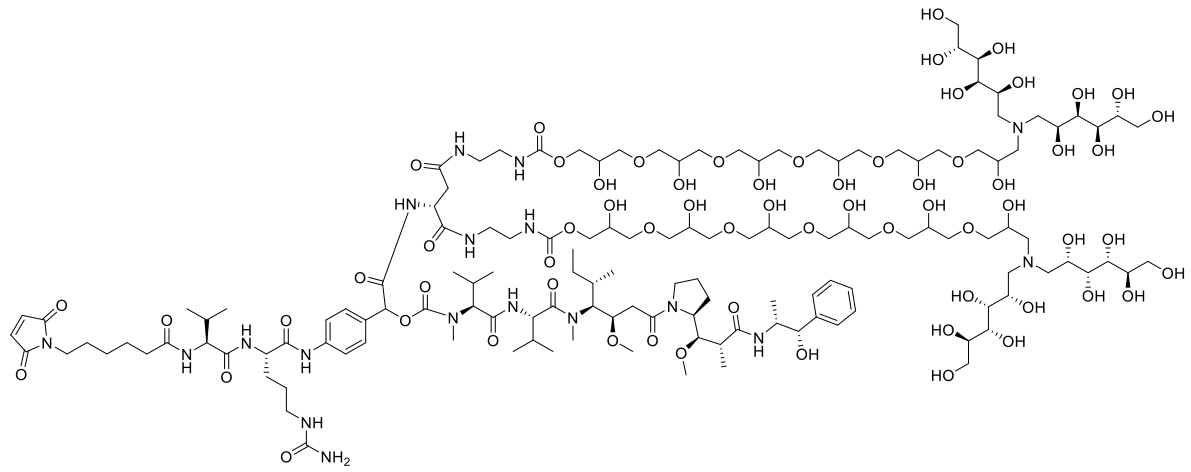
,



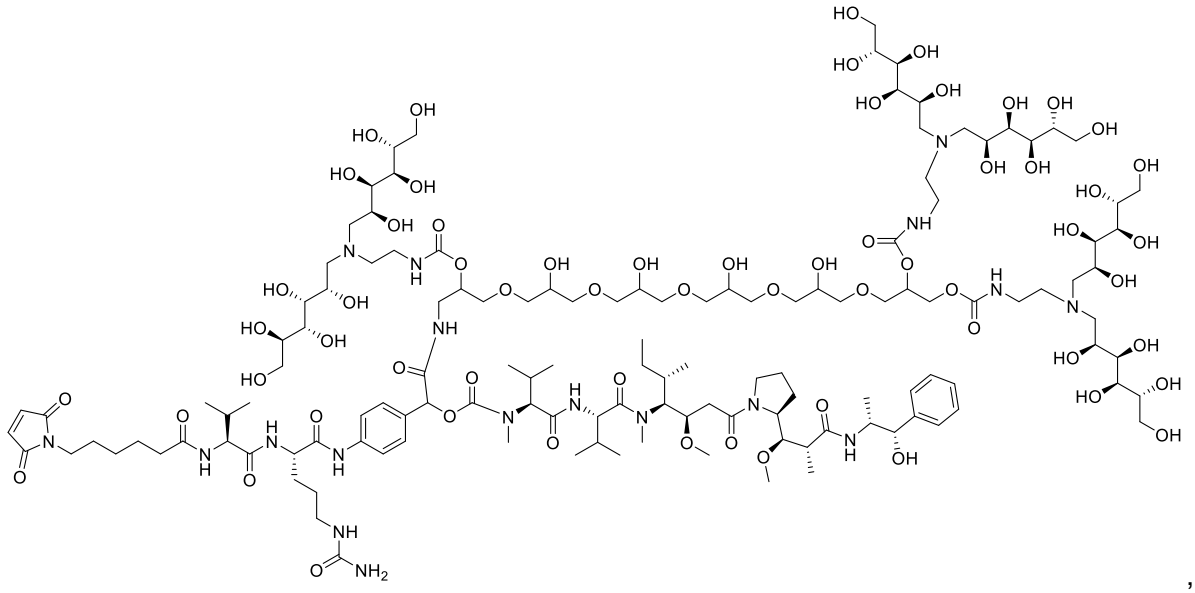
,



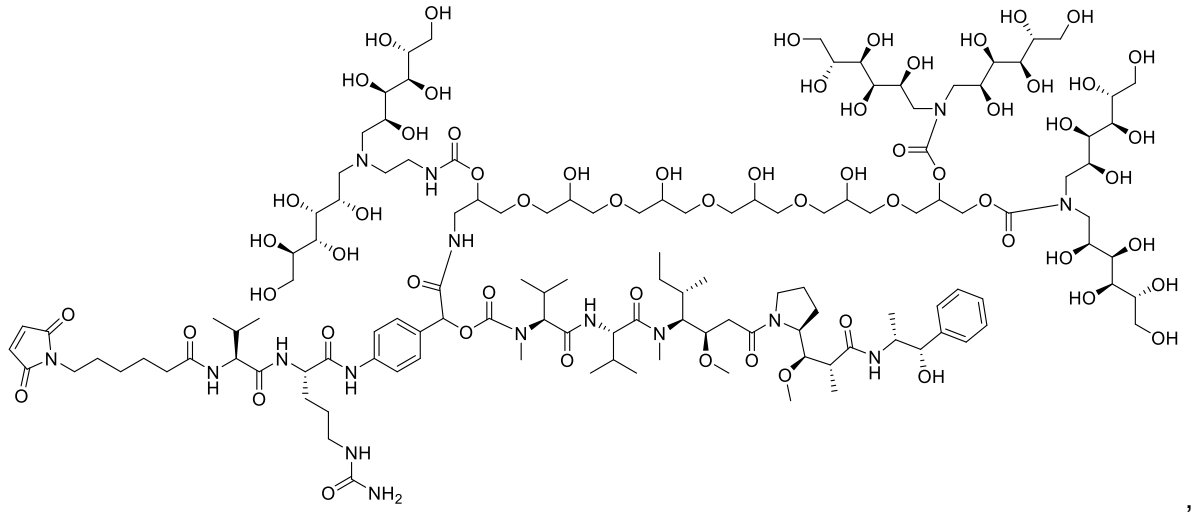
,



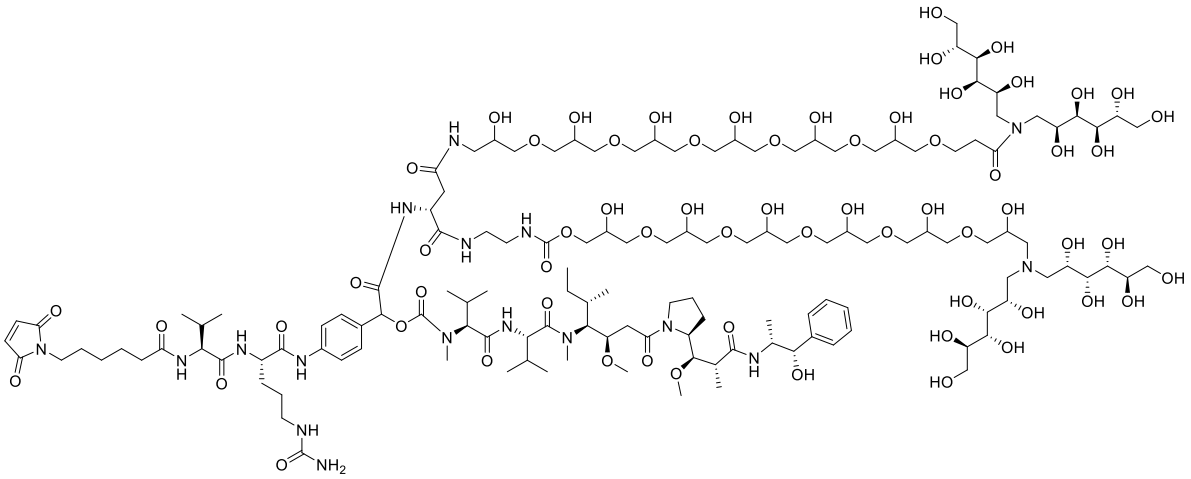
,



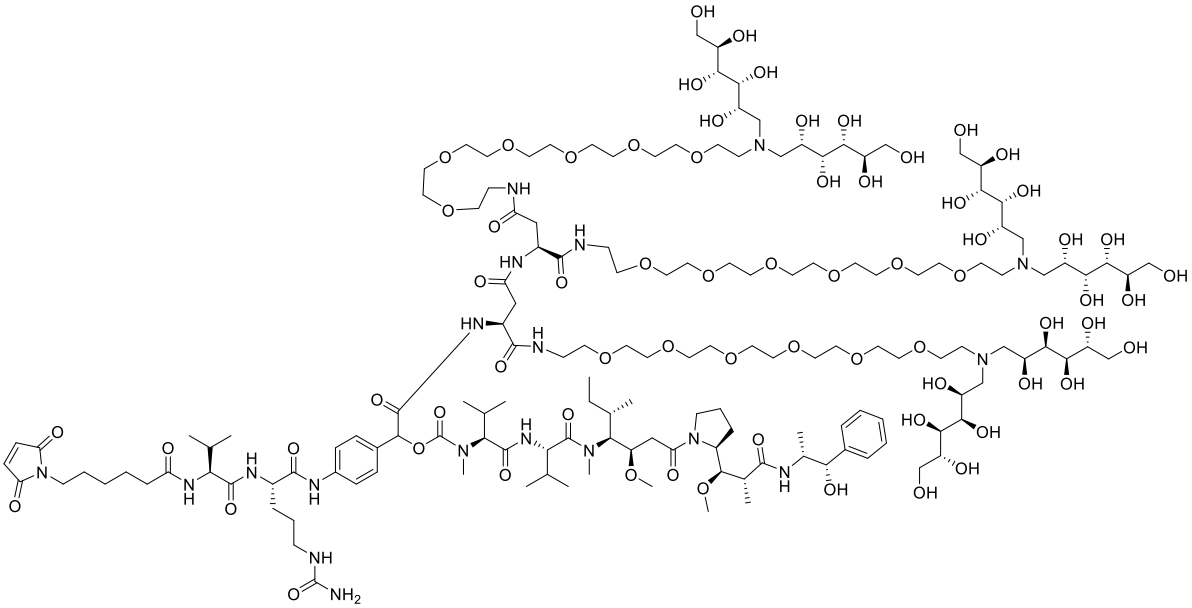
,



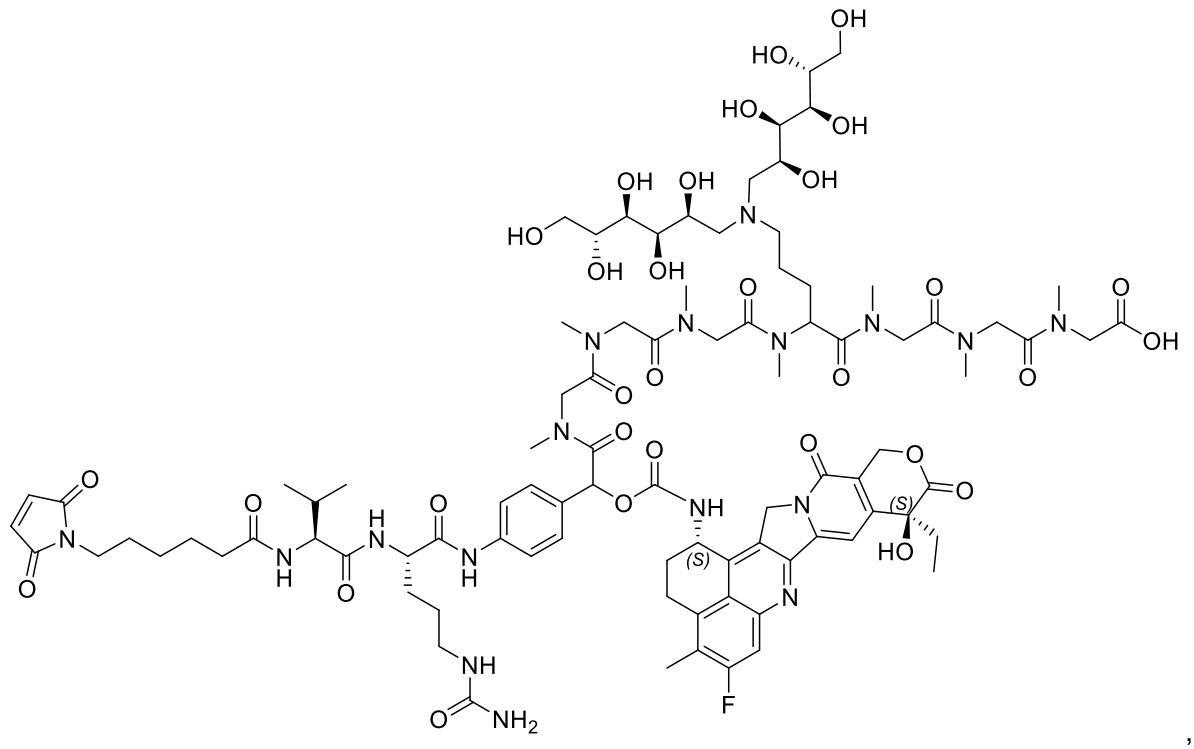
,



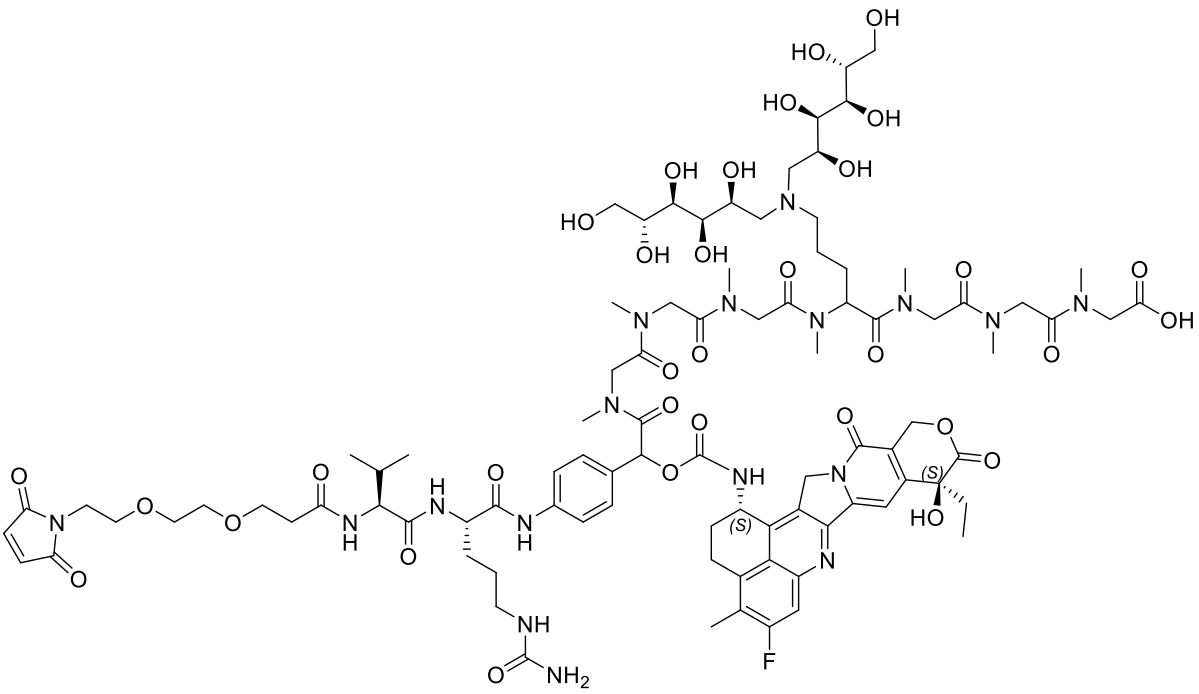
,

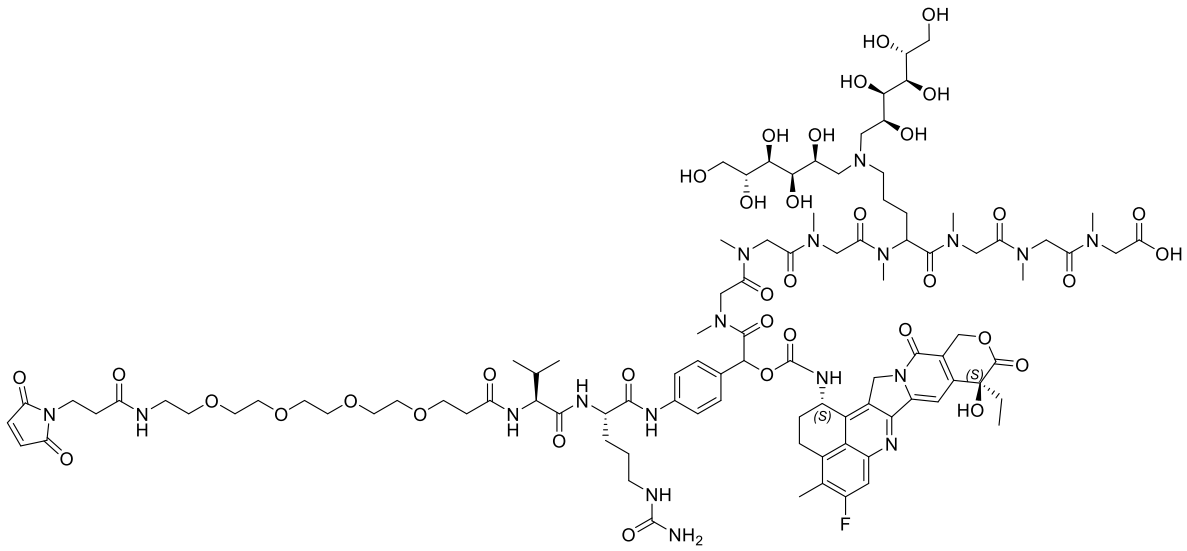


,

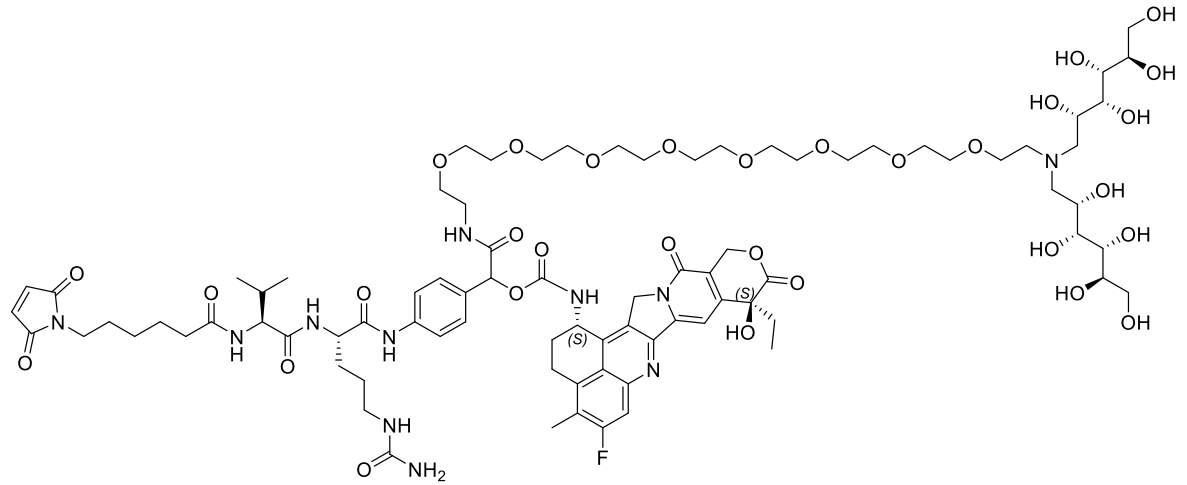


,

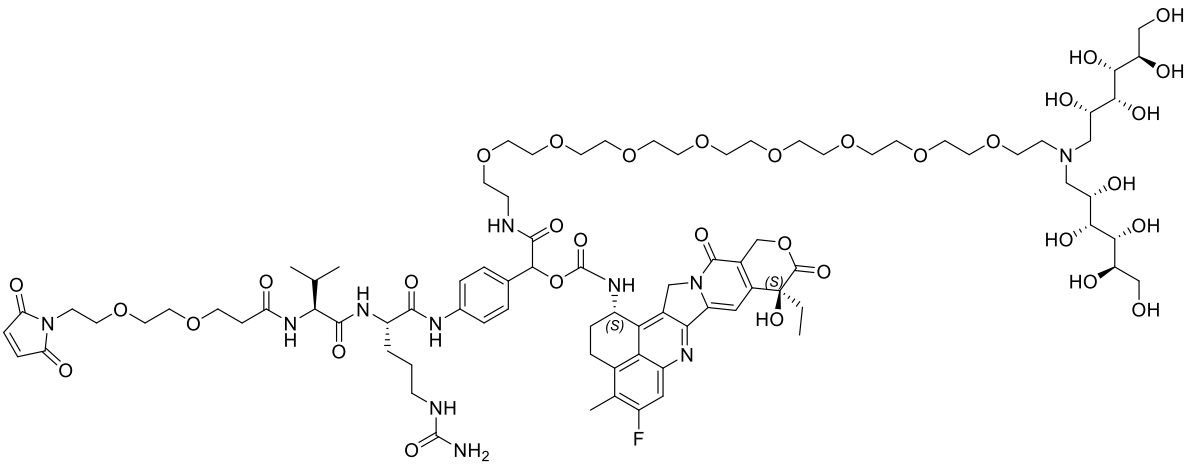




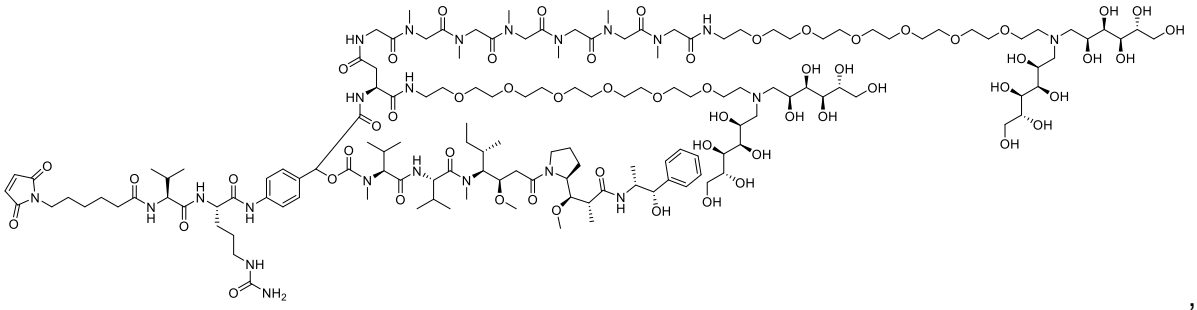
,



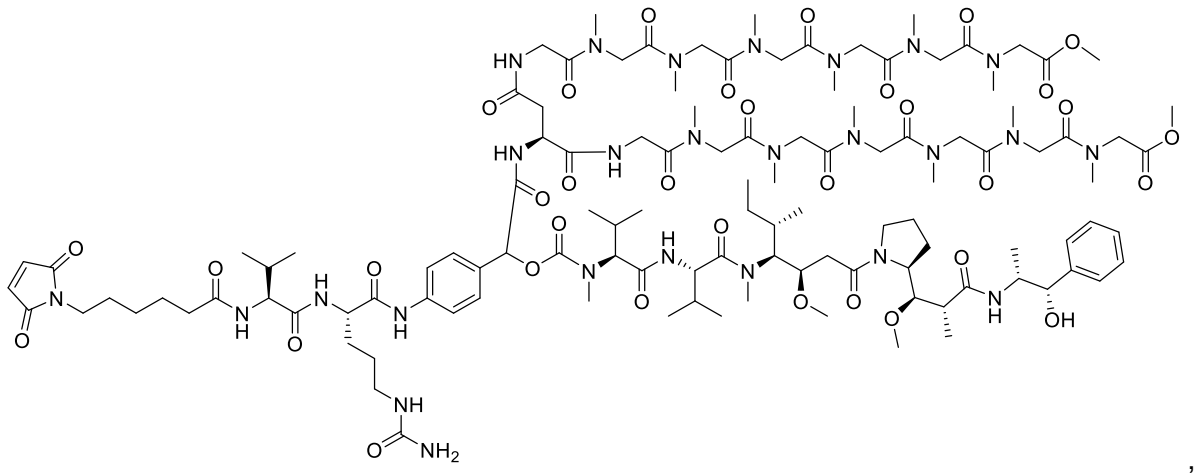
,



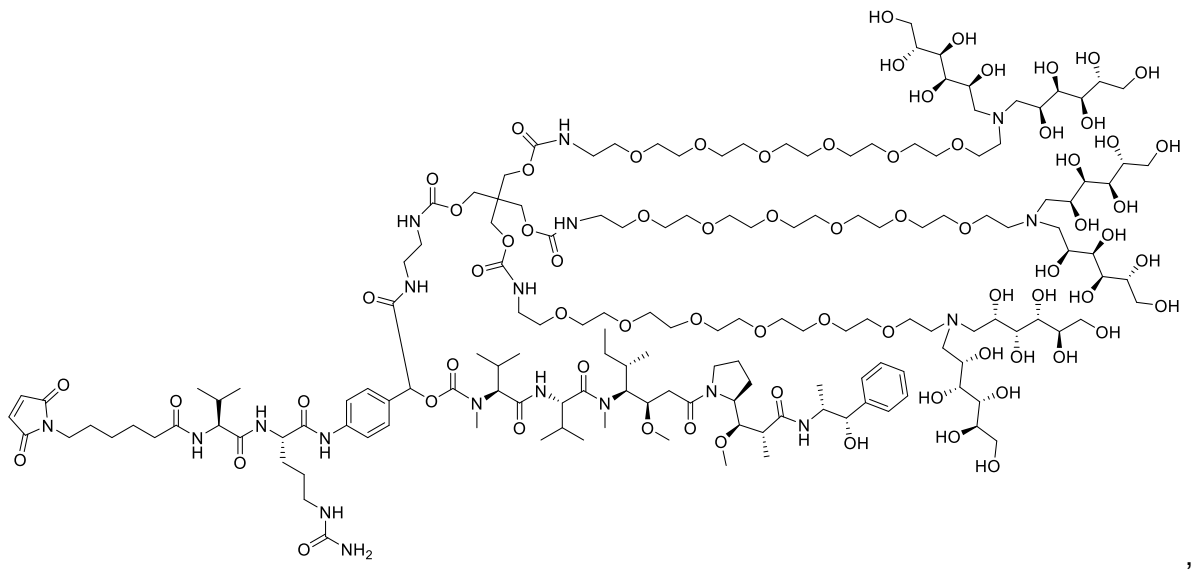
,



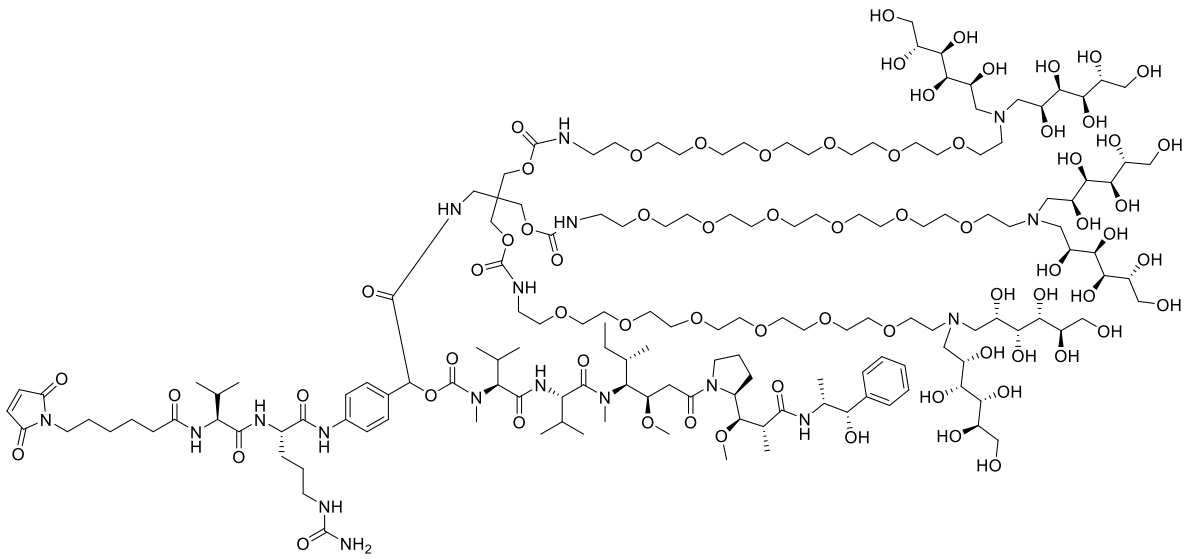
,



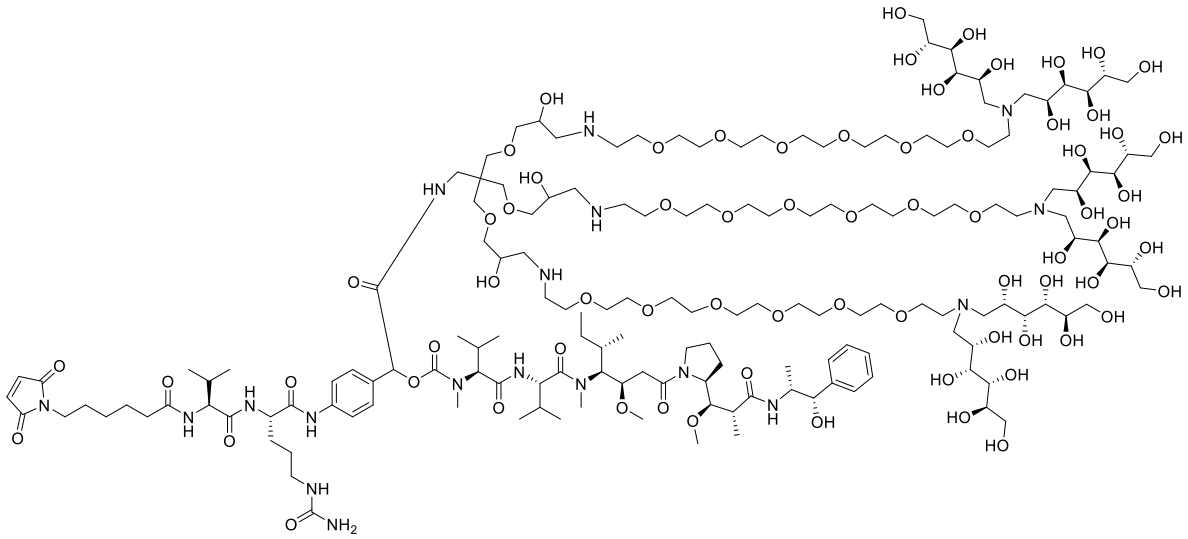
,



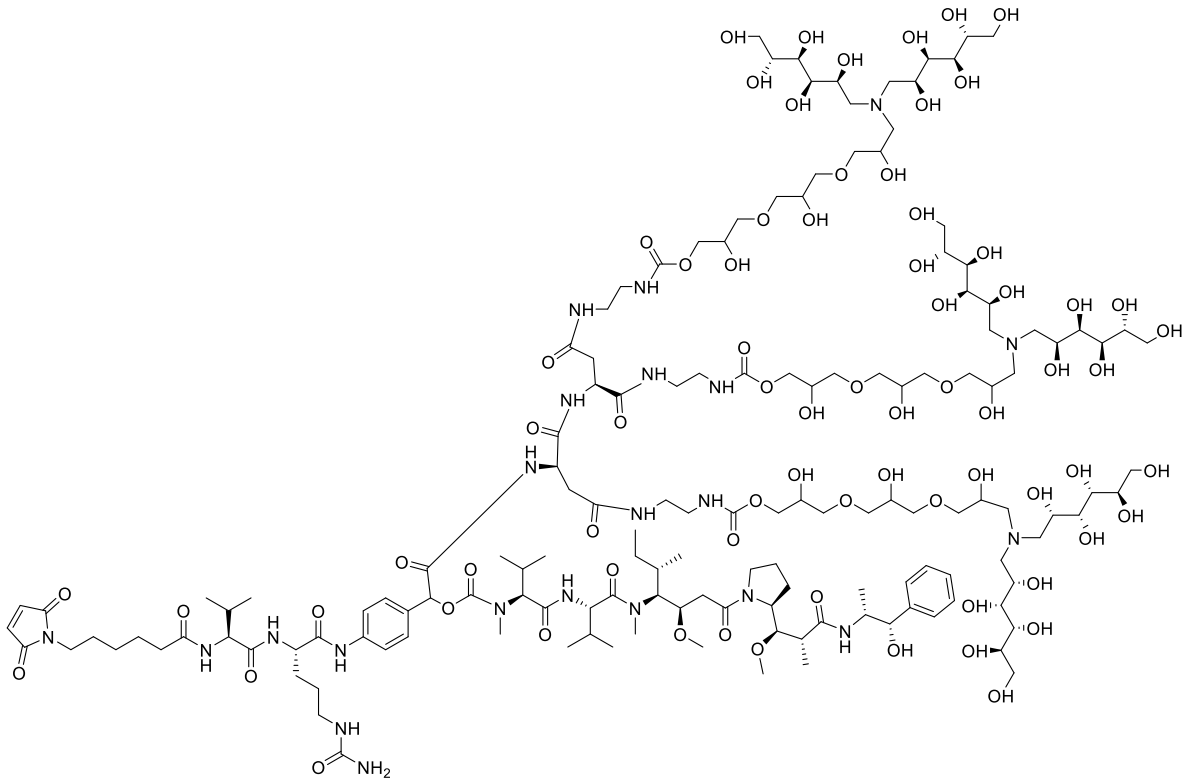
,



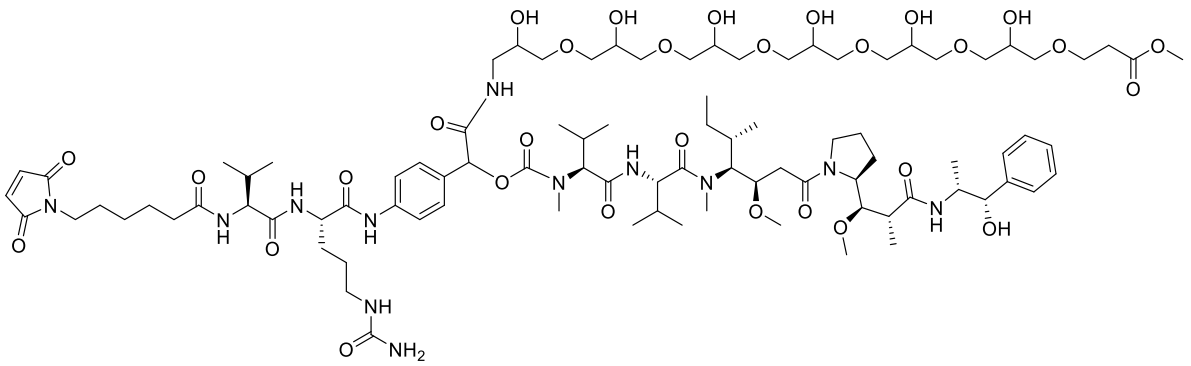
,



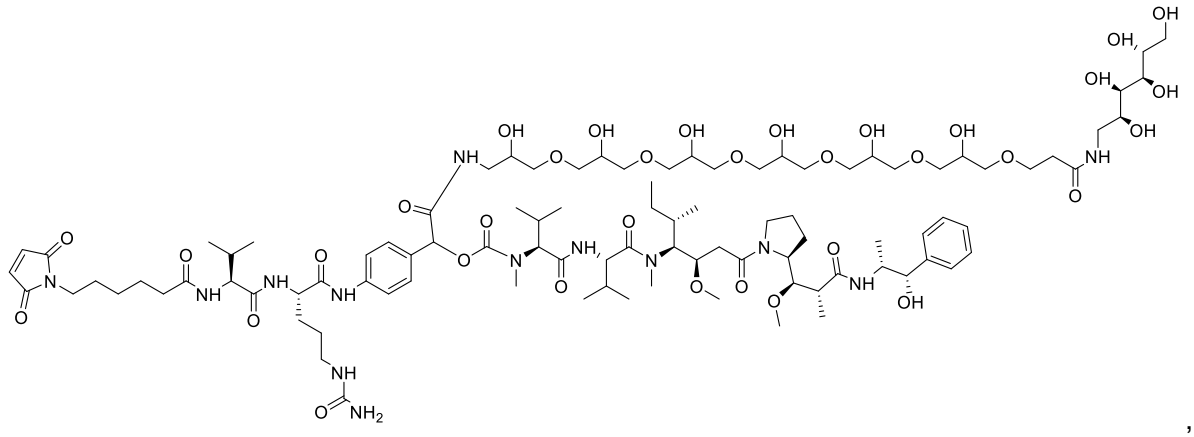
,



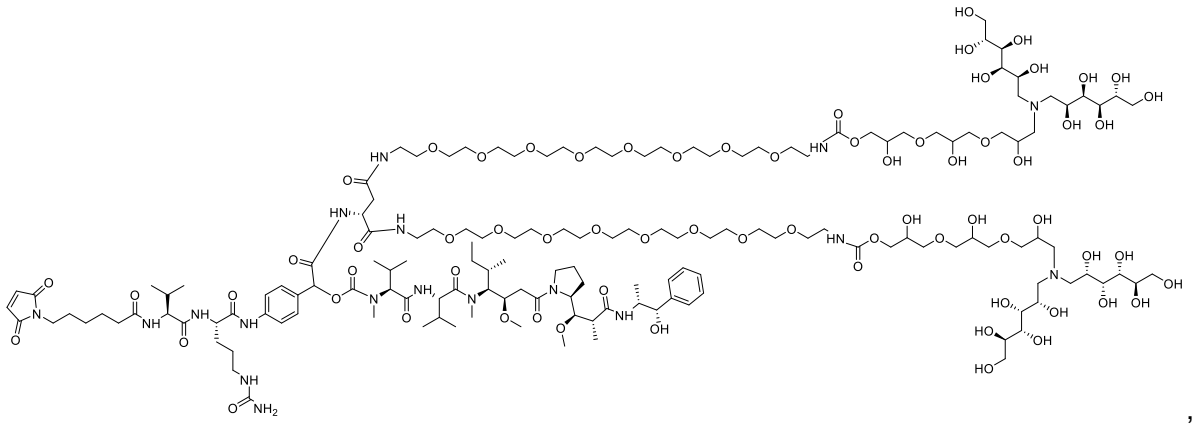
,



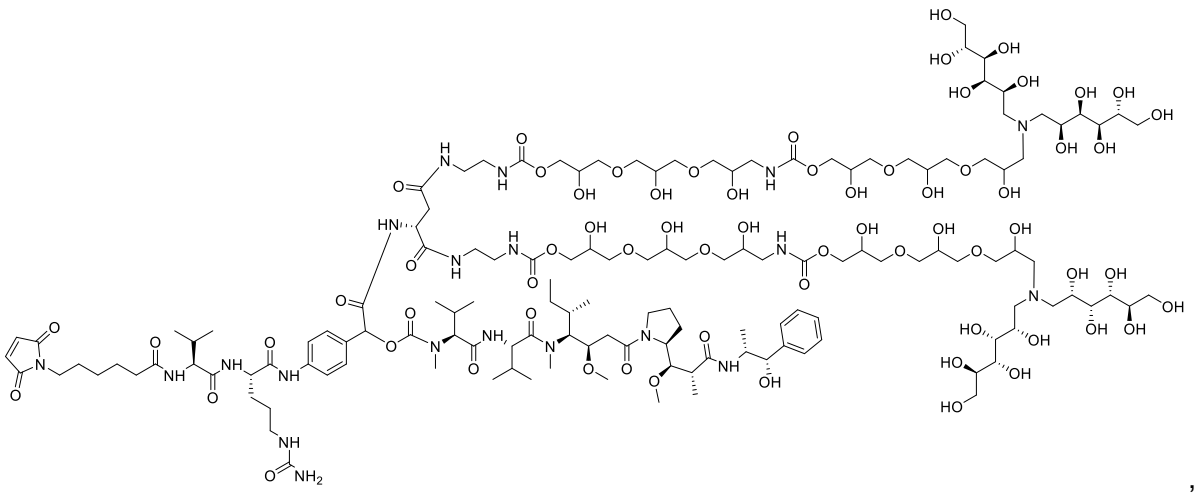
,



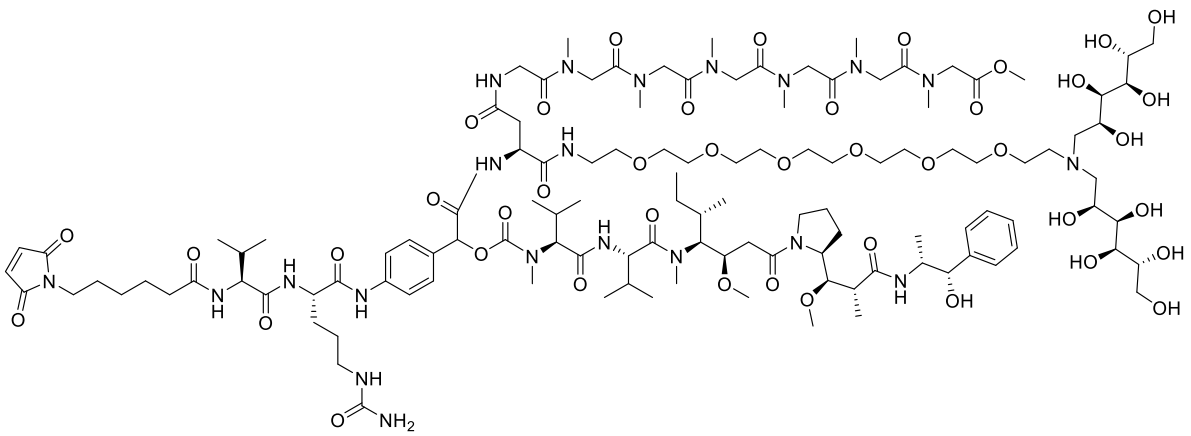
,



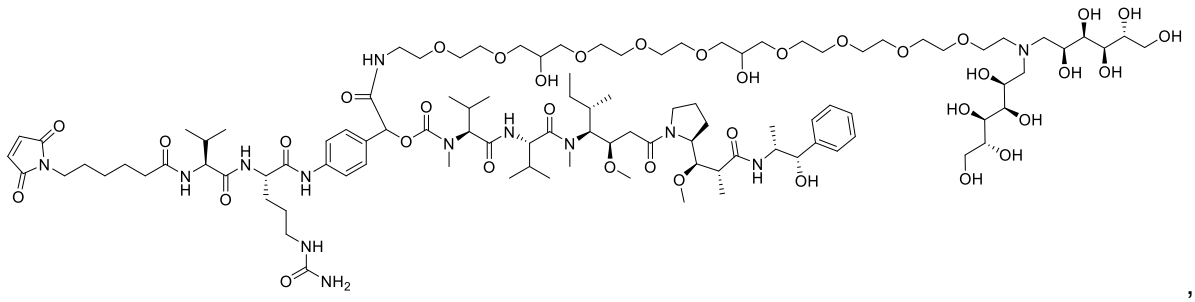
,



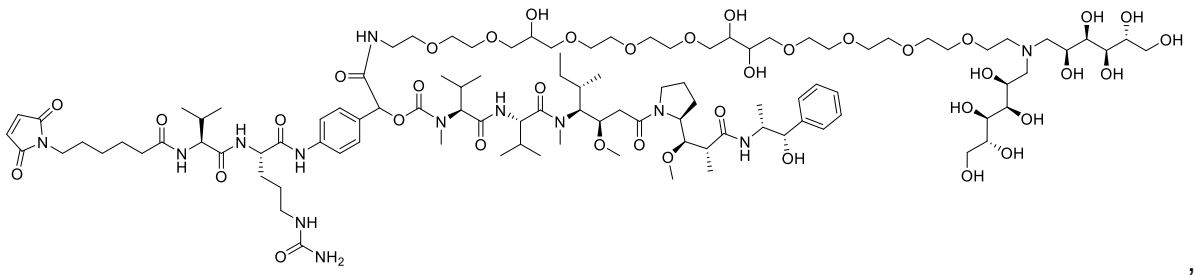
,



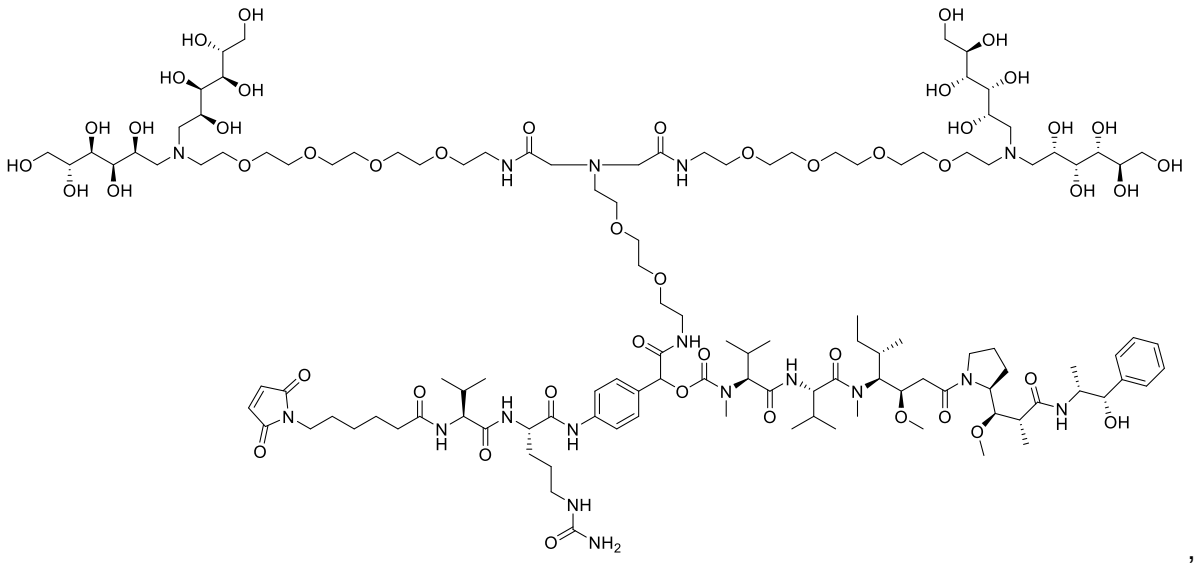
,



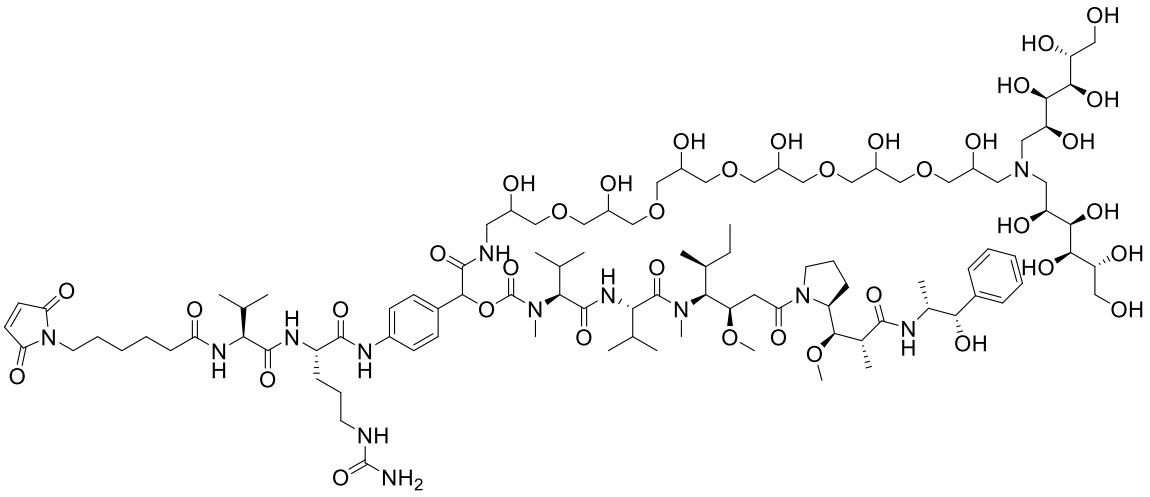
,

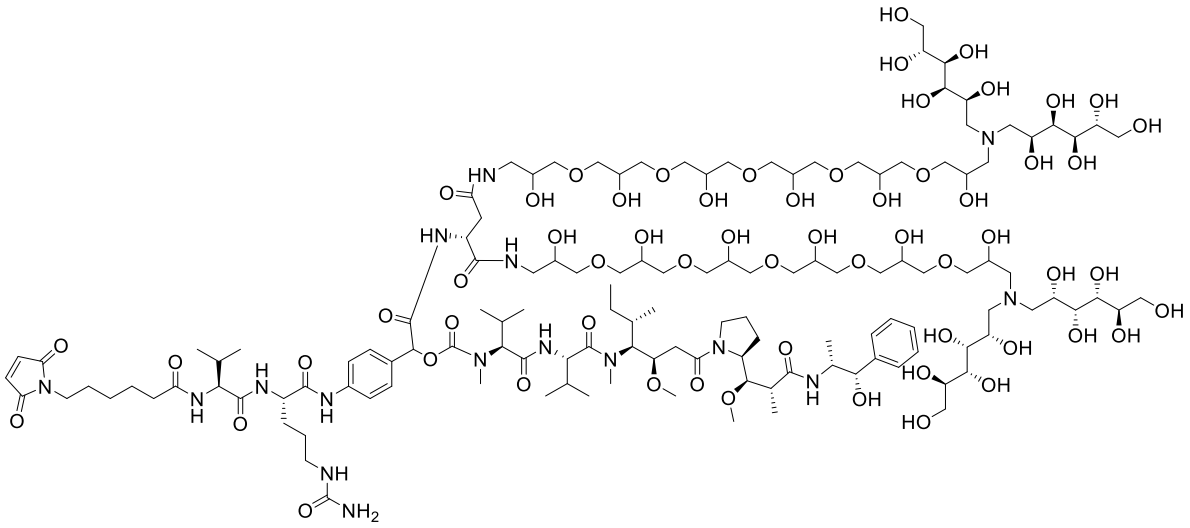


,

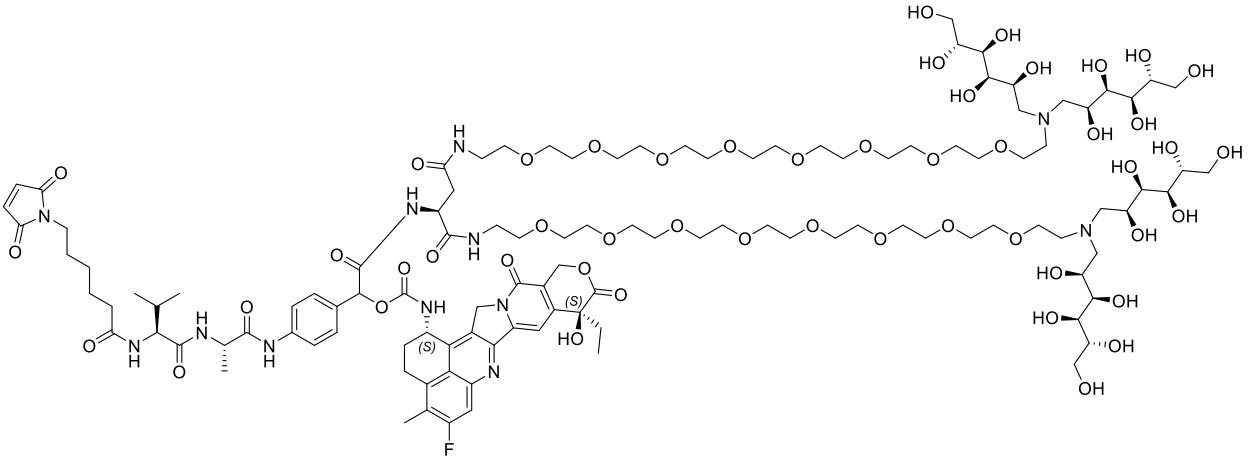


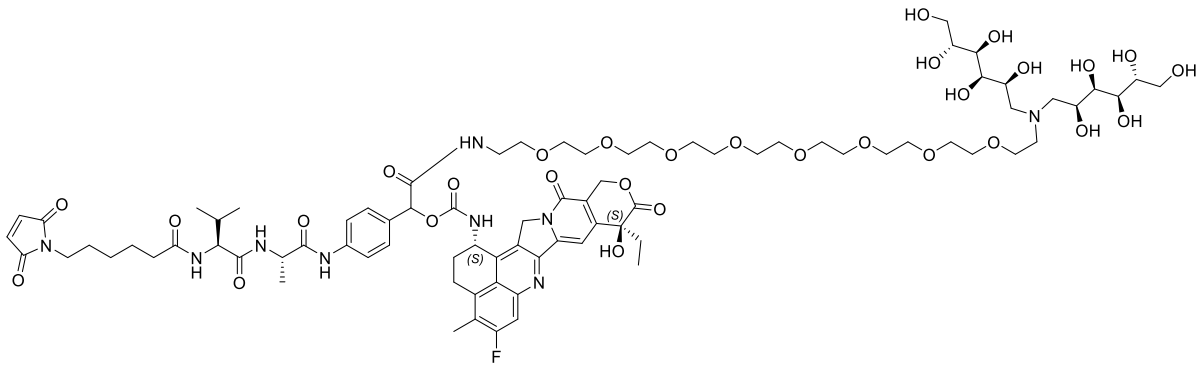
,



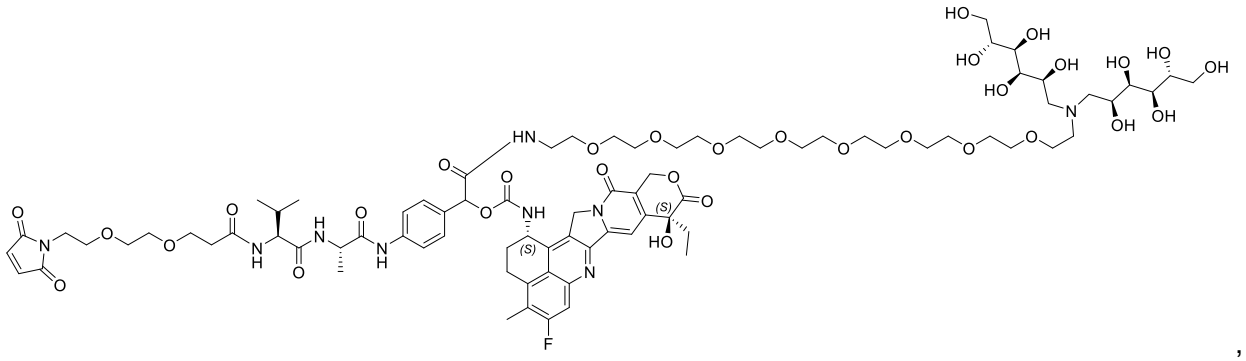


,

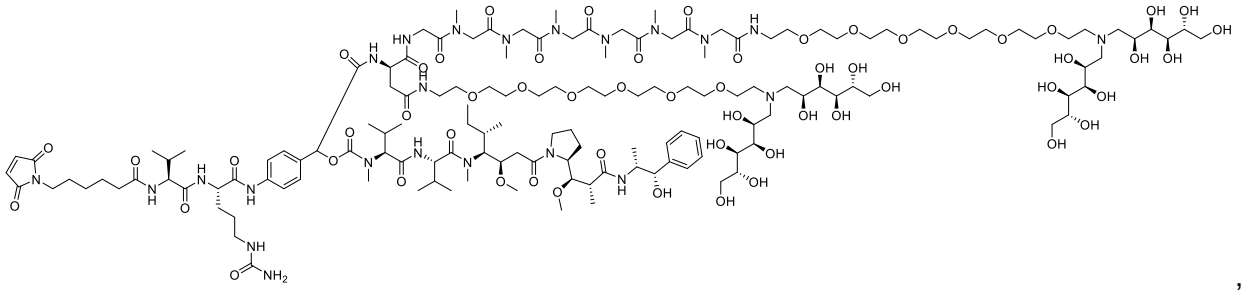




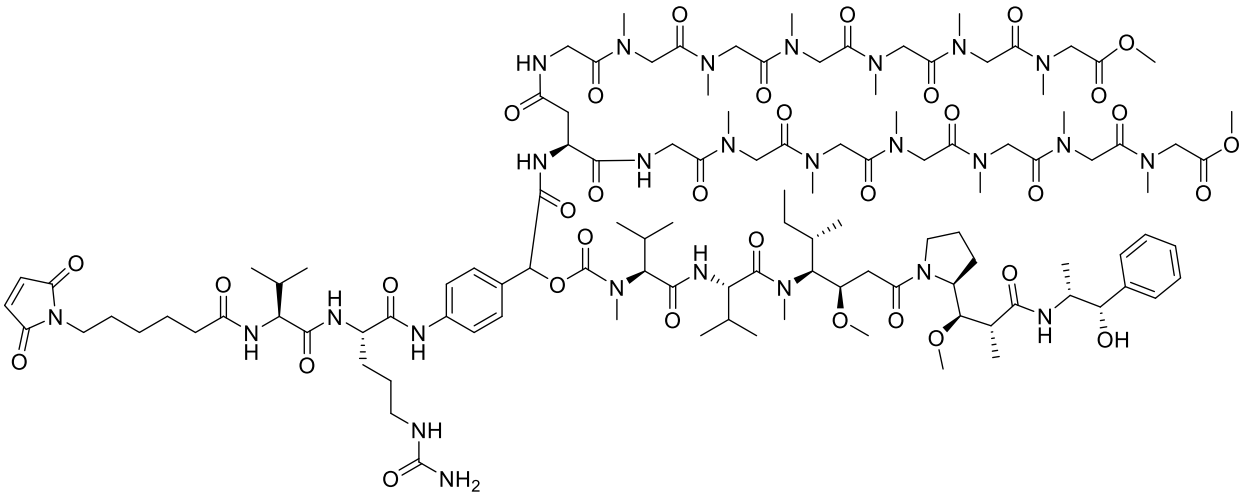
, , ,



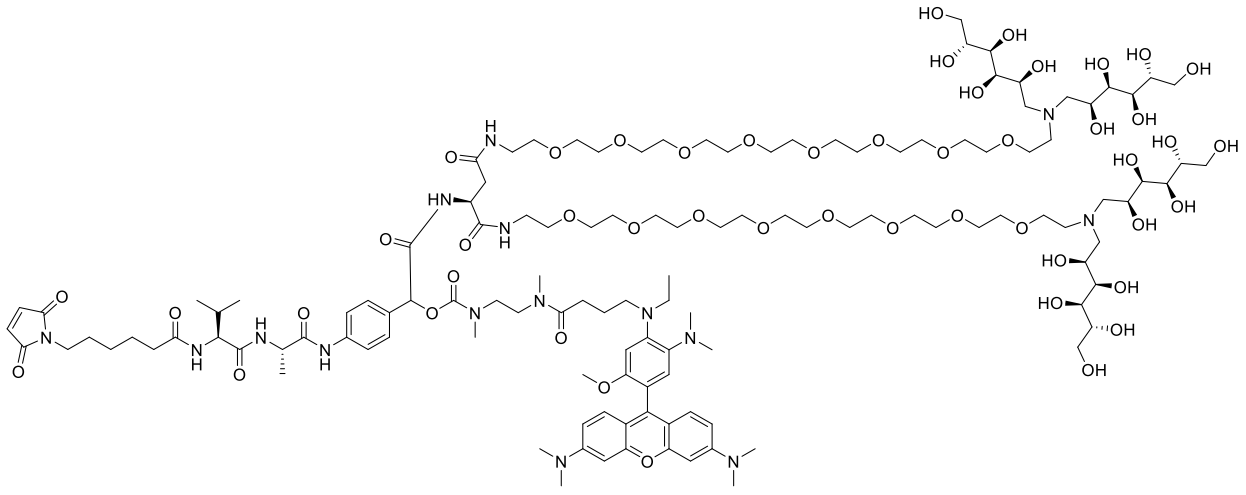
,



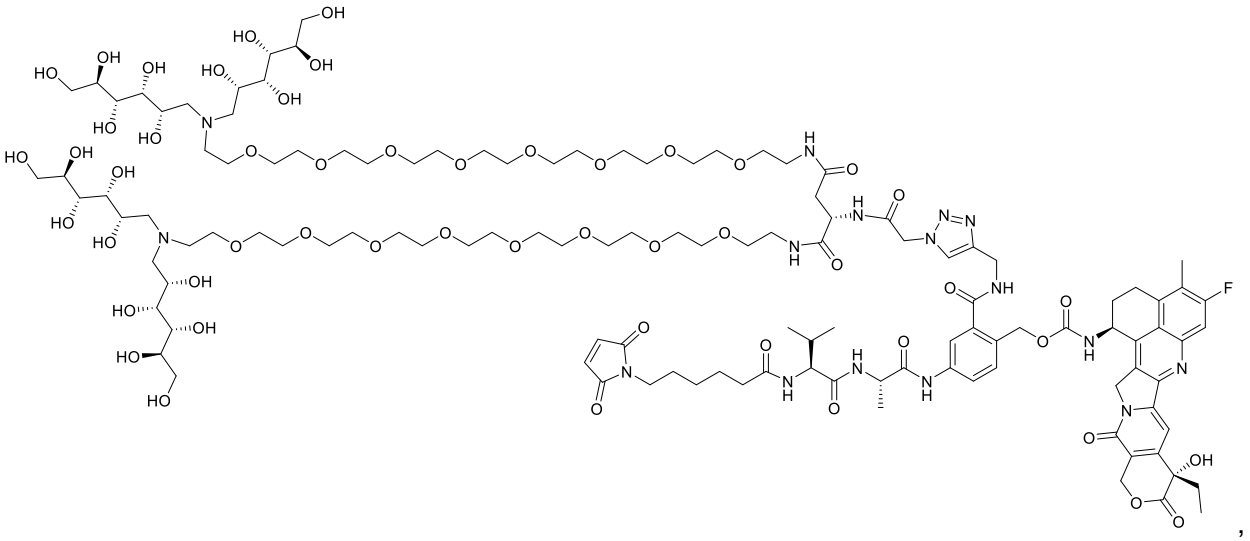
,



,

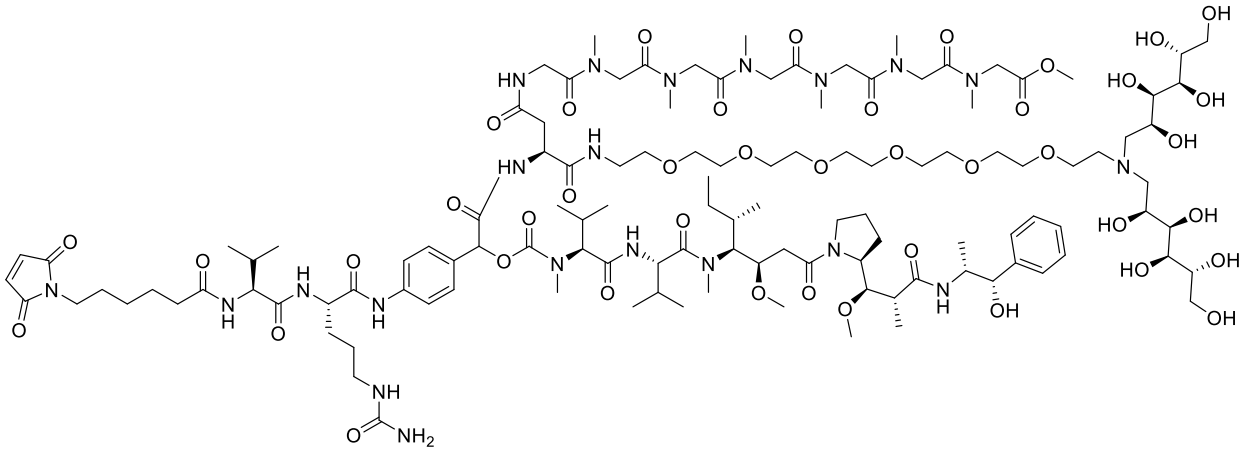


,



,

y



.

[0222] En algunas formas de realización, el Fármaco-Conector puede ser un estereoisómero de una de las estructuras precedentes.

Grupos de direccionamiento

[223] En algunas formas de realización, los Conectores se unen a grupos de direccionamiento (también descritos en la presente como "Unidades de direccionamiento") para formar Unidades de direccionamiento-Conectores. En algunas formas de realización, los Conectores se unen a grupos de direccionamiento a través de una unidad extensora y a una o más unidades de fármaco en el sitio de unión δ para formar un conjugado. En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento es una proteína, un polipéptido o un péptido. Los grupos de direccionamiento pueden ser anticuerpos, sus porciones de unión a un antígenos o grupos de direccionamiento no anticuerpo. Los grupos de direccionamiento no anticuerpo también se pueden denominar andamiajes no anticuerpos.

[224] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento se une específicamente a una molécula diana. En la presente, " unirse específicamente" se

refiere a la capacidad de un grupo de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o una porción del mismo) descrito en la presente de unirse a una diana con una KD de 10^{-5} M (10000 nM) o menor, por ejemplo, de 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M o menor. La unión específica puede verse influenciada, por ejemplo, por la afinidad y la avidez del grupo de direccionamiento y la concentración del polipéptido diana. Los especialistas en la materia pueden determinar las condiciones apropiadas en las cuales los anticuerpos, las porciones de unión de los anticuerpos y los andamiajes no anticuerpo descritos en la presente se unen selectivamente a una diana empleando cualquier método adecuado, tal como una titulación de un agente de unión en un ensayo de unión celular adecuado. Un grupo de direccionamiento unido específicamente a su diana no es desplazado por un competidor que no sea similar. En algunas formas de realización, se dice que una unidad de direccionamiento se une específicamente a su diana cuando la reconoce preferentemente en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas.

[225] Tal como se lo utiliza en la presente, el término "anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina y a porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen uno o más sitios de unión a un antígeno que se unen específicamente a un antígeno diana. El término se refiere en general a anticuerpos compuestos por dos regiones variables de la cadena pesada de la inmunoglobulina y dos regiones variables de la cadena liviana de la inmunoglobulina, e incluyen a los anticuerpos de longitud completa (con regiones constantes de la cadena pesada y ligera).

[226] Cada cadena pesada se compone típicamente de una región variable (abreviada como región VH) y una región constante. La región constante de la cadena pesada puede incluir tres dominios: CH1, CH2 y CH3, y opcionalmente un cuarto dominio: CH4. Cada cadena liviana se compone de una región variable (abreviada como región VL) y una región constante. La región constante de la cadena liviana es un dominio CL. Las regiones VH y VL se pueden dividir a su vez en regiones hipervariables, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), e intercaladas con regiones conservadas, denominadas regiones marco (FR). Por lo tanto, cada región VH y VL incluye tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo N hasta el extremo C en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Esta estructura es bien conocida por los especialistas en la materia.

[227] En la presente, una "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo se refiere a las porciones de un anticuerpo que tienen secuencias VH y/o VL de un anticuerpo o las

CDR de un anticuerpo y que se unen específicamente al antígeno diana. Algunos ejemplos de porciones de unión al antígeno incluyen un Fab, un Fab', un $F(ab')_2$, un Fv, un scFv, un Fv unido por disulfuro, un anticuerpo de dominio único (que también se denomina VHH, VNAR, sdAb o nanocuerpo) o un diacuerpo (véanse, por ejemplo, Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85, 5879-5883 (1988) y Bird et al., Science 242, 423-426 (1988), que se incorporan a la presente por referencia). Tal como se utilizan en la presente, los términos Fab, $F(ab')_2$ y Fv se refieren a lo siguiente: (i) un Fab es un fragmento monovalente compuesto por los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un $F(ab')_2$ es un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos entre sí en la región bisagra mediante un puente disulfuro; y (iii) un Fv compuesto por los dominios VL y VH. Aunque los dos dominios del fragmento Fv, concretamente VL y VH, están codificados por regiones codificantes independientes, se pueden unir además entre sí a través de un conector sintético, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos poli-G4S (`$(G_4S)_n$, que se divulga como SEQ ID Nº: 1, donde n = 1 a 5), lo que permite prepararlos como una única cadena proteica en la cual las regiones VL y VH se combinan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de monocatenaria o scFv). El término "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo también incluye a dichos anticuerpos monocatenarios. Aquí también se incluyen otras formas de anticuerpos monocatenarios, como los "diacuerpos". Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes y biespecíficos en los cuales las regiones VH y VL se expresan en una sola cadena polipeptídica, pero utilizan un enlace que conecta las regiones VH y VL, demasiado corto para que ambas regiones puedan combinarse en la misma cadena. Esto obliga a las regiones VH y VL a aparearse con regiones complementarias de una cadena diferente (VL y VH, respectivamente) y a formar dos sitios de unión al antígeno (véase, por ejemplo, Holliger, R., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:64446448; Poljak, R. J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123).

[228] Un anticuerpo de dominio único es una porción de unión al antígeno de un anticuerpo que contiene una única región variable monomérica. Los anticuerpos de dominio único se pueden derivar de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo de camélidos (por ejemplo, nanocuerpos o porciones VHH). Además, el término anticuerpo de dominio único incluye un dominio variable de la cadena pesada humana autónoma (aVH) o porciones VNAR derivadas de tiburones (véase, por ejemplo, Hasler et al., Mol. Immunol. 75:28-37, 2016).

[229] En este campo se conocen técnicas para producir anticuerpos de dominio único (por ejemplo, DAB o VHH), según se describe, por ejemplo, en Cossins et al. (2006,

Prot Express Purif 51:253-259) y Li et al. (Immunol. Lett. 188:89-95, 2017). Los anticuerpos de dominio único se pueden obtener, por ejemplo, de camellos, alpacas o llamas mediante técnicas de inmunización estándar. (Véase, por ejemplo, Muyldermans et al., TIBS 26:230-235, 2001; Yau et al., J Immunol Methods 281:161-75, 2003; y Maass et al., J Immunol Methods 324:13-25, 2007.) Un VHH puede tener una potente capacidad de unión al antígeno y puede interactuar con nuevos epitopes que son inaccesibles a los pares VH-VL convencionales (véase, por ejemplo, Muyldermans et al., 2001). La IgG del suero de alpaca contiene aproximadamente un 50% de anticuerpos IgG de cadena pesada de camélido únicamente (HCAbs) (véase, por ejemplo, Maass et al., 2007). Las alpacas se pueden inmunizar con antígenos y se pueden aislar VHH que se unen a un antígeno diana y lo neutralizan (véase, por ejemplo, Maass et al., 2007). Se han identificado cebadores de PCR que amplifican las secuencias codificantes de VHH de alpaca y se pueden utilizar para construir bibliotecas de presentación en fagos de VHH de alpaca, que se pueden emplear para el aislamiento de fragmentos de anticuerpos mediante técnicas estándar de *biopanning* bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Maass et al., 2007).

[230] En algunas formas de realización, el grupo de direccionamiento es un anticuerpo o una porción de unión a un antígeno del mismo, que es un agente de unión biespecífico o multiespecífico. Los anticuerpos biespecíficos y multiespecíficos incluyen a los siguientes: un scFv1-ScFv2, un $ScFv1_2$-Fc-$scFv2_2$, un IgG-scFv, una DVD-Ig, un triomab/cuadroma, un IgG-scFv es un IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, svFc-(L)IgG, 2scFV-IgG o IgG-2scFv. En algunas formas de realización, un IgG-scFv es un IgG(H)-scFv, una scFv-(H)IgG, un IgG(L)-scFv, una svFc-(L)IgG, una 2scFV-IgG o un IgG-2scFv. Véanse, por ejemplo, Brinkmann y Kontermann, MAbs 9(2):182-212 (2017); Wang et al., Antibodies, 2019, 8, 43; Dong et al., 2011, MAbs 3:273-88; Natsume et al., J. Biochem. 140(3):359-368, 2006; Cheal et al., Mol. Cancer Ther. 13(7):1803-1812, 2014; y Bates y Power, Antibodies, 2019, 8, 28.

[231] En algunas formas de realización, el grupo de direccionamiento se une específicamente a un antígeno asociado al cáncer, tal como CD19, CD20, CD30, CD33, CD38, CA125, HER2, MUC-1, antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), molécula de adhesión superficial CD44, mesotelina (MLSN), antígeno carcinoembrionario (CEA), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), EGFRvIII, receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2), antígeno asociado al melanoma de alto peso molecular. (HMW-MAA), MAGE-A1, IL-13R-a2, GD2, 1p19q, ABL1, AKT1, ALK, APC, AR, ATM, BRAF, BRCA1, BRCA2, cKIT, cMET,

CSF1R, CTNNB1, FGFR1, FGFR2, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, KDR (VEGFR2), KRAS, MGMT, MGMT-Me, MLH1, MPL, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, Pgp, PIK3CA, PR, PTEN, RET, RRM1, SMO, SPARC, TLE3, TOP2A, TOPO1, TP53, TS, TUBB3, VHL, CDH1, ERBB4, FBXW7, HNF1A, JAK3, NPM1, PTPN11, RB1, SMAD4, SMARCB1, STK1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, ROS1, ERCC1, 5T4 (TPBG), B7-H3, CCR7, CD105, CD22, CD46, CD47, CD56, CD70, CD71, CD79b, CDH6, CLDN6, CLDN18,2, CLEC12A, DLL3, DR5, ERBB3 (HER3), EPCAM, FOLR1, IGF1R, IL2RA (CD25), IL3RA, ITGB6, LIV-1, LRRC15, Mesotelina (MSLN), NaPi2b (SLC34A2), nectina-4, PTK7, ROR1, SEZ6, SLC44A4, SLITRK6, factor tisular (TF), TROP2 o B7-H4. De acuerdo con la invención, los términos “antígeno asociado al cáncer”, “antígeno tumoral”, “antígeno expresado por el tumor”, “antígeno de cáncer”, “antígeno asociado al cáncer” y “antígeno expresado en el cáncer” son equivalentes y en la presente se utilizan de manera indistinta.

[232] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento se une específicamente a una diana tal como CD19, CD20, CD30, CD33, CD70, LIV-1 o EGFRv3.

[233] En algunas formas de realización, el grupo de direccionamiento es un anticuerpo (o un fragmento del mismo) que se une a una diana cuya secuencia es según se ha descrito en Leuschner et al., US 2022/0048951 y/o Lerchen et al., US 2022/0016258. Algunos ejemplos no limitantes de anticuerpos monoclonales incluyen rituximab (Rituxan®), trastuzumab (Herceptin®), pertuzumab (Perjeta®)), bevacizumab (Avastin®), ranibizumab (Lucentis®), cetuximab (Erbitux®), alemtuzumab (Campath®), panitumumab (Vectibix®), ibritumomab (Zevalin®), tositumomab. (Bexxar®), ipilimumab, zalutumumab, dalotuzumab, figitumumab, ramucirumab, galiximab, farletuzumab, ocrelizumab, ofatumumab (Arzerra®), los anticuerpos CD20 2F2 (HuMax-CD20), 7D8, IgM2C6, IgG1 2C6, 11B8, B1, 2H7, LT20, 1FS o AT80 (véase Teeling et al., J. Immunol. 177:362-371 (2006)), daclizumab (Zenapax®) y anticuerpos anti-receptor de LHRH, tales como los clones A9E4, F1G4, AT2G7, GNRH03, GNRHR2, etc., que se pueden utilizar en combinación, entre otros, con un conjugado de acuerdo con la invención.

[234] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento es un andamiaje no anticuerpo. Dichos andamiajes no anticuerpo incluyen, por ejemplo, *affibodies*, afilinas, anticalinas, atrímeros, avímeros, péptidos bicíclicos, nudos de cistina, DARPinas, andamiajes FN3 (por ejemplo, adnectinas, centirinas, pronectinas y Tn3), finómeros, dominios Kunitz y *OBodies*. (Véase, por ejemplo, Vazquez-Lombardi

et al., Drug Discovery Today 20(10):1271 (2015) y las referencias que se citan en dicho trabajo). Dichos andamiajes proteicos no anticuerpos incluyen, por ejemplo, *affibodies*, afilinas, anticalinas, atrímeros, avímeros, péptidos bicíclicos, nudos de cistina, DARPinas, andamiajes FN3 (por ejemplo, adnectinas, centirinas, pronectinas y Tn3), *Fynomers*, dominios Kunitz y *OBodies*. (Véase, por ejemplo, Vazquez-Lombardi et al., Drug Discovery Today 20(10):1271 (2015) y las referencias que se citan en dicho trabajo). Los andamiajes no anticuerpos se pueden clasificar en dos categorías estructurales: construcciones de tamaño similar al de un dominio (dentro del rango entre 6 y 20 kDa) y péptidos restringidos (dentro del rango entre 2 y 4 kDa). Los andamiajes no anticuerpos de tamaño similar al de un dominio incluyen, de manera no limitante, *affibodies*, afilinas, anticalinas, atrímeros, DARPinas, andamiajes FN3 (tales como adnectinas y centirinas), finomeros, dominios Kunitz, pronectinas y *OBodies*. Los andamiajes no anticuerpos de tamaño similar al de un péptido incluyen, por ejemplo, avímeros, péptidos bicíclicos y nudos de cisteína. Los andamiajes de proteínas no anticuerpos se pueden clasificar en dos categorías estructurales: construcciones de tamaño similar al de un dominio (dentro del rango entre 6 y 20 kDa) y péptidos restringidos (dentro del rango entre 2 y 4 kDa). Los andamiajes no anticuerpos de tamaño similar al de un dominio incluyen, de manera no limitante, *affibodies*, afilinas, anticalinas, atrímeros, DARPinas, andamiajes FN3 (tales como adnectinas y centirinas), finomeros, dominios Kunitz, pronectinas y *OBodies*. Los andamiajes no anticuerpos de tamaño similar al de un péptido incluyen, por ejemplo, avímeros, péptidos bicíclicos y nudos de cisteína. Estos andamiajes no anticuerpos y las proteínas o péptidos subyacentes en los que se basan o de los que se han derivado han sido revisados, por ejemplo, en Simeon y Chen, Protein Cell 9(1): 3-14 (2018); Vazquez-Lombardi et al., Drug Discovery Today 20: 1271-1283 (2015), y en Binz et al., Nature Biotechnol. 23: 1257-1268 (2005), cuyos contenidos se incorporan aquí por referencia en toda su extensión.

[235] Las ventajas de usar andamiajes no anticuerpos incluyen mayor afinidad, neutralización de la diana y estabilidad. Hay diversos andamiajes no anticuerpos que también pueden superar algunas de las limitaciones de los andamiajes que son anticuerpos, por ejemplo, en términos de penetración tisular, menor tamaño y termoestabilidad. Algunos andamiajes no anticuerpos también pueden facilitar la construcción, sin verse obstaculizados, por ejemplo, por posibles problemas de asociación con cadenas livianas cuando se desean construcciones biespecíficas. Los especialistas en la materia conocen métodos para crear construcciones de andamiajes

no anticuerpos.

[236] Por consiguiente, en algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento puede comprender un andamiaje no anticuerpo. Por lo tanto, en algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento puede comprender una proteína de andamiaje no anticuerpo. Un especialista en la materia podrás apreciar que en algunas formas de realización un grupo de direccionamiento puede incluir, por ejemplo, un andamiaje de adnectina o una porción derivada del décimo dominio de fibronectina de tipo III humana (10Fn3); un andamiaje anticalina derivado de lipocalina humana (por ejemplo, como aquellos que se describen, por ejemplo, en WO2015/104406); un andamiaje avímero o un fragmento proteico derivado del dominio A de la proteína relacionada con [lipoproteínas de] baja densidad (LRP) y/o el receptor de lipoproteína de muy baja densidad (VLDLR); un andamiaje finomérico o porción del dominio SH3 de la tirosina quinasa FYN; un andamiaje de dominio de Kunitz o porción de inhibidores de la proteasa de tipo Kunitz, tal como un inhibidor de tripsina humana, aprotinina (inhibidor de la tripsina pancreática bovina), proteína precursora amiloide del Alzheimer e inhibidor de la vía del factor tisular; un andamiaje *knotting* (miniproteínas de nudo de cisteína), tal como uno basado en un inhibidor de tripsina de *E. elaterium*; un andamiaje aficuerpo o todo el dominio Z de la proteína A de *S. aureus* o parte del mismo; un andamiaje mimético de horquilla β; un andamiaje de proteína de repetición de anquirina diseñada (DARPin) o andamiajes proteicos artificiales basados en proteínas de repetición de anquirina (AR); o cualquier andamiaje derivado o basado en transferrina humana, CTLA-4 humana, proteína cristalina humana y ubiquitina humana. Por ejemplo, el sitio de unión de la transferrina humana para el receptor de transferrina humana se puede diversificar para crear una biblioteca diversa de variantes de transferrina, algunas de las cuales han adquirido afinidad por diferentes antígenos. Véase, por ejemplo, Ali et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:24066-24073. La porción de la transferrina humana que no participa en la unión al receptor permanece inalterada y sirve como andamiaje, como por ejemplo las regiones marco de los anticuerpos, para presentar los sitios de unión de las variantes. Entonces se criban las bibliotecas, de la misma manera que con una biblioteca de anticuerpos y de acuerdo con los métodos descritos en la presente, contra un antígeno diana de interés para identificar aquellas variantes con selectividad y afinidad óptimas por el antígeno diana. Véase, por ejemplo, Hey et al. (2005) TRENDS Biotechnol. 23(10):514-522.

Regiones constantes

[237] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento, tal como un

anticuerpo o su porción de unión al antígeno u otro grupo de direccionamiento, presenta una o varias regiones constantes del anticuerpo. En algunas formas de realización, la región constante consiste en una o varias regiones constantes completamente humanas. En algunas formas de realización, la región constante consiste en una o varias regiones constantes humanizadas. En algunas formas de realización, la región constante consiste en una o varias regiones constantes no humanas. Una región constante de inmunoglobulina se refiere a una región constante de la cadena pesada o la cadena liviana. Las secuencias de aminoácidos de la región constante de la cadena pesada y la cadena liviana humanas son conocidas en la técnica. Una región constante puede ser de cualquier tipo adecuado, que se puede seleccionar entre las clases de inmunoglobulinas IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Varias clases de inmunoglobulinas se pueden dividir en isotipos, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 o IgA1, e IgA2. Las regiones constantes de la cadena pesada (Fc) que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas pueden ser α, δ, ε, γ y μ, respectivamente. Las cadenas livianas pueden ser una entre ya sea kappa (κ) o lambda (λ).

[238] En algunas formas de realización, una región constante puede tener un isotipo de IgG. En algunas formas de realización, una región constante puede tener un isotipo de IgG1. En algunas formas de realización, una región constante puede tener un isotipo de IgG2. En algunas formas de realización, una región constante puede tener un isotipo de IgG3. En algunas formas de realización, una región constante puede tener un isotipo de IgG4. En algunas formas de realización, una región constante puede tener un isotipo híbrido que comprende regiones constantes de dos o más isotipos. En algunas formas de realización, una región constante de inmunoglobulina puede ser una región constante de IgG1 o IgG4. En algunas formas de realización, una región constante es del isotipo de IgG1 y tiene la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID Nº:2. En algunas formas de realización, una región constante es del isotipo kappa y tiene la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID Nº:3.

[239] Además, un grupo de direccionamiento que comprende un anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo, o un andamiaje no anticuerpo, puede formar parte de una molécula mayor formada por la asociación covalente o no covalente del anticuerpo o la porción de unión al antígeno con una o más proteínas o péptidos. Para estos grupos de direccionamiento, son relevantes, por ejemplo, el uso de la región central de estreptavidina para preparar una molécula de scFv tetramérica (Kipriyanov, S. M., et al. (1995), Human Antibodies y Hybridomas 6:93-101) y el uso de un residuo

de cisteína, un péptido marcador y un péptido polihistidinilo C-terminal, por ejemplouna marca hexahistidinilo (“marca hexahistidinilo” descrita como SEQ ID Nº: 4) para producir moléculas de scFv bivalentes y biotiniladas (Kipriyanov, S. M., et al. (1994) Mol. Immunol. 31:10471058).

Modificaciones del dominio Fc para alterar la función efectora

[240] En algunas formas de realización, una región Fc o un dominio Fc de un grupo de direccionamiento, tal como un anticuerpo o una porción de unión a un antígeno del mismo, o un andamiaje no anticuerpo, no se une sustancialmente a por lo menos un receptor Fc seleccionado entre FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32a), FcγRIIB (CD32b), FcγRIIIA (CD16a), y FcγRIIIB (CD16b). En algunas formas de realización, una región o dominio Fc no exhibe sustancialmente ninguna unión a ninguno de los receptores Fc seleccionados entre FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32a), FcγRIIB (CD32b), FcγRIIIA (CD16a), y FcγRIIIB (CD16b). Tal como se lo usa en la presente, "sustancialmente ninguna unión” se refiere a una unión débil o nula a un receptor o receptores Fc gamma seleccionados. En algunas formas de realización, "sustancialmente ninguna unión” se refiere a una reducción de la afinidad de unión (es decir, aumento de Kd) a un receptor Fc gamma de por lo menos 1000 veces. En algunas formas de realización, un dominio o región Fc es un Fc nulo. Tal como se lo usa en la presente, un "Fc nulo” se refiere a una región Fc o dominio Fc que exhibe una unión débil o nula a cualquiera de los receptores Fc gamma. En algunas formas de realización, un dominio o región Fc nulo presenta una reducción de la afinidad de unión (es decir, un aumento de Kd) a los receptores Fc gamma de por lo menos 1000 veces.

[241] En algunas formas de realización, un dominio Fc presenta una actividad efectora reducida o prácticamente nula. En la presente, "actividad efectora” se refiere a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). En algunas formas de realización, un dominio Fc presenta una actividad reducida de ADCC, ADCP o CDC, en comparación con un dominio Fc de tipo salvaje. En algunas formas de realización, un dominio Fc presenta una reducción de ADCC, ADCP y CDC, en comparación con un dominio Fc de tipo salvaje. En algunas formas de realización, un dominio Fc no presenta prácticamente ninguna función efectora (es decir, la capacidad de estimular o afectar la ADCC, ADCP o CDC). Tal como se lo utiliza en la presente, “sustancialmente ninguna función efectora” se refiere a una reducción de la actividad de la función efectora de por lo menos 1000 veces, en comparación con un dominio Fc de tipo salvaje o de referencia.

[242] En algunas formas de realización, el dominio Fc tiene una actividad de ADCC reducida o nula. Tal como se usa en la presente, una actividad de ADCC reducida o nula se refiere a una disminución de la actividad de ADCC de un dominio Fc en un factor de por lo menos 10, por lo menos 20, por lo menos 30, por lo menos 50, por lo menos 100 o por lo menos 500.
[243] En algunas formas de realización, el dominio Fc tiene una actividad de CDC reducida o nula. Tal como se usa en la presente, una actividad de CDC reducida o nula se refiere a una disminución de la actividad de CDC de un dominio Fc en un factor de por lo menos 10, por lo menos 20, por lo menos 30, por lo menos 50, por lo menos 100 o por lo menos 500.
[244] Se pueden realizar ensayos de citotoxicidad *in vitro* y/o *in vivo* para confirmar la reducción/supresión de la actividad de ADCC y/o de CDC. Por ejemplo, se pueden realizar ensayos de unión al receptor Fc (FcR) para asegurar que el anticuerpo no se una al receptor Fc gamma (por lo tanto, probablemente no tenga actividad de ADCC). Las células primarias para mediar la ADCC, las células NK, solamente expresan FcgammaRIII, en tanto los monocitos expresan FcgammaRI, FcgammaRII y FcgammaRIII. La expresión del FcR sobre las células hematopoyéticas se resume en la Tabla 3 de la página 464 de Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9: 457-492 (1991). Los ejemplos no taxativos de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés se describen en la Patente de los EEUU N°: 5.500.362 (véase, por ejemplo Hellstrom, I. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83: 7059-7063 (1986)) y Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82: 1499-1502 (1985); la Patente de los EEUU N°: 5.821.337 (véase Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med*. 166: 1351-1361 (1987)). Como alternativa, se pueden emplear métodos de ensayo no radioactivos (véase, por ejemplo, el ensayo de citotoxicidad no radioactiva para citometría de flujo ACTI™ (CellTechnology, Inc. Mountain View, Calif.; y ensayo de citotoxicidad no radioactiva CytoTox 96™ (Promega, Madison, Wis.). Las células efectoras de utilidad para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y células asesinas naturales (NK). Como alternativa, o además, se puede evaluar la actividad ADCC de la molécula de interés *in vivo*, por ejemplo, en un modelo en animales, tal como el que se divulga en Clynes et al., *PNAS* (EEUU) 95: 652-656 (1998).
[245] También se pueden conducir ensayos de unión a C1q para confirmar si un anticuerpo o un dominio o región Fc no se puede unir a C1q y por ende carece de actividad de CDC o tiene una actividad de CDC reducida. Véase, por ejemplo, ELISA de unión a C1q y C3c en WO 2006/029879 y WO 2005/100402.Para evaluar la activación del complemento, se puede conducir un ensayo de CDC (véase, por ejemplo, Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996); Cragg, M. S. et al., *Blood* 101: 1045-1052 (2003); y Cragg, M. S. y M. J. Glennie, *Blood* 103: 2738-2743 (2004)).
[246] En algunas formas de realización, el dominio Fc tiene una actividad de ADCP reducida o nula. Tal como se usa en la presente, una actividad de ADCPC reducida o nula se refiere a una disminución de la actividad de ADCP de un dominio Fc en un factor de por lo menos 10,

por lo menos 20, por lo menos 30, por lo menos 50, por lo menos 100 o por lo menos 500.

[247] También se pueden conducir ensayos de unión de ADCP para confirmar si un anticuerpo o dominio o región Fc carece de actividad de ADCP o si tiene una actividad de ADCP reducida. Véase, por ejemplo, US 20190079077 y US 20190048078 y las referencias divulgadas en las mismas.

[248] Un grupo de direccionamiento, tal como un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, o un andamiaje que no es de un anticuerpo, con una actividad reducida de la función efectora incluye los que presentan una sustitución de uno o más residuos de la región Fc, tal como, por ejemplo, 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329, de acuerdo con el número EU de Kabat (véase, por ejemplo, la Patente de los EEUU N°: 6.737.056). Dichos mutantes Fc incluyen mutantes Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones de aminoácido 265, 269, 270, 297 y 327, inclusive el denominado mutante Fc "DANA" con sustitución de los residuos 265 y 297 por alanina, de acuerdo con la numeración EU de Kabat (véase la Patente de los EEUU N°: 7.332.581). También se conocen algunas variantes de anticuerpo con una unión disminuida a los FcR. (Véase, por ejemplo, la Patente de los EEUU N°: 6.737.056; WO 2004/056312, y Shields et al*., J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).) Se puede preparar un grupo de direccionamiento, tal como un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, o un andamiaje que no es de anticuerpo, con una unión disminuida a los FcR que contenga dichas modificaciones de aminoácido.

[249] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento, tal como un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, o un andamiaje que no es de anticuerpo, comprende un dominio o región Fc con una o más sustituciones de aminoácido que disminuyen la unión al FcgammaR, por ejemplo, las sustituciones en las posiciones 234 y 235 de la región Fc (numeración de residuos EU). En algunas formas de realización, las sustituciones son L234A y L235A (LALA), de acuerdo con la numeración EU de Kabat. En algunas formas de realización, el dominio Fc comprende D265A y/o P329G en una región Fc derivada de una región Fc de la IgG1 humana, de acuerdo con la numeración EU de Kabat. En algunas formas de realización, las sustituciones son L234A, L235A y P329G (LALA-PG), de acuerdo con la numeración EU de Kabat, en una región Fc derivada de una región Fc de la IgG1 humana. (Véase, por ejemplo, WO 2012/130831). En algunas formas de realización, las sustituciones son L234A, L235A y D265A (LALA-DA) en una región Fc derivada de una región Fc de la IgG1 humana, de acuerdo con la numeración EU de Kabat.

[250] En algunas formas de realización, se efectúan alteraciones en la región Fc que dan como resultado una unión a C1q y/o una citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) alterada (es decir, diminuida), por ejemplo, como se describe en la Patente de los EEUU N°: 6.194.551, WO 99/51642 e Idusogie et al., *J. Immunol*. 164: 4178-4184 (2000).

<u>Métodos para hacer Anticuerpos y porciones de unión a antígeno y Otros Grupos de direccionamiento</u>

[251] En diversas formas de realización, se pueden producir grupos de direccionamiento tales como anticuerpos y porciones de unión a antígeno de los mismos, en líneas celulares humanas, murinas u otras líneas celulares derivadas de animales. La expresión de ADN recombinante se puede usar para producir anticuerpos y porciones de unión a antígeno de los mismos. Esto permite la producción de anticuerpos así como un espectro de porciones de unión a antígeno (incluyendo proteínas de fusión) en una especie de huésped de elección. La producción de anticuerpos y porciones de unión a antígeno de los mismos en bacterias, levaduras, animales transgénicos y huevos de gallina también son alternativas para sistemas de producción basados en células. Las principales ventajas de los animales transgénicos son los altos rendimientos potenciales de fuentes renovables.

[252] Las moléculas de ácido nucleico que codifican la(s) secuencia(s) de aminoácidos del grupo de direccionamiento, tal como un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo se pueden preparar empleando una variedad de métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero de manera no taxativa, preparación de secuencias de nucleótidos sintéticas que codifican un anticuerpo o una porción de unión a antígeno. Además, para preparar secuencias de nucleótidos que codifican un anticuerpo o una porción de unión a antígeno se pueden utilizar la mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio), la mutagénesis mediada por PCR y la mutagénesis en casetes. Una secuencia de ácido nucleico que codifica por lo menos un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, o un polipéptido del mismo, según se describe en la presente, se puede recombinar con un vector de ADN de acuerdo con técnicas convencionales, tales como, por ejemplo, extremos romos o escalonados para ligación, digestión con enzima de restricción para proveer extremos apropiados, rellenado de extremos cohesivos según corresponda, tratamiento con fosfatasa alcalina para evitar uniones no deseables, y ligación con ligasas apropiadas u otras técnicas conocidas en el arte. Las técnicas para tales manipulaciones se describen, por ejemplo, en Maniatis et al., Molecular Cloning, Lab. Manual (Cold Spring Harbor Lab. Press, NY, 1982 y 1989), y Ausubel et al., Current Protocols en Molecular Biology (John Wiley & Sons), 1987-1993, y se pueden usar para construir secuencias de ácidos nucleicos y vectores que codifican un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o un polipéptido VH o VL del mismo.

[253] Tal como se los usa en la presente, los términos "ácido nucleico" o "secuencia de ácidos nucleicos" o “secuencia de polinucleótido” o “nucleótido”, se refieren a una molécula polimérica que incorpora unidades de ácido ribonucleico, ácido desoxirribonucleico o análogos de los mismos. El ácido nucleico puede ser de una sola hebra o de hebra doble. Un ácido nucleico de una sola hebra puede ser una hebra de ácido nucleico de un ADN de hebra doble desnaturalizado. En algunas formas de realización, el ácido nucleico puede ser un ADNc, por ejemplo, un ácido nucleico que carece de intrones.

[254] Se dice que una molécula de ácido nucleico, tal como el ADN, es "capaz de expresar"

un polipéptido si contiene secuencias de nucleótidos que contienen información regulatoria transcripcional y traduccional y dichas secuencias están "unidas operativamente" a secuencias de nucleótidos que codifican el polipéptido. Un enlace operable es un enlace en el que las secuencias de ADN regulatorias y la secuencia de ADN que se busca expresar (por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo) están conectadas de tal manera que permitan la expresión génica de un o más polipéptido(s) o porciones de unión a antígeno en cantidades recuperables. La naturaleza precisa de las regiones regulatorias necesarias para la expresión génica puede variar de un organismo a otro, como es bien conocido en la técnica análoga. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., 1989; Ausubel et al., 1987-1993.

[255] Por lo tanto, la expresión de un grupo de direccionamiento, tal como un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo, puede ocurrir tanto en células procariotas como en células eucariotas. Los huéspedes adecuados incluyen huéspedes bacterianos o eucariotas, incluyendo levaduras, insectos, hongos, células de aves y mamíferos ya sea *in vivo* o in situ, o células huésped de origen de mamífero, insecto, ave o levadura. La célula o tejido de mamífero puede ser de origen humano, de primate, hámster, conejo, roedor, vaca, cerdo, oveja, caballo, cabra, perro o gato, pero se pueden utilizar otras células de mamífero. Además, mediante el uso, por ejemplo, del sistema de ubiquitina hidrolasa de levadura, se puede lograr la síntesis *in vivo* de proteínas de fusión ubiquitina-polipéptido transmembrana. Las proteínas de fusión producidas de esa manera pueden ser procesadas *in vivo* o se pueden purificar y procesar *in vitro*, permitiendo la síntesis de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo según se describe en la presente, con una secuencia amino terminal específica. Además, en la expresión directa de levadura (o bacteriana) se pueden evitar los problemas asociados con la retención de residuos de metionina derivados de codones de iniciación. (Véase, por ejemplo, Sabin et al., 7 Bio/Technol. 705 (1989); Miller et al., 7 Bio/Technol. 698 (1989). Para obtener anticuerpos recombinantes o antígeno-porciones de unión de los mismos se puede utilizar cualquiera de una serie de sistemas de expresión de genes de levadura que incorporan elementos promotores y de terminación de los genes expresados activamente que codifican enzimas glicolíticas producidas en grandes cantidades cuando la levadura se cultiva en un medio rico en glucosa. Los genes glicolíticos conocidos también pueden proveer señales de control transcripcional muy eficientes. Por ejemplo, se pueden utilizar las señales promotoras y de terminación del gen fosfoglicerato quinasa.

[256] La producción de anticuerpos o antígeno-porciones de unión en insectos se puede lograr, por ejemplo, infectando un insecto huésped con un baculovirus modificado para expresar un polipéptido empleando métodos conocidos por los especialistas en la técnica. Véase Ausubel et al., 1987-1993.

[257] En algunas formas de realización, la(s) secuencia(s) de ácido nucleico introducidas (que codifican un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o un polipéptido del mismo) se incorporan a un plásmido o vector viral capaz de replicación autónoma en una célula

huésped receptora. Para este propósito se puede emplear cualquiera de una amplia variedad de vectores y los mismos son conocidos y se encuentran disponibles para aquellos con una experiencia normal en la técnica. Véase, por ejemplo, Ausubel et al., 1987-1993. Algunos factores importantes en la selección de un plásmido o vector viral particular incluyen: la facilidad con la que las células receptoras que contienen el vector pueden ser reconocidas y se pueden seleccionar entre aquellas células receptoras que no contienen el vector; el número de copias del vector que se desean en un huésped particular; y si es deseable poder "trasladar" el vector entre células huésped de diferentes especies.

[258] Algunos ejemplos de vectores procarióticos conocidos en el arte incluyen plásmidos tales como aquellos capaces de replicación en *E. coli*. Otros elementos de expresión genética útiles para la expresión de ADN que codifican anticuerpos o porciones de unión a antígenos de los mismos incluyen, pero de manera no taxativa (a) promotores de transcripción viral y sus elementos potenciadores, tal como el promotor temprano de SV40. (Okayama et al., 3 Mol. Cell. Biol. 280 (1983)), virus del sarcoma de Rous LTR (Gorman et al., 79 PNAS 6777 (1982)), y virus de la leucemia murina de Moloney LTR (Grosschedl et al., 41 Cell 885 (1985)); (b) regiones de empalme y sitios de poliadenilación tales como aquellos derivados de la región tardía de SV40 (Okayarea et al., 1983), y (c) sitios de poliadenilación tales como los de SV40 (Okayama et al., 1983). Los genes de ADN codificados por inmunoglobulinas se pueden expresar tal como se describe en Liu et al., infra, y Weidle et al., 51 Gene 21 (1987), usando como elementos de expresión el promotor temprano de SV40 y su potenciador, los potenciadores del promotor de la cadena H de la inmunoglobulina de ratón, el empalme de ARNm de la región tardía de SV40, la secuencia interveniente de globina S de conejo, los sitios de poliadenilación de inmunoglobulina y globina S de conejo, y los elementos de poliadenilación de SV40.

[259] Para aquellas inmunoglobulinas que codifican secuencias de nucleótidos, el promotor transcripcional puede ser, por ejemplo, el del citomegalovirus humano, los potenciadores del promotor pueden ser los de citomegalovirus y de inmunoglobulina de ratón/humana.

[260] En algunas formas de realización, para la expresión de regiones codificantes de ADN en células de roedor, el promotor transcripcional puede ser una secuencia LTR viral, los potenciadores del promotor transcripcional pueden ser tanto el potenciador de la cadena pesada de inmunoglobulina de ratón como el potenciador de la LTR viral, y las regiones de terminación de poliadenilación y transcripción. En otras formas de realización, para lograr la expresión de las proteínas en células de mamífero las secuencias de ADN que codifican otras proteínas se combinan con los elementos de expresión citados anteriormente.

[261] Cada región codificante o fusión génica se ensambla o se inserta en un vector de expresión. Las células receptoras capaces de expresar la(s) región(es) variable(s) o porciones de unión a antígeno de las mismas se transfectan entonces individualmente con nucleótidos que codifican un anticuerpo o un polipéptido de anticuerpo o una porción de unión a antígeno

de los mismos, o se cotransfectan con uno o más polinucleótidos que codifican regiones codificantes de las cadenas VH y VL. Del cultivo se recuperan las células receptoras transfectadas se cultivan en condiciones que permiten la expresión de las regiones codificantes incorporadas y las cadenas de anticuerpos expresadas o anticuerpos intactos o porciones de unión a antígeno.

[262] En algunas formas de realización, los ácidos nucleicos que contienen las regiones codificantes que codifican un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo se ensamblan en vectores de expresión separados que luego se usan para cotransfectar una célula huésped receptora. Cada vector puede contener uno o más genes seleccionables. Por ejemplo, en algunas formas de realización, se utilizan dos genes seleccionables, un primer gen seleccionable modificado para la selección en un sistema bacteriano y un segundo gen seleccionable modificado para la selección en un sistema eucariótico, donde cada vector tiene un conjunto de regiones codificantes. Esta estrategia da como resultado vectores que primero dirigen la producción, y permiten la amplificación, de las secuencias de nucleótidos en un sistema bacteriano. Posteriormente, los vectores de ADN producidos de esa manera y amplificados en un huésped bacteriano se usan para cotransfectar una célula eucariota, y permitir la selección de una célula cotransfectada que porta los ácidos nucleicos transfectados deseados (por ejemplo, que contienen cadenas pesadas y livianas de anticuerpos). Algunos ejemplos no limitantes de genes seleccionables para usar en un sistema bacteriano son el gen que confiere resistencia a la ampicilina y el gen que confiere resistencia al cloranfenicol. Los genes seleccionables para usar en transfectantes eucariotas incluyen al gen de la xantina guanina fosforribosil transferasa (que se denomina gpt) y el gen de la fosfotransferasa de Tn5 (que se denomina neo). Como alternativa, las secuencias de nucleótidos fusionadas que codifican las cadenas VH y VL se pueden ensamblar en el mismo vector de expresión.

[263] Para la transfección de los vectores de expresión y producción de anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos, la línea celular receptora puede ser una línea celular de ovario de hámster chino (por ejemplo, DG44) o una célula de mieloma. Las células de mieloma pueden sintetizar, ensamblar y secretar inmunoglobulinas codificadas por genes de inmunoglobulinas transfectadas y poseen el mecanismo de glicosilación de las inmunoglobulinas. Por ejemplo, en algunas formas de realización, la célula receptora es la célula de mieloma productora de Ig recombinante SP2/0. Las células SP2/0 sólo producen inmunoglobulinas codificadas por los genes transfectados. Las células de mieloma se pueden cultivar en cultivos o en la cavidad peritoneal de un ratón, donde la inmunoglobulina secretada se puede obtener del líquido ascítico.

[264] Un vector de expresión que codifica un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo se puede introducir en una célula huésped apropiada mediante cualquiera de una variedad de medios adecuados, que incluyen medios bioquímicos tales como transformación, transfección, fusión de protoplastos, precipitación con fosfato de calcio, y aplicación con

policationes tales como dietilaminoetil (DEAE) dextrano, y medios mecánicos tales como electroporación, microinyección directa y bombardeo de microproyectiles, como saben los especialistas en la técnica. (Véase, por ejemplo, Johnston et al., 240 Science 1538 (1988)).

[265] La levadura provee ciertas ventajas con respecto a las bacterias para la producción de cadenas pesadas y livianas de inmunoglobulinas. Las levaduras realizan modificaciones de péptidos postraduccionales, incluyendo a la glicosilación. Existe un número de estrategias de ADN recombinante en las que se utilizan secuencias promotoras fuertes y plásmidos de alto número de copias que se pueden usar para la producción de las proteínas deseadas en levadura. La levadura reconoce las secuencias directrices de los productos genéticos de mamíferos clonados y secreta polipéptidos portadores de secuencias directrices (es decir, pre-polipéptidos). Véase, por ejemplo, Hitzman et al., 11th Intl. Conf. Yeast, Genetics & Molec. Biol. (Montpelier, Francia, 1982).

[266] Los sistemas de expresión de genes de levadura se pueden evaluar de la manera rutinaria para determinar los niveles de producción, secreción y estabilidad de anticuerpos, y anticuerpos ensamblados y porciones de unión a antígeno de los mismos. Se pueden utilizar diversos sistemas de expresión de genes de levadura que incorporan elementos promotores y de terminación de los genes expresados activamente que codifican enzimas glicolíticas producidas en grandes cantidades cuando las levaduras se cultivan en medios ricos en glucosa. Los genes glicolíticos conocidos también pueden proveer señales de control de la transcripción muy eficientes. Por ejemplo, se pueden utilizar las señales promotoras y de terminación del gen fosfoglicerato quinasa (PGK). Otro ejemplo es el promotor del factor de elongación de la traducción 1alfa, por ejemplo el de células de hámster chino. Para determinar la expresión de inmunoglobulinas en levadura se pueden tomar diversos enfoques para evaluar los plásmidos de expresión óptima. Véase II DNA Cloning 45, (Glover, ed., IRL Press, 1985) y por ejemplo, Publicación de los EE.UU. Nº US 2006/0270045 A1.

[267] También se pueden utilizar cepas bacterianas como huéspedes para la producción de moléculas de anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos según se describe en la presente. Se pueden utilizar cepas de *E. coli* K12 como *E. coli* W3110, especies de *Bacillus*, enterobacterias tales como *Salmonella typhimurio* o *Serratia marcescens*, y diversas especies de *Pseudomonas*. En conexión con estos huéspedes bacterianos se utilizan vectores plásmidos que contienen replicón y secuencias de control que se derivan de especies compatibles con una célula huésped. El vector porta un sitio de replicación, así como genes específicos que son capaces de proveer selección fenotípica en células transformadas. Para evaluar la expresión de plásmidos para la producción de anticuerpos y porciones de unión a antígeno de los mismos en bacterias se pueden tomar diversos enfoques (Véase Glover, 1985; Ausubel, 1987, 1993; Sambrook, 1989; Colligan, 1992-1996).

[268] Las células de mamífero huésped se pueden cultivar *in vitro* o *in vivo*. Las células de mamífero proveen modificaciones postraduccionales a las moléculas de inmunoglobulina que

incluyen la eliminación de péptidos líderes, el plegamiento y ensamblaje de cadenas VH y VL, glicosilación de las moléculas de anticuerpos, y secreción de anticuerpos funcionales y/o porciones de unión a antígeno de los mismos.

[269] Además de las células de origen linfoide descritas anteriormente, algunas células de mamífero que pueden ser útiles como huéspedes para la producción de proteínas anticuerpos, incluyen células de origen fibroblástico, tales como células Vero o CHO-K1. Algunos ejemplos de células eucarióticas que se pueden usar para expresar polipéptidos de inmunoglobulina incluyen, pero de manera no taxativa, células COS, que incluyen a las células COS 7; células 293, que incluyen a las células 293-6E; células CHO, que incluyen a las células CHO--S y DG44; células PERC6^{TM} (Crucell); y células NSO. En algunas formas de realización, una célula eucariota particular se selecciona en base a su capacidad de realizar las modificaciones postraduccionales deseadas en las cadenas pesadas y/o en las cadenas livianas. Por ejemplo, en algunas formas de realización, las células CHO producen polipéptidos que tienen un mayor nivel de sialilación que el mismo polipéptido producido en las células 293.

[270] En algunas formas de realización, uno o más anticuerpos o porciones de unión a antígenos de los mismos se pueden producir *in vivo* en un animal que ha sido modificado o transfectado con una o más moléculas de ácido nucleico que codifican los polipéptidos, de acuerdo con cualquier método adecuado.

[271] En algunas formas de realización, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo se produce en un sistema libre de células. Algunos ejemplos no limitantes de sistemas libres de células se describen, por ejemplo, en Sitaraman et al., Methods Mol. Biol. 498: 229-44 (2009); Spirin, Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004); y Endo et al., Biotechnol. Adv. 21: 695-713 (2003).

[272] Existen muchos sistemas vectoriales disponibles para la expresión de las cadenas VH y VL en células de mamífero (Véase Glover, 1985). Para obtener anticuerpos intactos se pueden seguir diversos enfoques. Como se describió anteriormente, es posible coexpresar cadenas VH y VL y opcionalmente las regiones constantes asociadas en las mismas células para lograr la asociación y el enlace intracelular de las cadenas VH y VL en los anticuerpos H_2L_2 tetraméricos completos o porciones de unión a antígeno de los mismos. La coexpresión puede ocurrir en el mismo huésped ya sea usando los mismos plásmidos o unos diferentes. Los ácidos nucleicos que codifican las cadenas VH y VL o porciones de unión a antígeno de las mismas se pueden colocar en el mismo plásmido, que luego se transfecta en células, seleccionando así directamente células que expresan ambas cadenas. Como alternativa, las células se pueden transfectar primero con un plásmido que codifica una cadena, por ejemplo la cadena VL, seguido de la transfección de la línea celular resultante con un plásmido de la cadena VH que contiene un segundo marcador seleccionable. Las líneas celulares que producen anticuerpos o porciones de unión a antígenos de los mismos se podrían transfectar a través de cualquiera de las rutas con plásmidos que codifican copias adicionales de péptidos, cadenas VH, VL, o VH

más VL de manera conjunta con marcadores seleccionables adicionales para generar líneas celulares con propiedades mejoradas, como por ejemplo mayor producción de anticuerpos ensamblados o porciones de unión a antígeno de los mismos o estabilidad mejorada de las líneas celulares transfectadas.

[273] Además, las plantas han surgido como un sistema de expresión alternativo conveniente, seguro y económico para la producción de anticuerpos recombinantes, que se basan en cultivos a gran escala de microbios o células animales. Los anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos se pueden expresar en cultivos de células vegetales, o plantas cultivadas convencionalmente. La expresión en las plantas puede ser sistémica, limitada a plastidios subcelulares, o limitada a semillas (endospermos). Véase, por ejemplo, la publicación de patente US Nº 2003/0167531; Patente US Nº 6.080.560; Patente US Nº 6.512.162; y WO 0129242. Varios anticuerpos derivados de plantas han alcanzado etapas avanzadas de desarrollo, incluyendo ensayos clínicos (Véase, por ejemplo, Biolex, N.C.).

[274] Para anticuerpos intactos, las regiones variables (regiones VH y VL) de los anticuerpos están estrechamente vinculadas con por lo menos una porción de una región o dominio constante (Fc) de inmunoglobulina, específicamente de una inmunoglobulina humana. Las secuencias de ADN de la región constante humana se pueden aislar empleando procedimientos bien conocidos desde una variedad de células humanas, tales como células B inmortalizadas (WO 87/02671). Un anticuerpo puede contener regiones constantes tanto de la cadena liviana como de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada puede incluir regiones CH1, bisagra, CH2, CH3, y, opcionalmente, CH4. En algunas formas de realización, el dominio CH2 puede ser suprimido u omitido.

[275] Para producir anticuerpos de cadena única que se unen específicamente al antígeno diana se pueden adaptar técnicas ya descritas para la producción de anticuerpos de cadena única (Véase, por ejemplo Pat. U.S. Nº 4.946.778; Bird, Science 242:423-42 (1988); Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); y Ward et al., Nature 334:544-54 (1989); que se incorporan a la presente como referencia en toda su extensión). Los anticuerpos de cadena simple se forman uniendo las regiones variables de las cadenas pesada y liviana de la región Fv mediante un puente de aminoácidos, para obtener como resultado un polipéptido de cadena simple. También se pueden utilizar técnicas para el ensamblaje de porciones funcionales de Fv en *E. coli* (Véase, por ejemplo Skerra et al., Science 242:1038-1041 (1988); que se incorpora a la presente como referencia en toda su extensión).

[276] En algunas formas de realización, una porción de unión a antígeno comprende uno o más scFvs. Un scFv puede ser, por ejemplo, una proteína de fusión de las regiones variables de las cadenas pesada (VH) y liviana (VL) de un anticuerpo, conectada con un conector peptídico corto de entre diez y aproximadamente 25 aminoácidos. Habitualmente, el conector es rico en glicina para tener flexibilidad, así como serina o treonina que le otorgan solubilidad, y puede conectar el extremo N-terminal de la VH con el extremo C-terminal de la VL, o viceversa.

Esta proteína conserva la especificidad del anticuerpo original, a pesar de la eliminación de las regiones constantes y la introducción del conector. Los anticuerpos scFv han sido descritos, por ejemplo, en Houston, J. S., Methods in Enzymol. 203 (1991) 46-96. Los métodos para preparar moléculas scFv y diseñar péptidos conectores adecuados han sido descritos, por ejemplo, en las patentes U.S. Nº 4.704.692; Patente US Nº 4.946.778; Raag y Whitlow, FASEB 9:73-80 (1995) y Bird y Walker, TIBTECH, 9:132-137 (1991). Los scFv-Fc han sido descritos por Sokolowska-Wedzina et al., Mol. Cancer Res., 15(8):1040-1050, 2017.

[277] En algunas formas de realización, una porción de unión a antígeno es un anticuerpo de dominio simple. Los anticuerpos de dominio simple se pueden derivar del dominio variable de la cadena pesada de anticuerpos de camélidos (por ejemplo, Nanocuerpos o porciones VHH). Aún adicionalmente, un anticuerpo de dominio simple puede ser un dominio variable de la cadena pesada humana autónomo (aVH) o porciones VNAR derivadas de tiburones (Véase, por ejemplo, Hasler et al., Mol. Immunol. 75:28-37, 2016).

[278] Las técnicas para producir anticuerpos de dominio simple (DAB o VHH) son conocidas en el arte, como se divulga por ejemplo en Cossins et al., (2006, Prot Express Purif 51:253-259) y Li et al., (Immunol. Lett. 188:89-95, 2017). Los anticuerpos de dominio simple se pueden obtener, por ejemplo, de camellos, alpacas o llamas mediante técnicas de inmunización estándar. (Véase, por ejemplo, Muyldermans et al., TIBS 26:230-235, 2001; Yau et al., J Immunol Methods 281:161-75, 2003; y Maass et al., J Immunol Methods 324:13-25, 2007). Un VHH puede tener una potente capacidad de unión a antígeno y puede interactuar con epitopes que son inaccesibles para los pares VH-VL convencionales (Véase, por ejemplo, Muyldermans et al., 2001). La IgG de suero de alpaca contiene aproximadamente 50% anticuerpos IgG solo de cadena pesada de camélidos (HCAbs) (Véase, por ejemplo, Maass et al., 2007). Las alpacas se pueden inmunizar con antígenos y se pueden aislar VHH que se unen para neutralizar el antígeno diana (Véase, por ejemplo, Maass et al., 2007). Se han identificado cebadores de PCR que amplifican secuencias codificantes de VHH de alpaca y se pueden usar para construir bibliotecas de presentación en fagos de VHH de alpaca, que se pueden usar para aislar fragmentos de anticuerpos empleando técnicas de biopanning estándar bien conocidas en el arte (Véase, por ejemplo, Maass et al., 2007).

[279] Algunas técnicas para fabricar anticuerpos multiespecíficos incluyen, pero de manera no taxativa, coexpresión recombinante de dos pares de cadenas pesadas-livianas de inmunoglobulinas que tienen diferentes especificidades (Véase, por ejemplo, Milstein y Cuello, Nature 305:537 (1983)), WO 93/08829, y Traunecker et al., EMBO J. 10:3655 (1991)), e ingeniería de tipo “knob-in-hole” (Véase, por ejemplo, la patente US Nº 5.731.168; Carter (2001), J Immunol Methods 248, 7-15). También se pueden preparar anticuerpos multiespecíficos mediante la ingeniería de efectos de direccionamiento electrostático para producir moléculas heterodiméricas de Fc de anticuerpo (Véase, por ejemplo, WO 2009/089004A1); entrecruzamiento de dos o más anticuerpos o porciones de unión a antígeno

de los mismos (Véase, por ejemplo, Patente US Nº 4.676.980, y Brennan et al., Science, 229:81 (1985)); usando cremalleras de leucina para producir anticuerpos biespecíficos (Véase, por ejemplo, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)); usando tecnología "diacuerpo" para preparar porciones de anticuerpos biespecíficos (Véase, por ejemplo, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); y usando dímeros de Fv (scFv) de cadena simple (Véase, por ejemplo Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)); y preparar anticuerpos triespecíficos según se describe, por ejemplo, en Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991).

[280] Otros grupos de direccionamiento también pueden ser los anticuerpos modificados con tres o más sitios funcionales de unión a antígeno, incluyendo a los denominados “anticuerpos pulpo” [*octopus antibodies*] (Véase, por ejemplo US 2006/0025576A1).

[281] En algunas formas de realización, los grupos de direccionamiento comprenden diferentes sitios de unión a antígeno, fusionados a una o a la otra de las dos subunidades del dominio Fc; por lo tanto, las dos subunidades del dominio Fc pueden estar comprendidas en dos cadenas polipeptídicas no idénticas. La coexpresión recombinante de estos polipéptidos y su posterior dimerización conduce a varias combinaciones posibles de los dos polipéptidos. Por lo tanto, para mejorar el rendimiento y pureza de las moléculas biespecíficas en la producción recombinante, será ventajoso introducir en el dominio Fc del grupo de direccionamiento una modificación promoviendo la asociación de los polipéptidos deseados.

[282] Por lo general, este método incluye la sustitución de uno o más residuos de aminoácidos en la interfaz de los dos dominios Fc por residuos de aminoácidos cargados de modo que la formación de homodímeros se vuelva electrostáticamente desfavorable pero la heterodimerización sea electrostáticamente favorable.

[283] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento es un "activador de células T biespecíficas" o BiTE (Véase, por ejemplo, WO2004/106381, WO2005/061547, WO2007/042261, y WO2008/119567). En este enfoque se utilizan dos dominios variables de anticuerpos dispuestos en un solo polipéptido. Por ejemplo, una única cadena de polipéptido puede incluir dos porciones de cadena simple Fv (scFv), cada una de las cuales tiene un dominio variable de la cadena pesada (VH) y un dominio variable de la cadena liviana (VL) separados por un conector polipeptídico de una longitud suficiente para permitir la asociación intramolecular entre los dos dominios. Este único polipéptido incluye además una secuencia espaciadora de polipéptido entre los dos scFv. Cada scFv reconoce un epitope diferente, y estos epitopes pueden ser específicos para diferentes proteínas, de modo que el BiTE se una a ambas proteínas.

[284] Al tratarse de un único polipéptido, el accionador de células T biespecífica puede ser expresado usando cualquier sistema de expresión de células procariotas o eucariotas conocido en el arte, por ejemplo, una línea celular CHO. Sin embargo, para separar los accionadores de células T biespecíficas monoméricos de otras especies multiméricas, que pueden tener

actividades biológicas distintas a la actividad prevista del monómero puede ser necesario usar técnicas de purificación específicas (Véase, por ejemplo, EP1691833). En uno de los ejemplos de esquema de purificación, primero se somete una solución que contiene polipéptidos secretados a una cromatografía de afinidad con metal, y los polipéptidos se eluyen con un gradiente de concentraciones de imidazol. Este eluato se purifica adicionalmente usando cromatografía de intercambio aniónico, y los polipéptidos se eluyen usando un gradiente de concentraciones de cloruro de sodio. Por último, este eluato se somete a cromatografía de exclusión por tamaños para separar los monómeros de las especies multiméricas. En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento es un anticuerpo biespecífico compuesto por una única cadena polipeptídica que comprende dos porciones de cadena simple FV (scFV) fusionadas entre sí mediante un conector peptídico.

[285] En algunas formas de realización, un grupo de direccionamiento es multiespecífico, tal como un IgG-scFV. Los formatos de IgG-scFv incluyen IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, svFc-(L)IgG, 2scFV-IgG e IgG-2scFv. Estos y otros formatos de anticuerpos biespecíficos y métodos para elaborarlos han sido descritos, por ejemplo, en Brinkmann and Kontermann, MAbs 9(2):182-212 (2017); Wang et al., Antibodies, 2019, 8, 43; Dong et al., 2011, MAbs 3:273-88; Natsume et al., J. Biochem. 140(3):359-368, 2006; Cheal et al., Mol. Cancer Ther. 13(7):1803-1812, 2014; and Bates y Power, Antibodies, 2019, 8, 28.

[286] Los anticuerpos de dominios variables duales similares a Igg (DVD-Ig) han sido descritos por Wu et al., 2007, Nat Biotechnol 25:1290-97; Hasler y col., Mol. Immunol. 75:28-37, 2016 y en WO 08/024188 y WO 07/024715. Los triomabs han sido descritos por Chelius et al., MAbs 2(3):309-319, 2010. Los 2-in-1-IgG han sido descritos por Kontermann et al., Drug Discovery Today 20(7):838-847, 2015. Los anticuerpos en tándem o TandAb han sido descritos por Kontermann et al., id. Los anticuerpos ScFv-HSA-scFv también han sido descritos por Kontermann et al., (id.).

[287] Los anticuerpos intactos (por ejemplo, completos), sus dímeros, cadenas livianas y pesadas individuales, o las porciones de unión a antígeno de los mismos se pueden recuperar y purificar mediante técnicas conocidas, por ejemplo, cromatografía de inmunoadsorción o inmunoafinidad, métodos cromatográficos tales como HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), tratamiento con sulfato de amonio, electroforesis en gel, o cualquier combinación de los mismos. Véase en general, Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., 1982). Los anticuerpos sustancialmente puros o porciones de unión a antígeno de los mismos con por lo menos entre aproximadamente 90% y 95% de homogeneidad son ventajosos, así como aquellos con entre 98% y 99% o más de homogeneidad, particularmente para usos farmacéuticos. Una vez purificado, parcialmente o hasta la homogeneidad deseada, un anticuerpo intacto o las porciones de unión a antígeno del mismo se pueden usar terapéuticamente o en el desarrollo y realización de procedimientos de ensayo, tinción inmunofluorescente, y técnicas similares. Véanse en general, Vols. I y II Immunol. Meth.

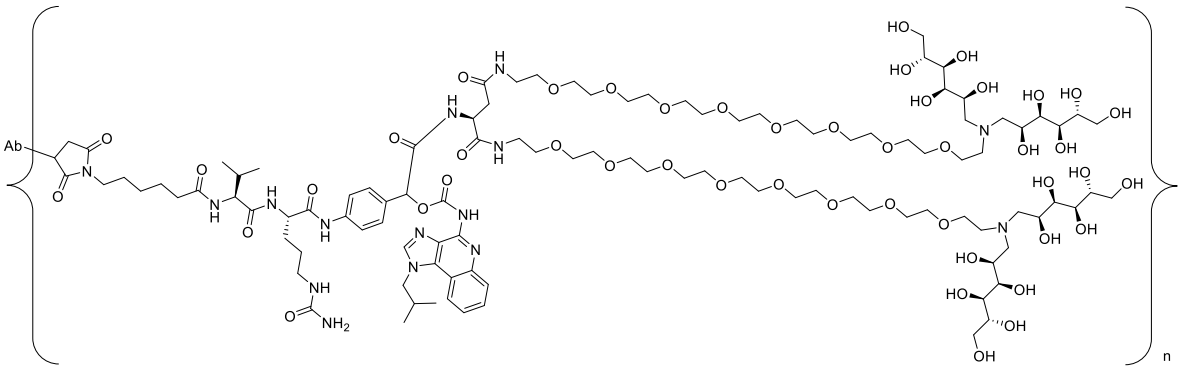
(Lefkovits & Pernis, eds., Acad. Press, NY, 1979 y 1981).

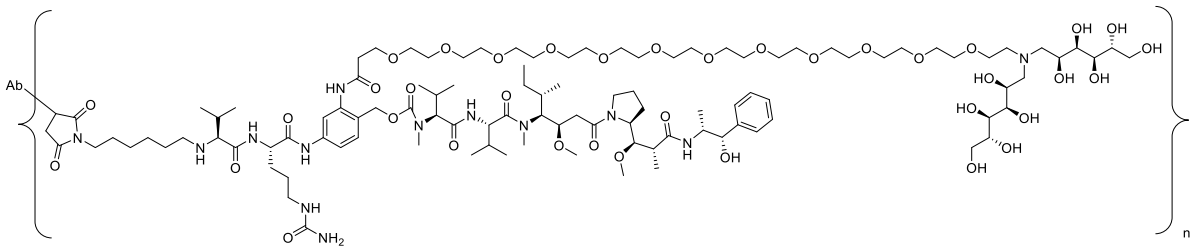
Conjugados

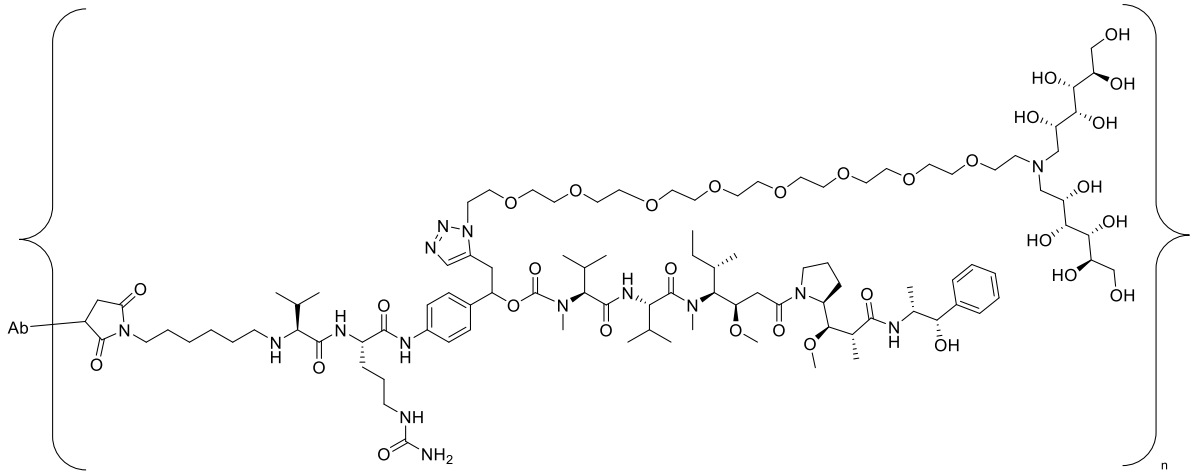
[288] En algunas formas de realización, se proveen conjugados que comprenden un grupo de direccionamiento según se describe en la presente, adjunto a un Fármaco-conector según se describe en la presente. En algunas formas de realización, se proveen Conjugados que comprenden un grupo de direccionamiento según se describe en la presente adjunto a un Fármaco-conector según se describe en la presente (por ejemplo, Fórmula (A). Por ejemplo, en algunas formas de realización el grupo de direccionamiento se selecciona entre un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo. En otras formas de realización específicas adicionales, el grupo de direccionamiento es un anticuerpo monoclonal, un Fab, un Fab', un F(ab'), un Fv, un Fc con unión disulfuro, un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo, un anticuerpo biespecífico, o un anticuerpo multiespecífico. En formas de realización más específicas, el grupo de direccionamiento es un diacuerpo, un DART, una anticalina, un aficuerpo, un avímero, una DARPin o una adnectina. En algunas formas de realización, el grupo de direccionamiento es monoespecífico. En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento es bivalente. En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento es biespecífico.

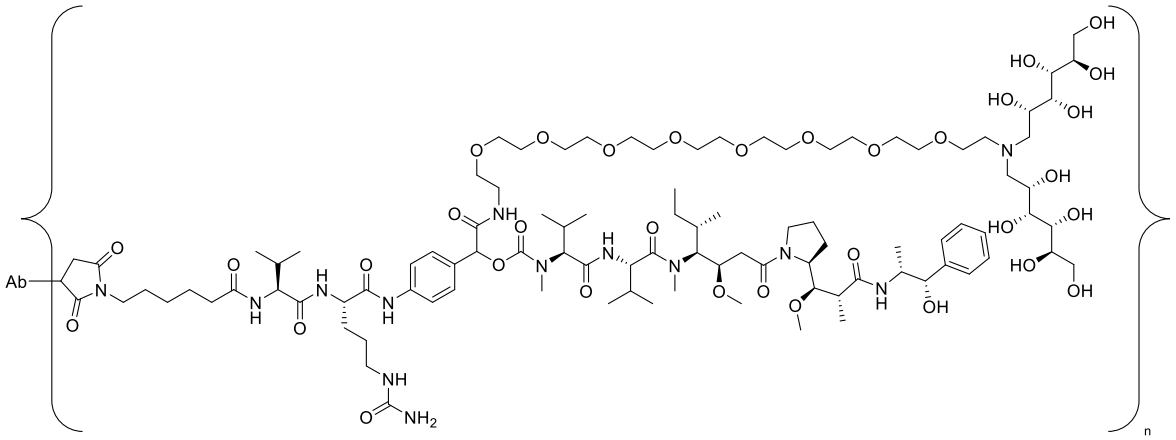
[289] En algunas formas de realización, se proveen conjugados que comprenden un grupo de direccionamiento unido a un Fármaco-conector según se describió anteriormente, donde el promedio de la carga de fármaco (p^{carga}) del conjugado es de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 8, aproximadamente 2, aproximadamente 4, aproximadamente 6, aproximadamente 8, aproximadamente 10, aproximadamente 12, aproximadamente 14, aproximadamente 16, entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, o entre aproximadamente 8 y aproximadamente 16. En algunos casos, el p^{carga} es de aproximadamente 1. En algunos casos, el p^{carga} es de aproximadamente 2. En algunos casos, el p^{carga} es de aproximadamente 4. En algunos casos, el p^{carga} es de aproximadamente 8.

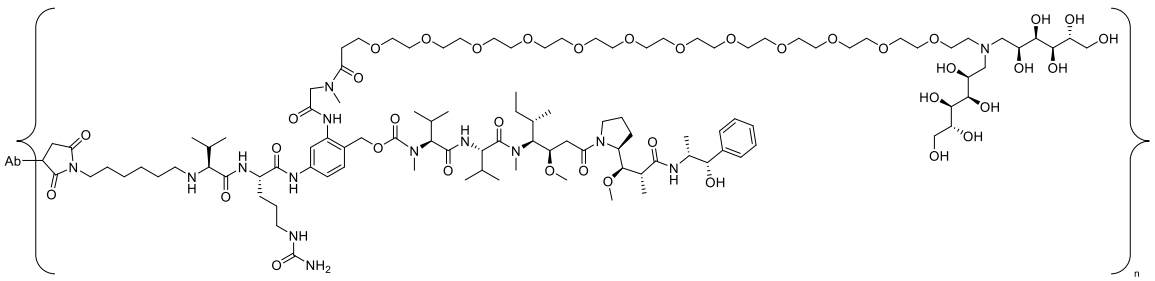
[290] En algunas formas de realización, se provee un conjugado que se selecciona entre los siguientes:

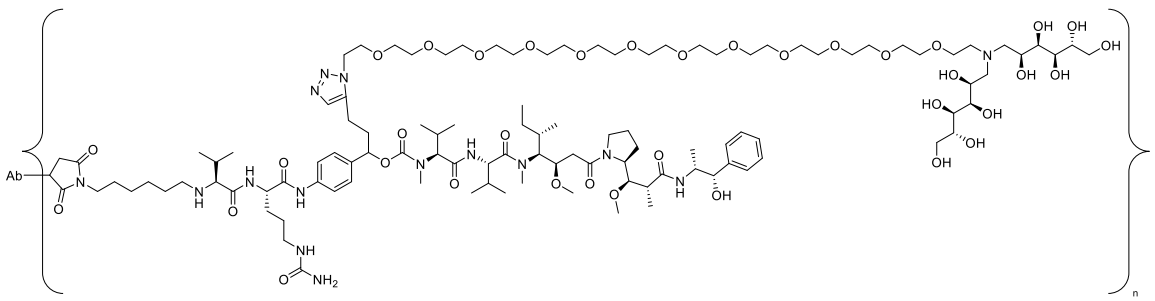


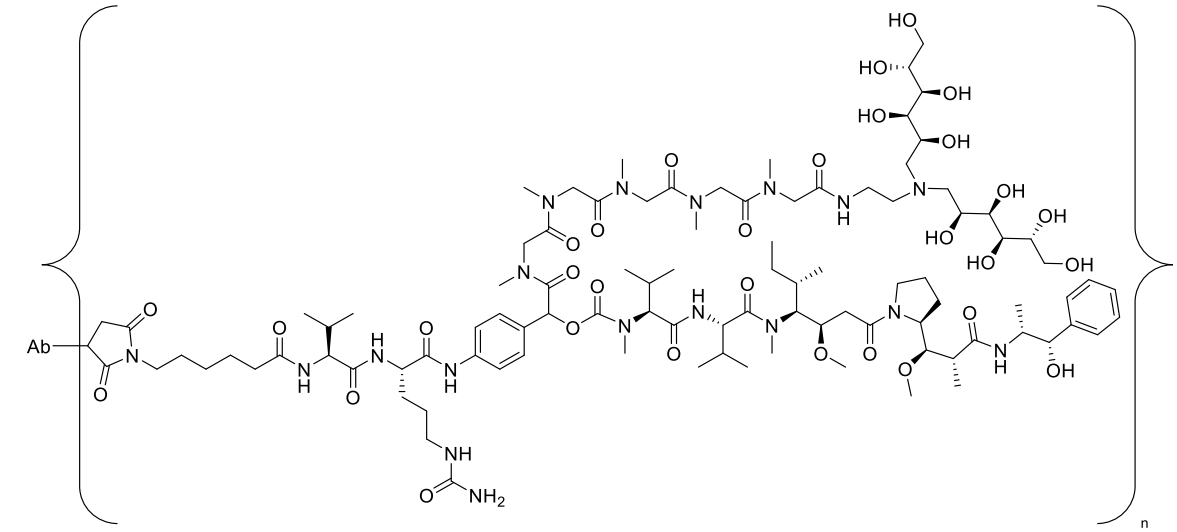


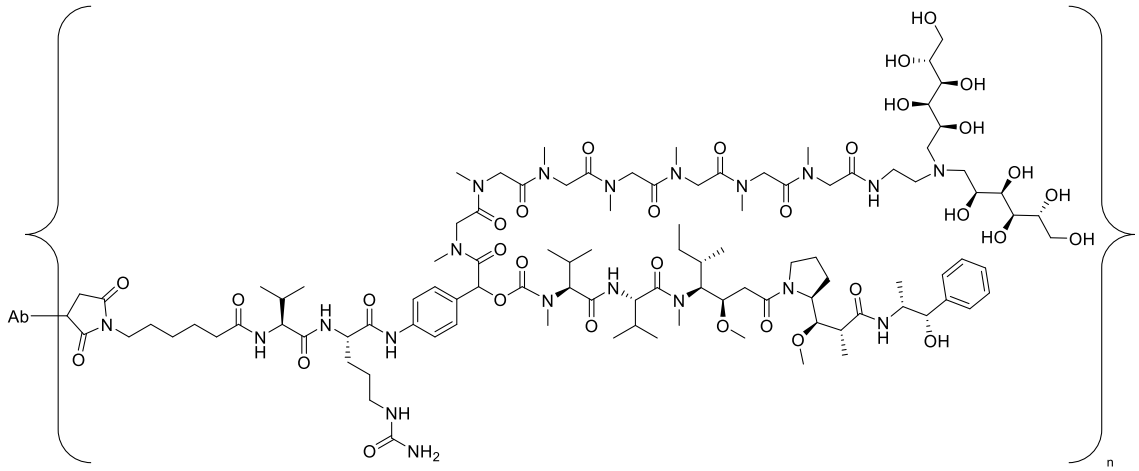


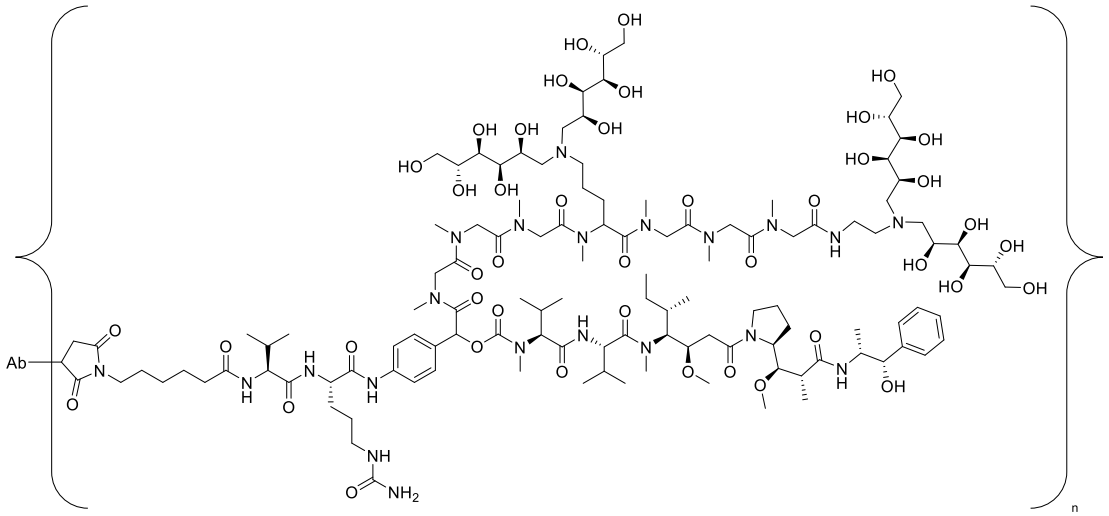


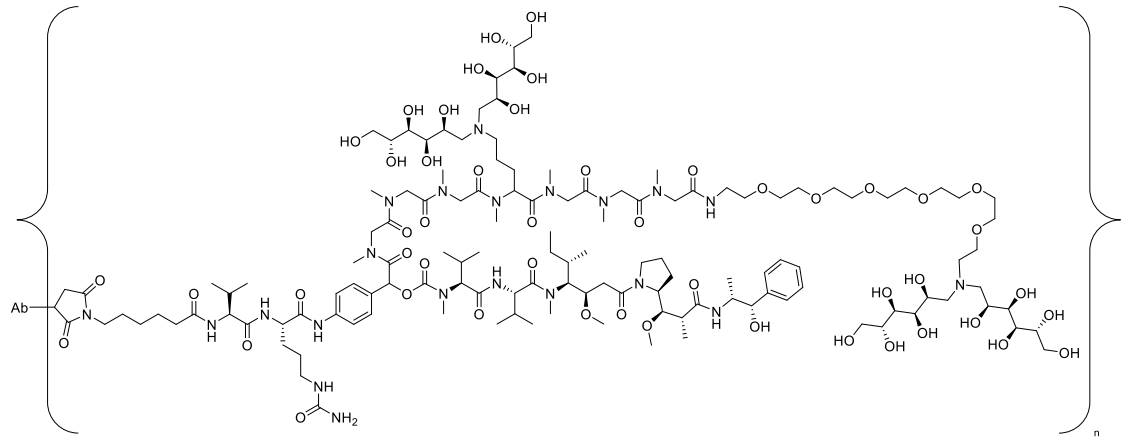


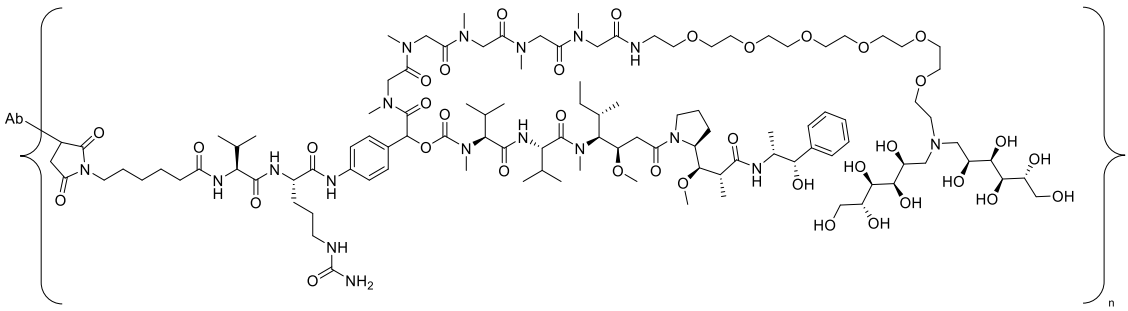


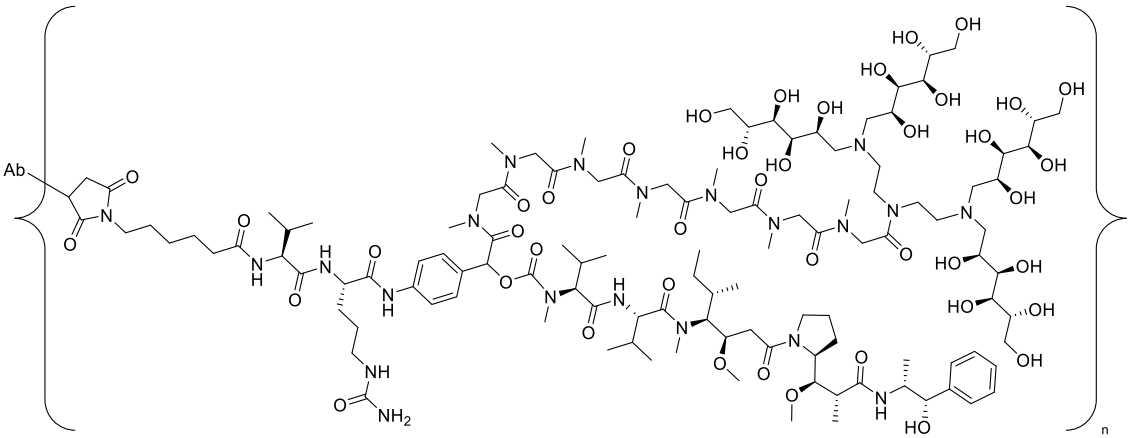


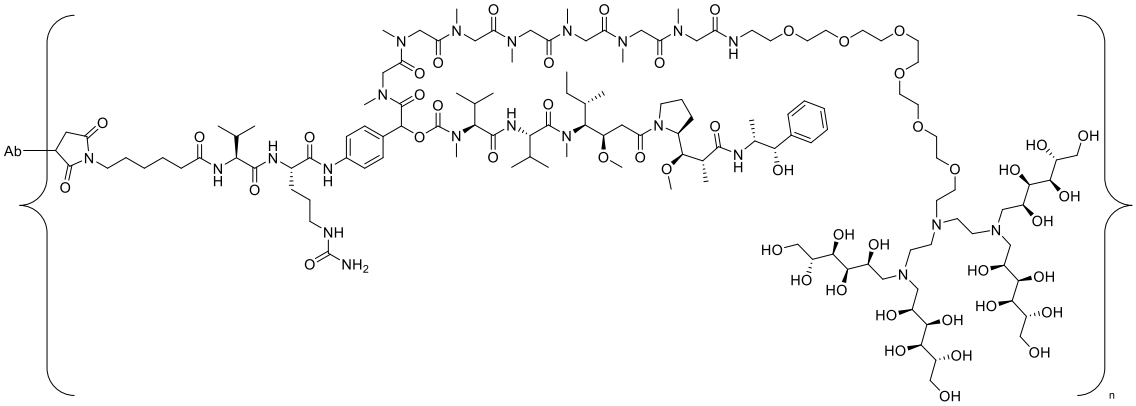


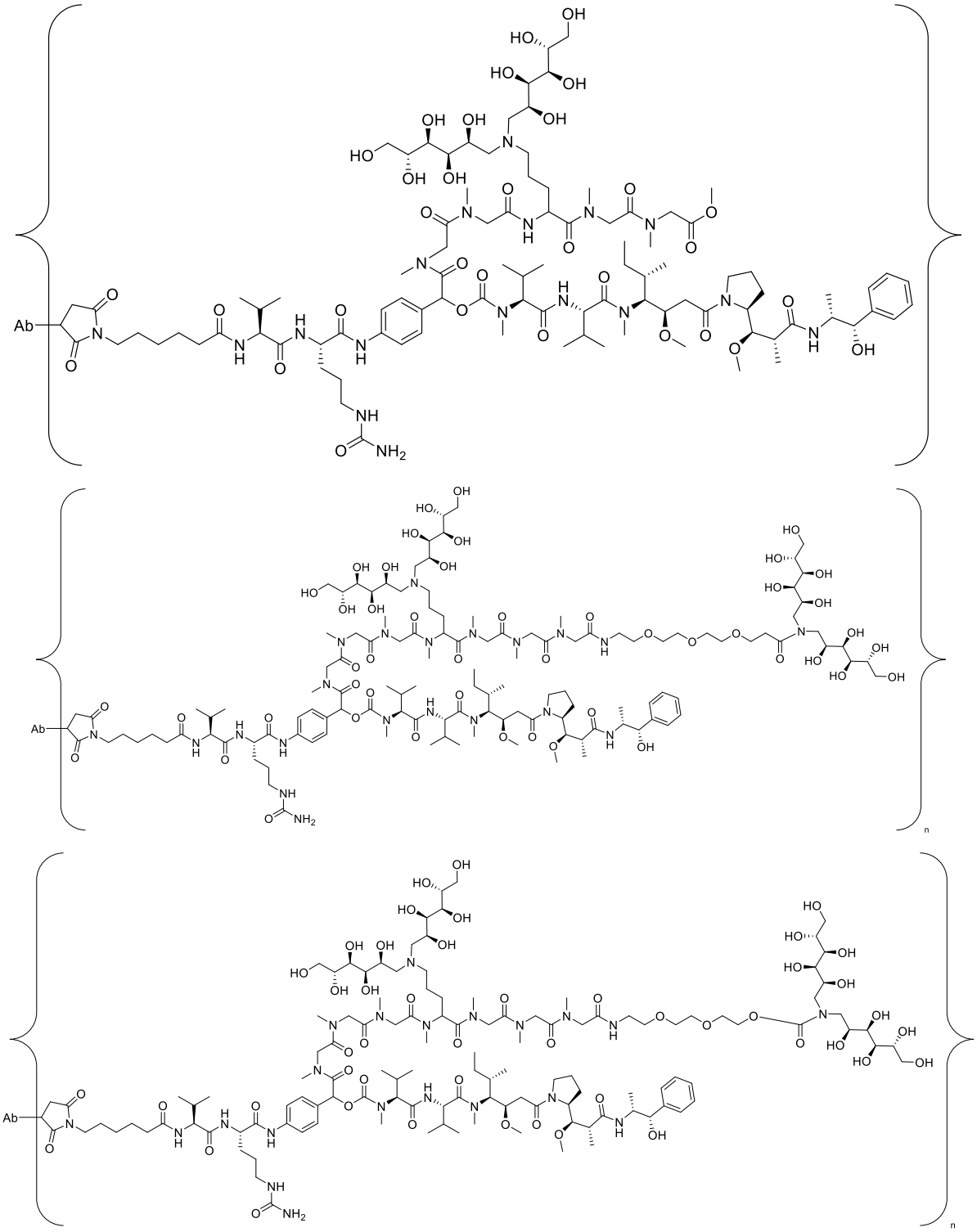


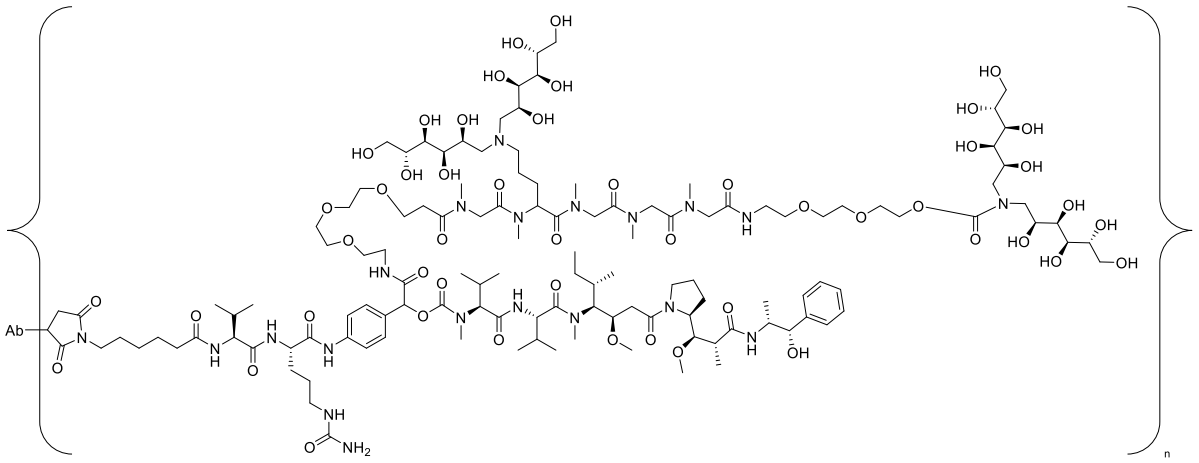


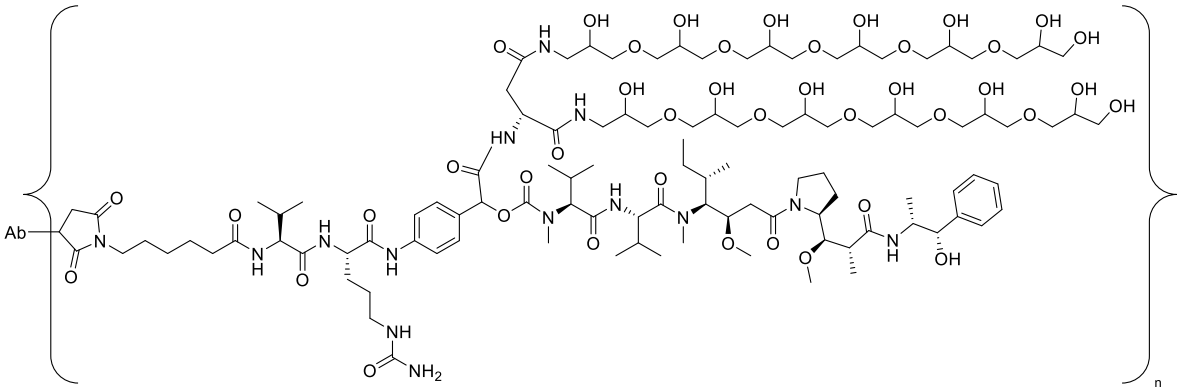


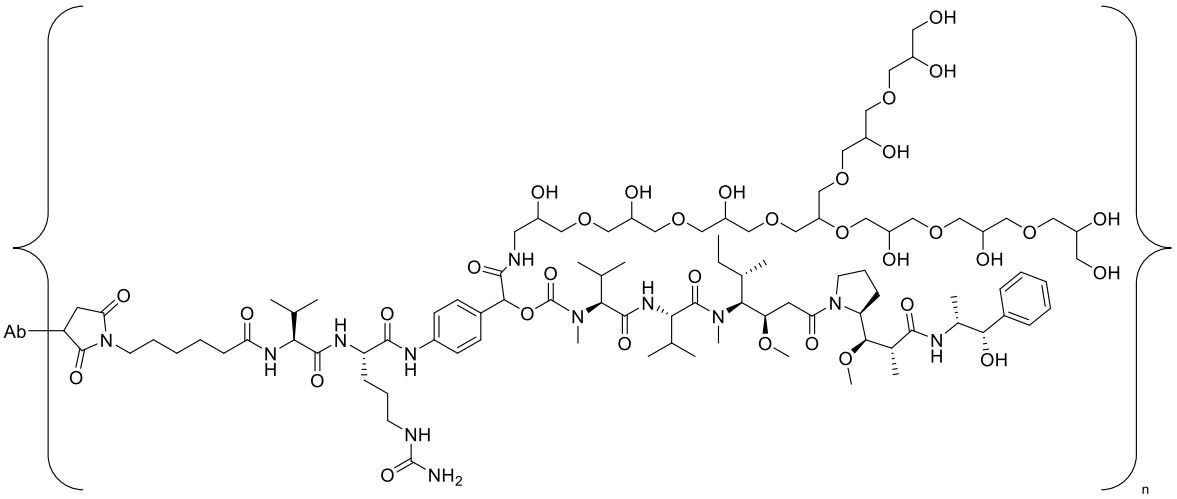


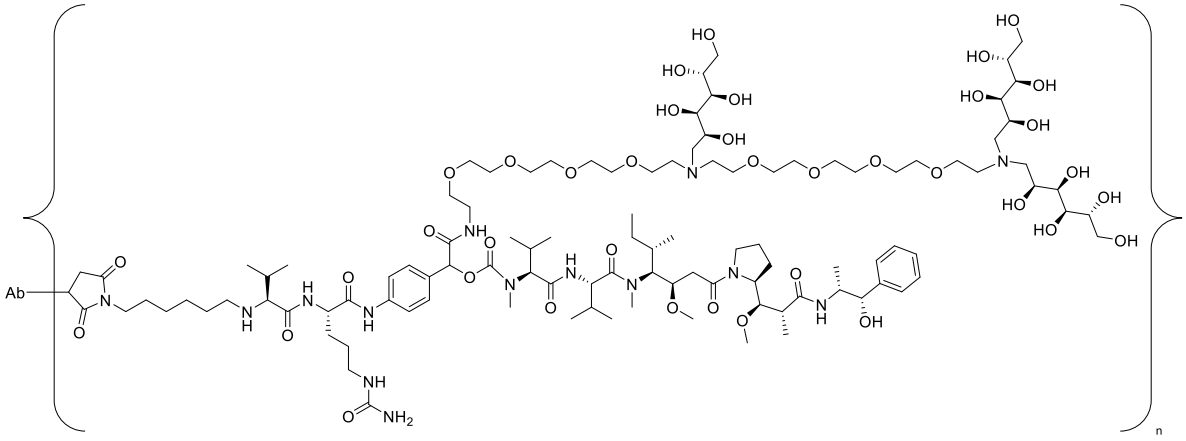


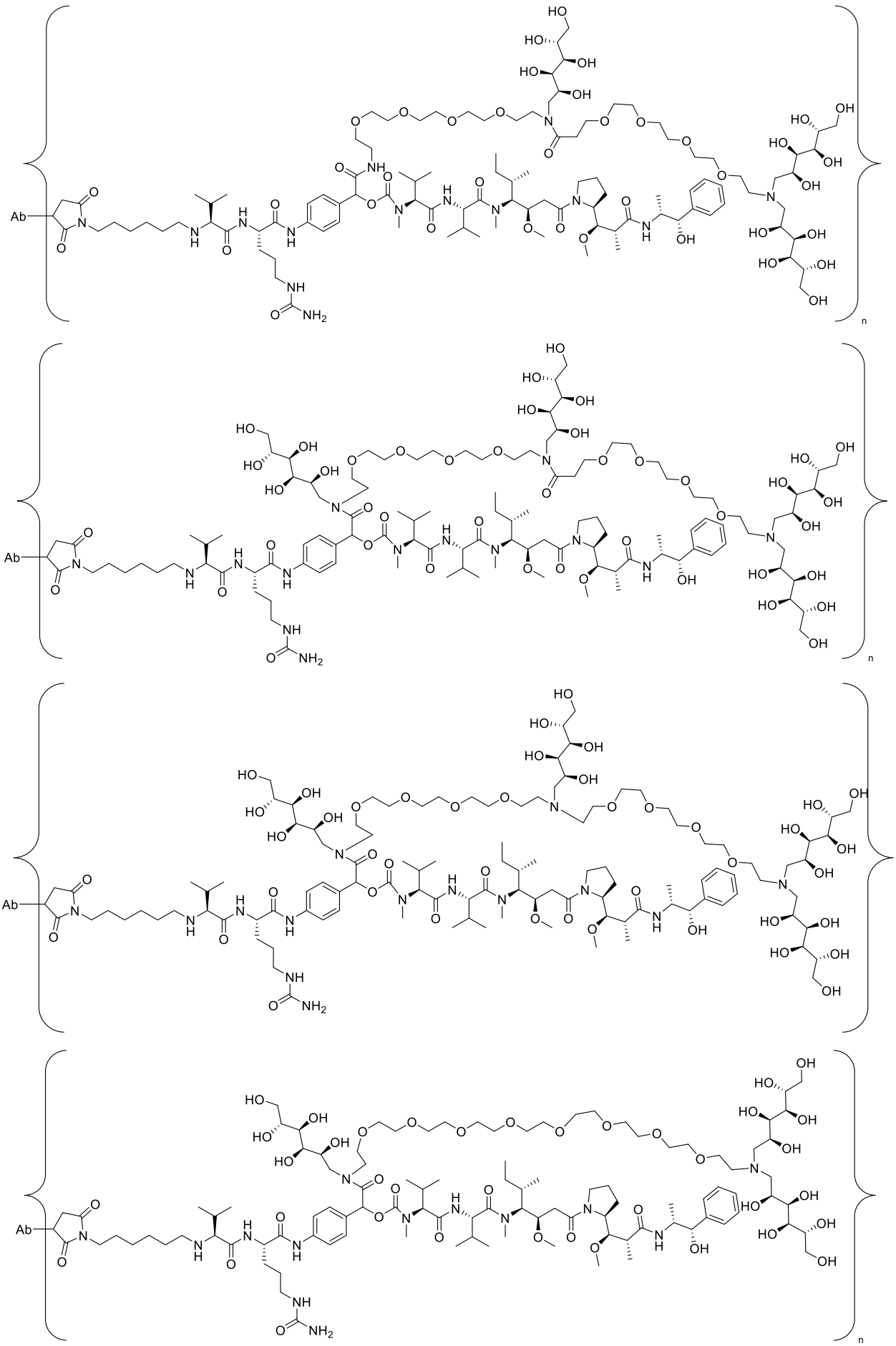


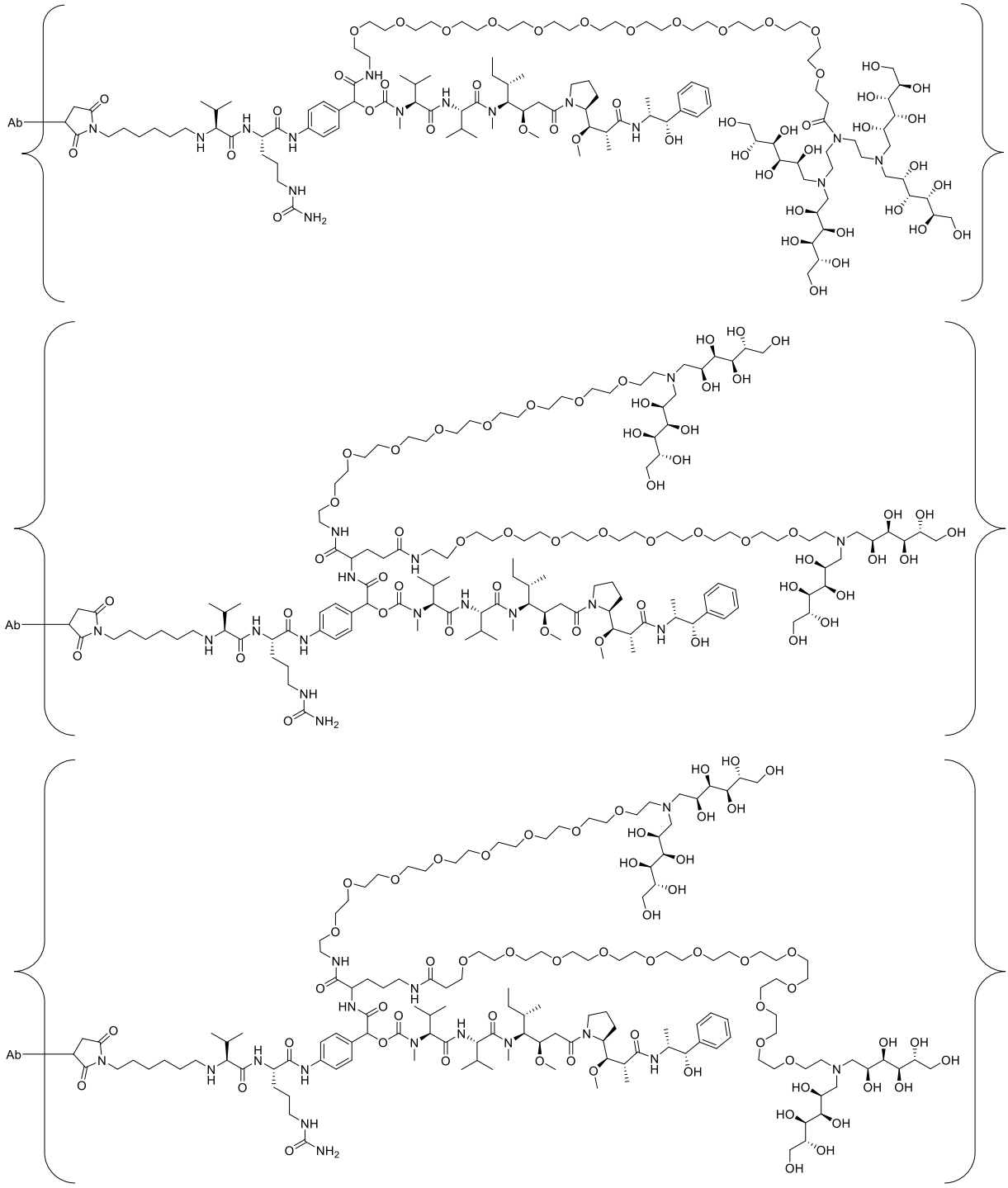


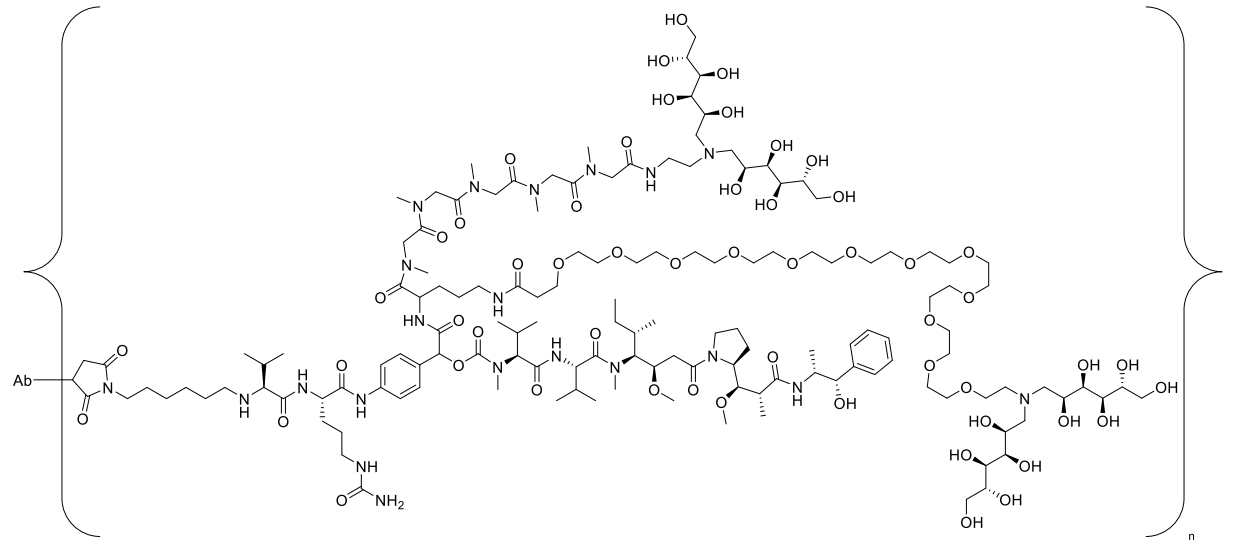


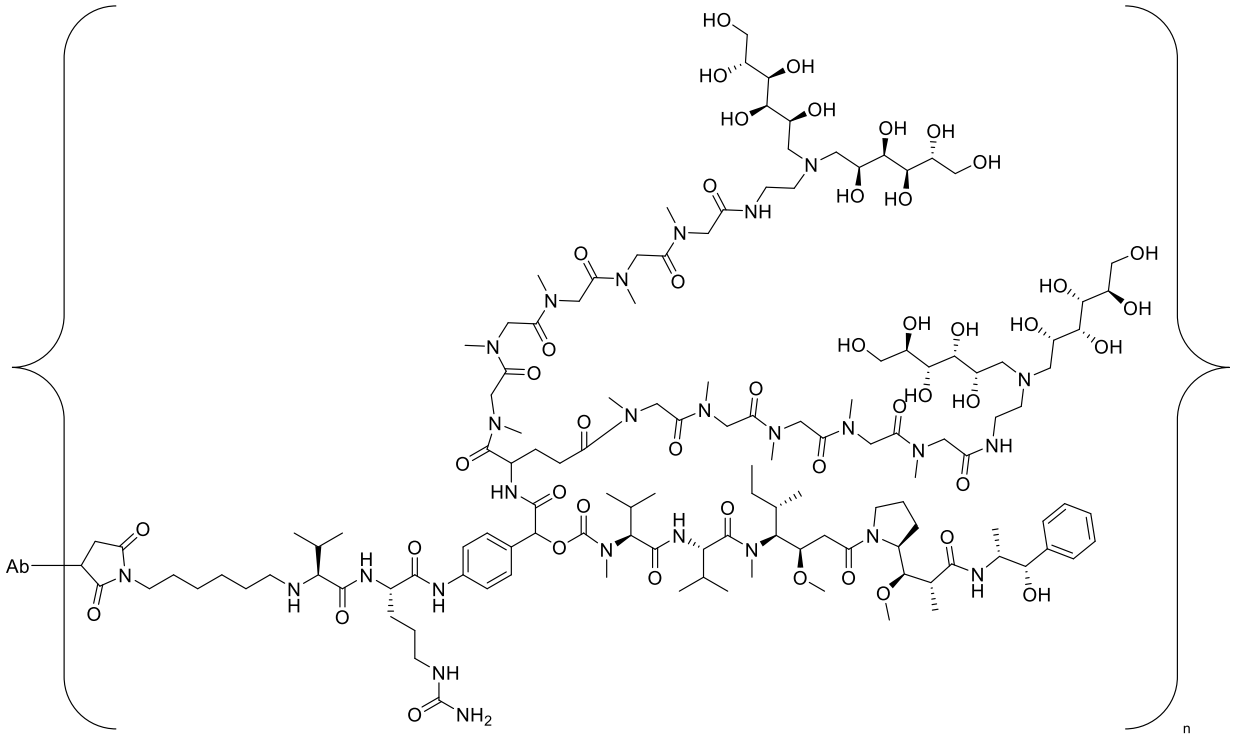


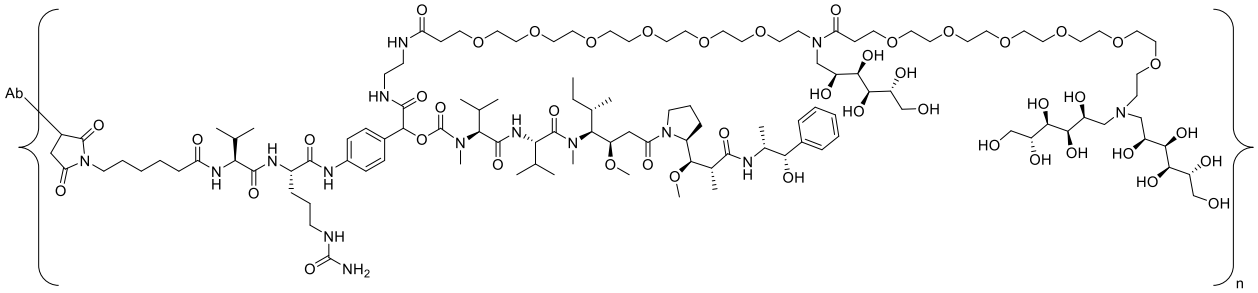


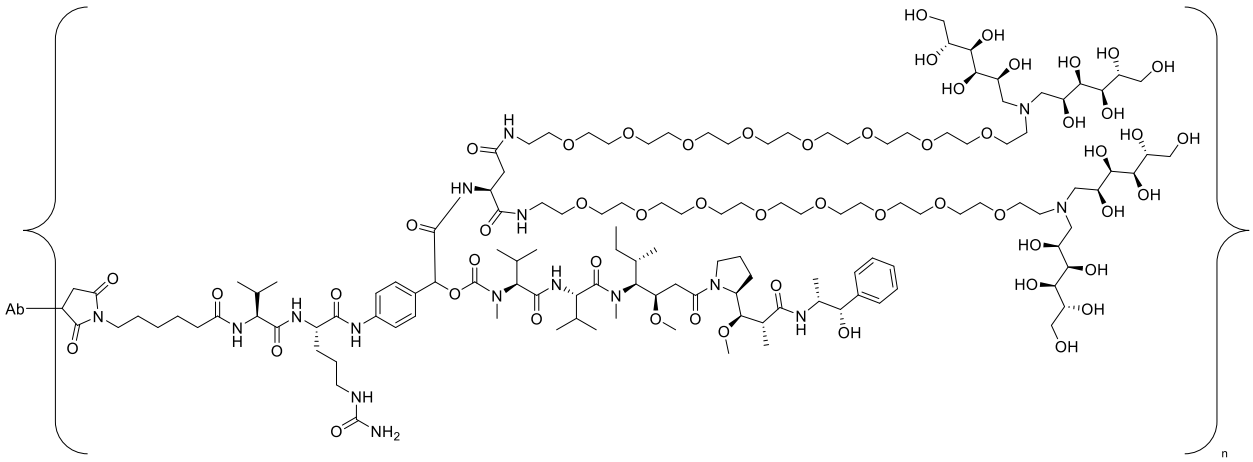


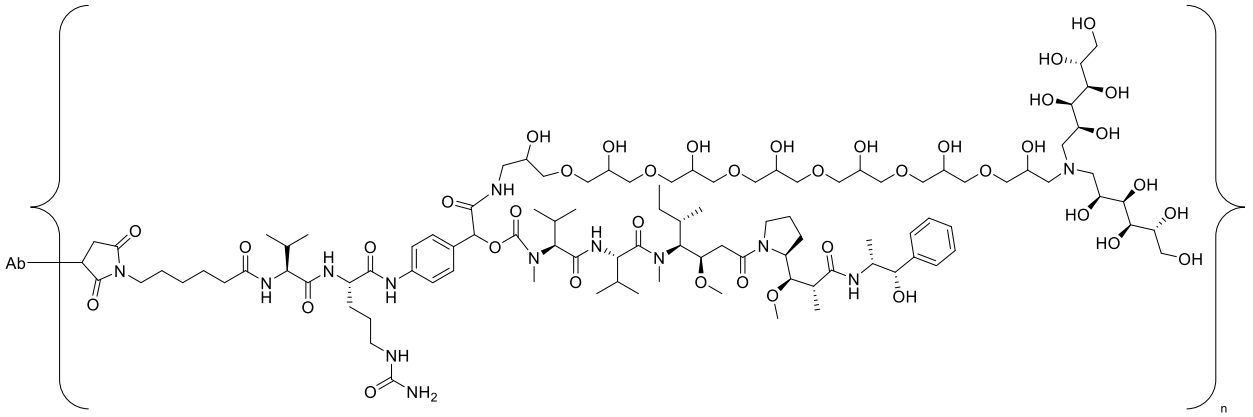


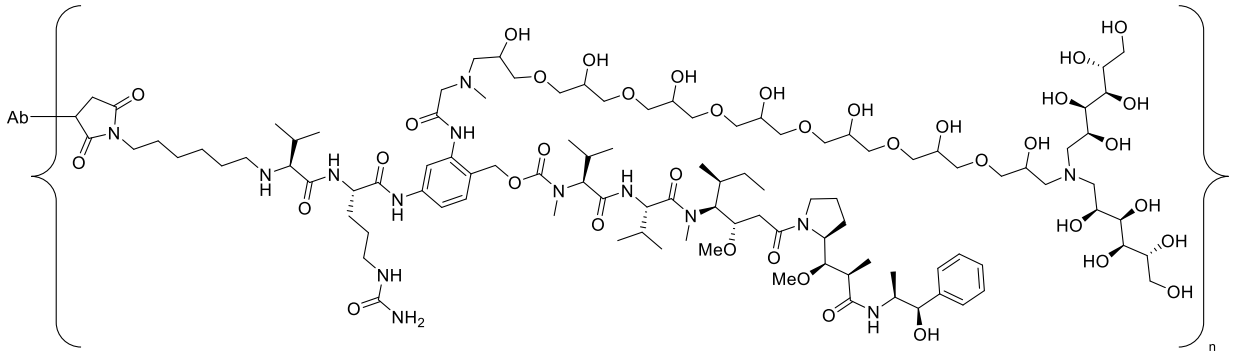


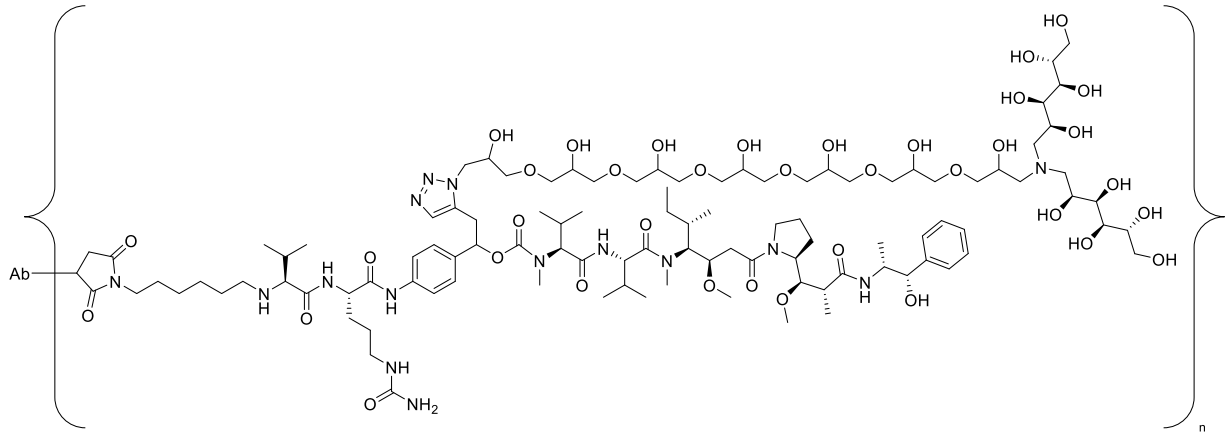


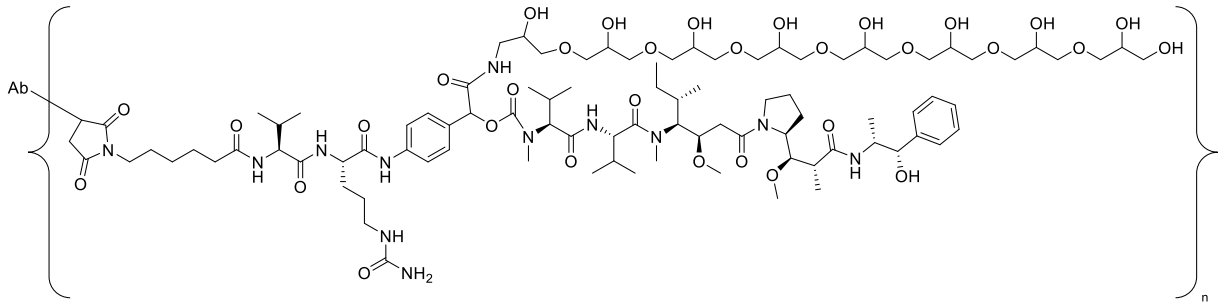


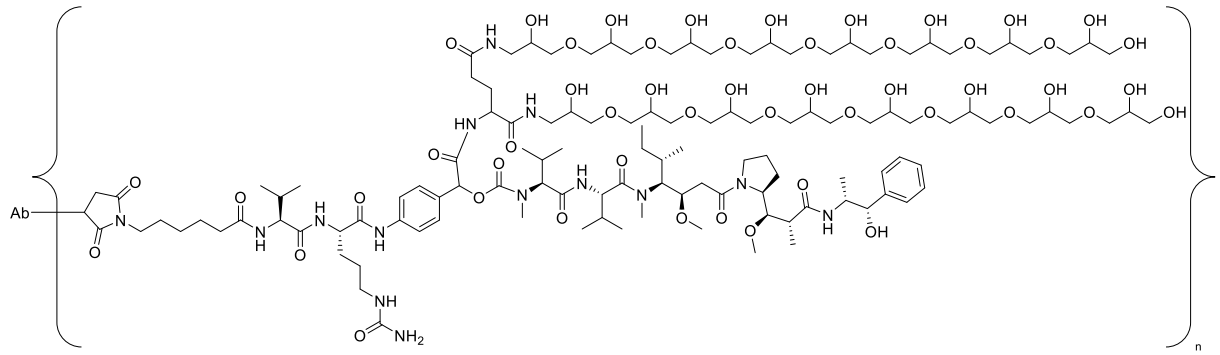


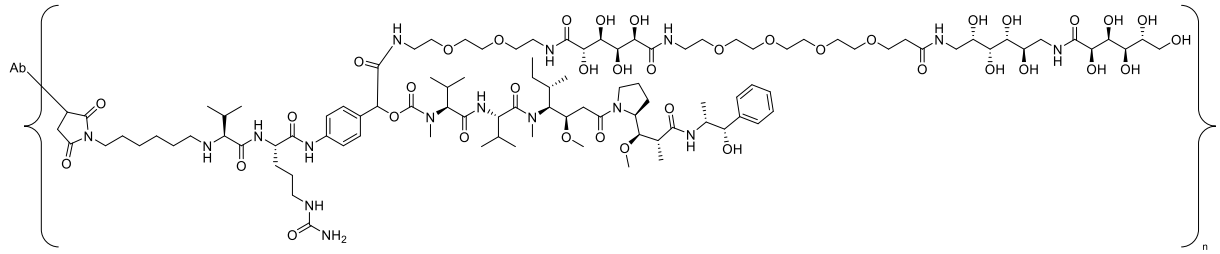


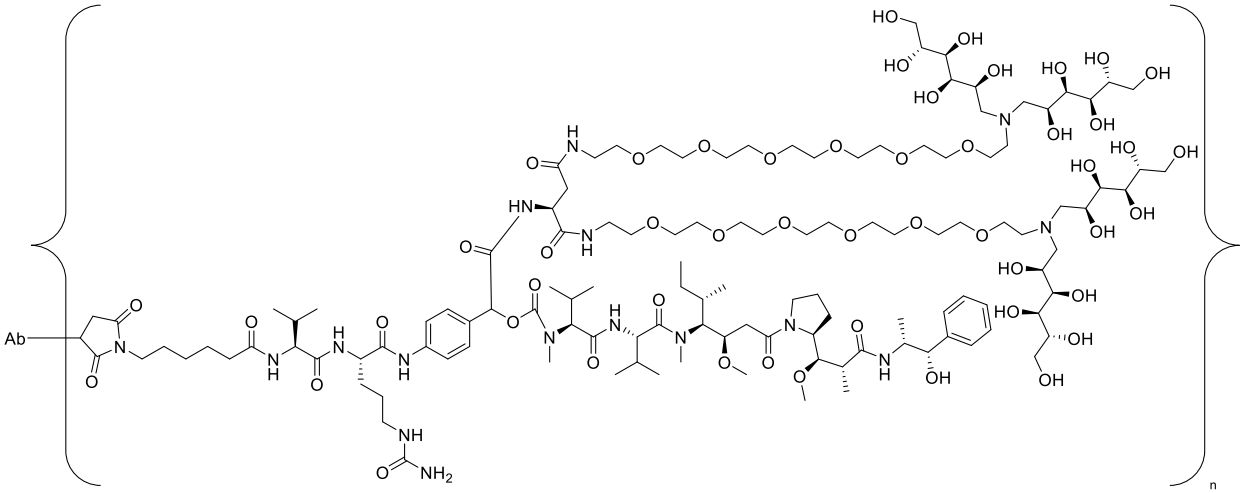




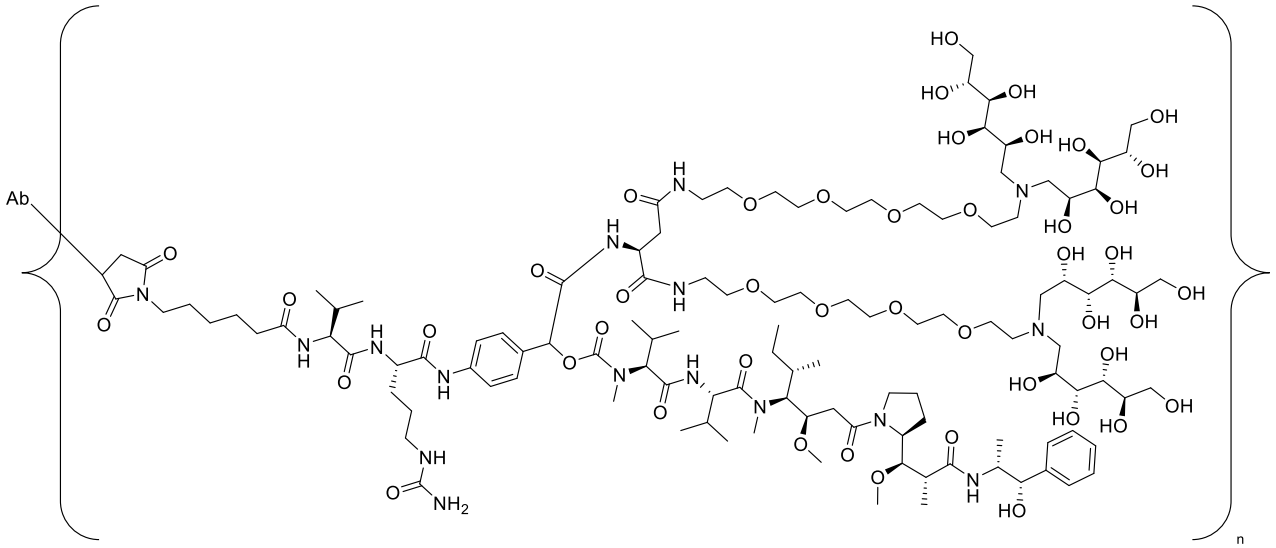


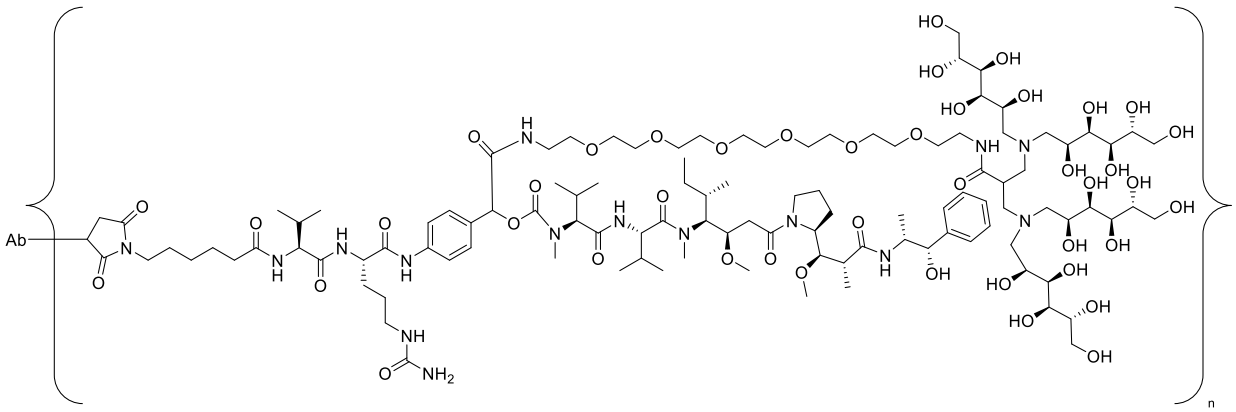


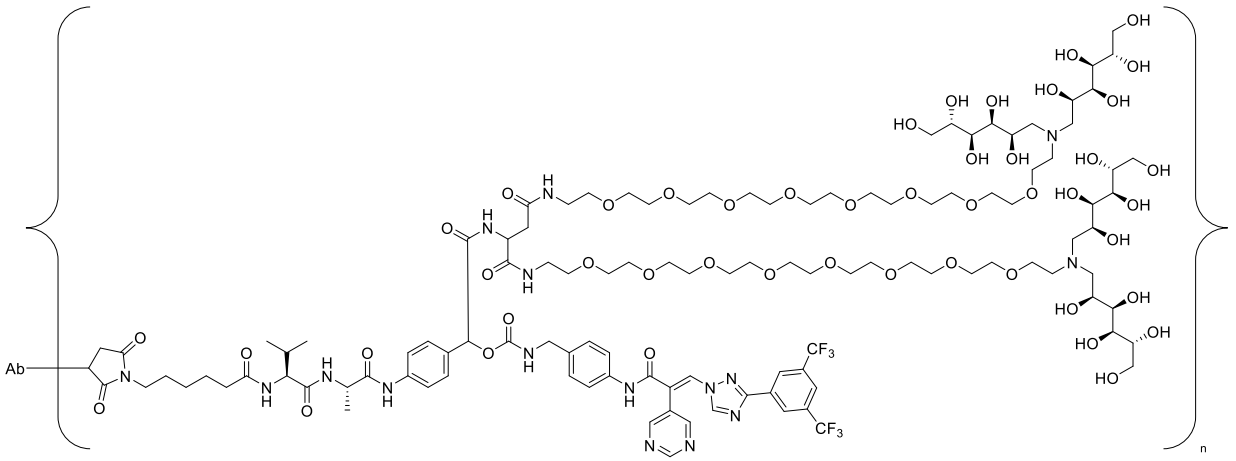


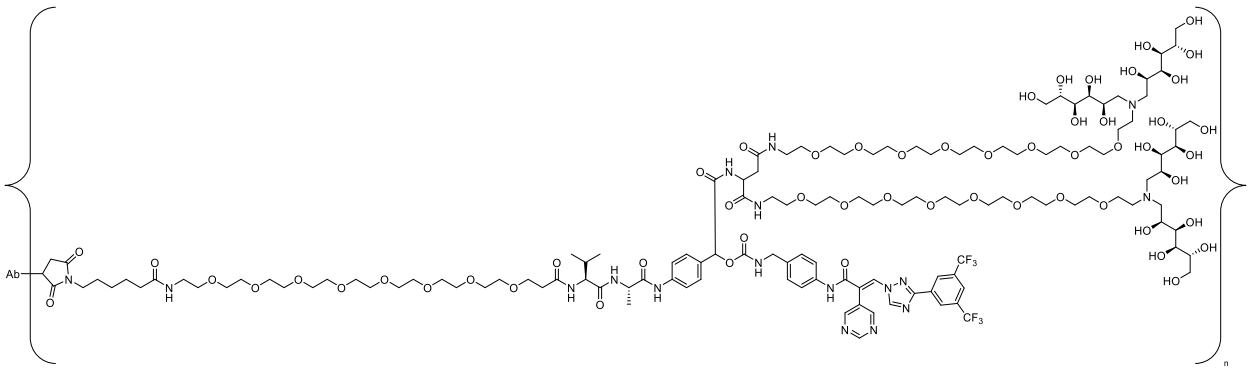


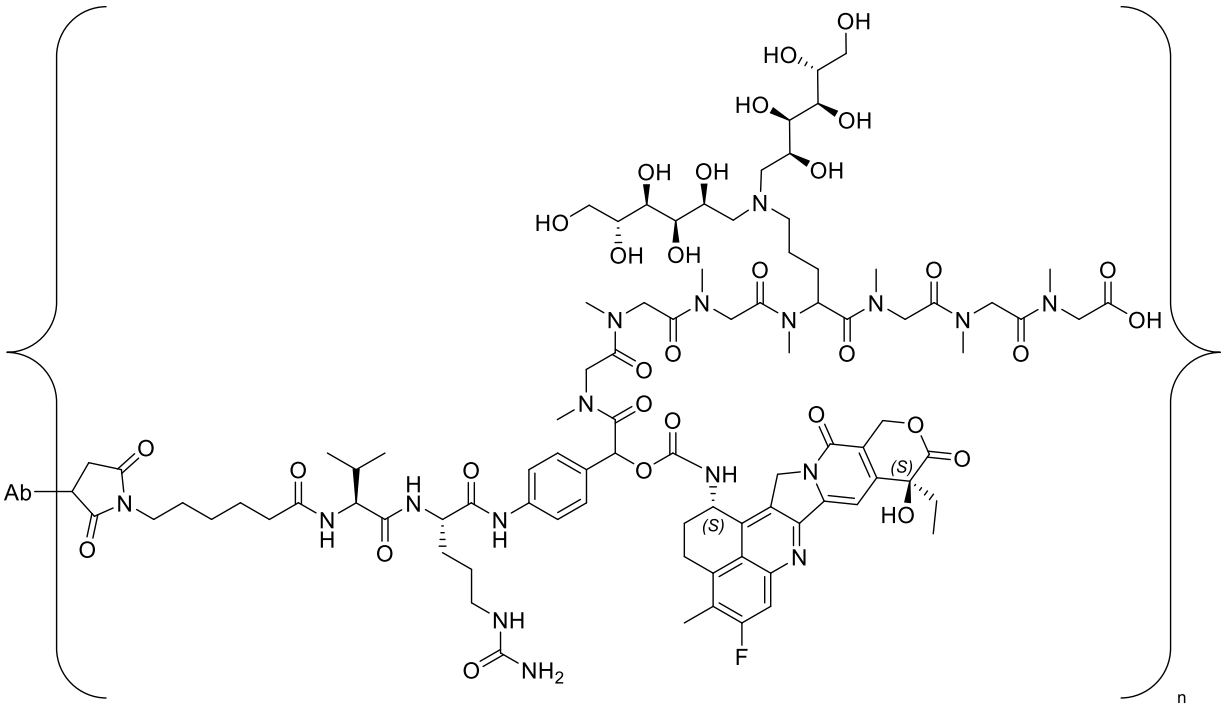
.

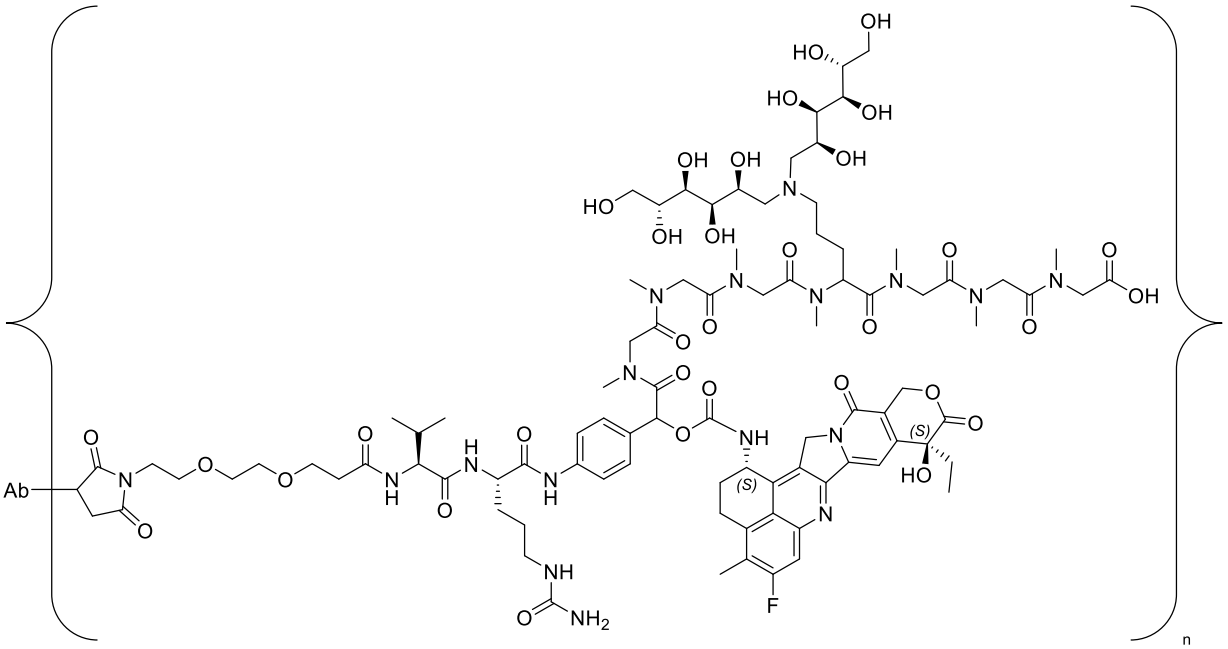


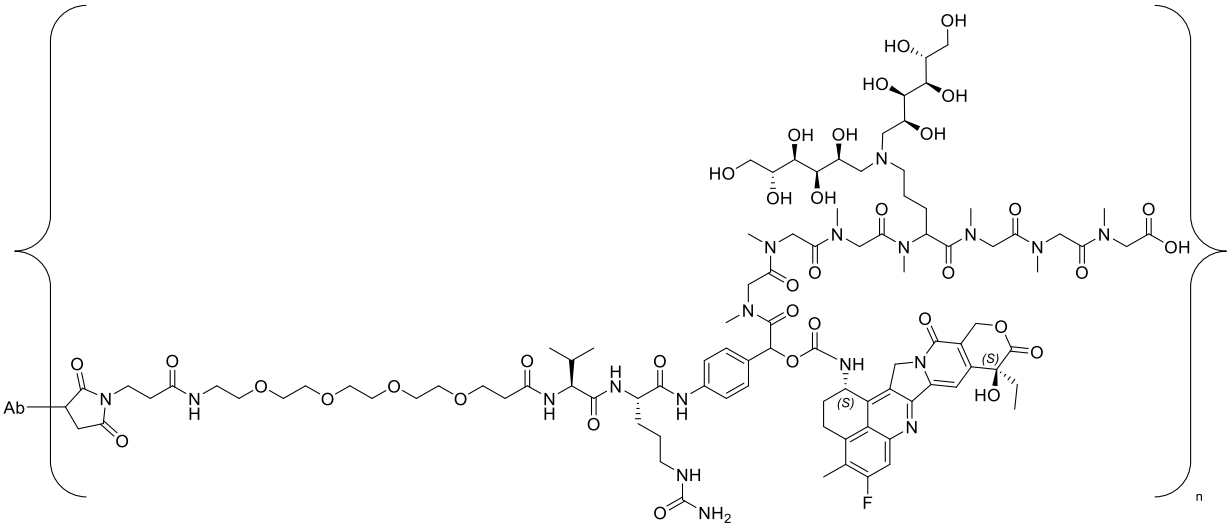


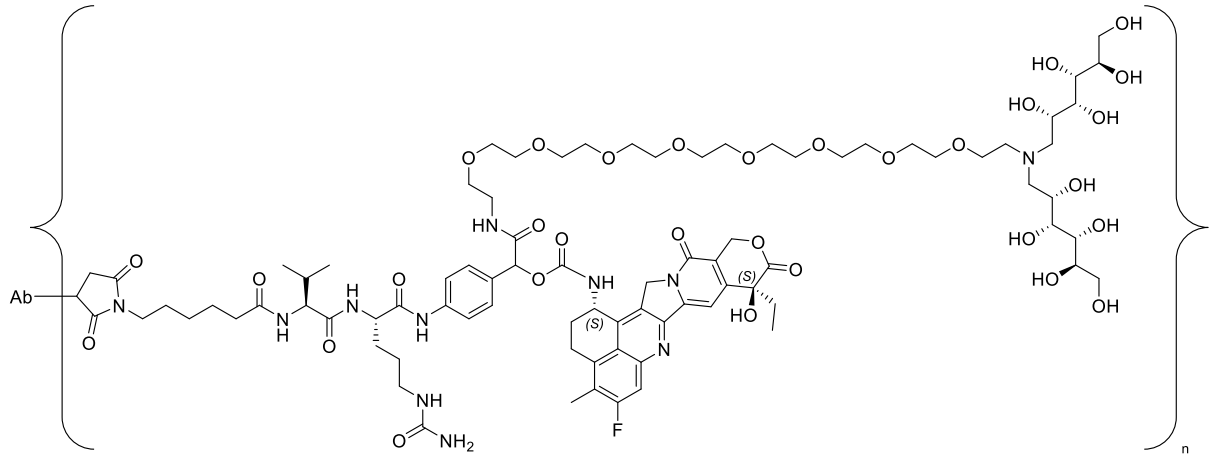


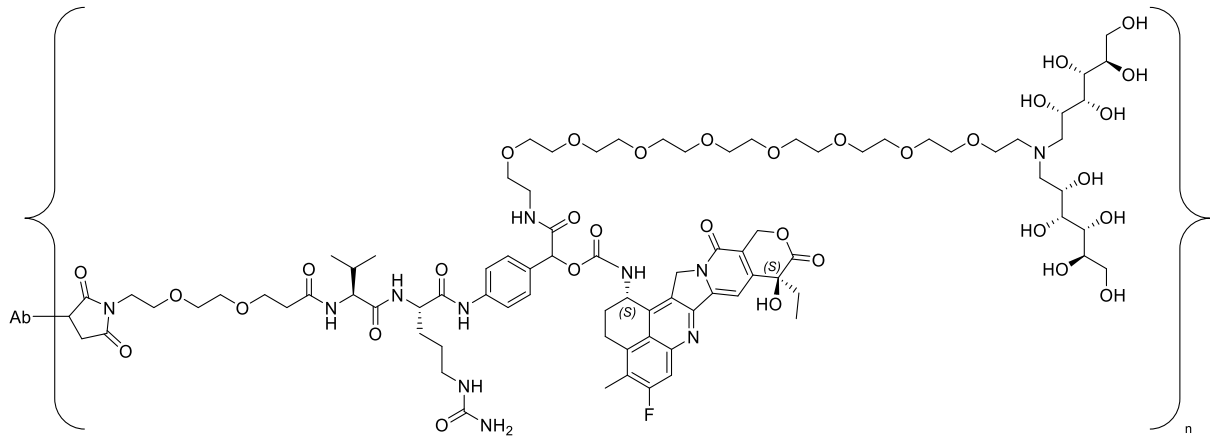


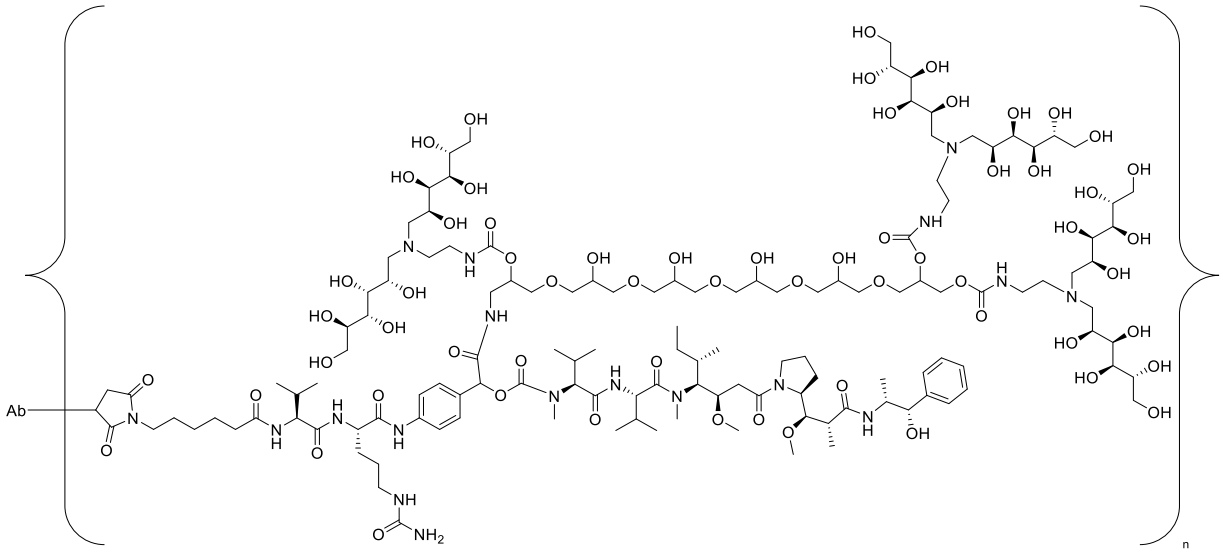


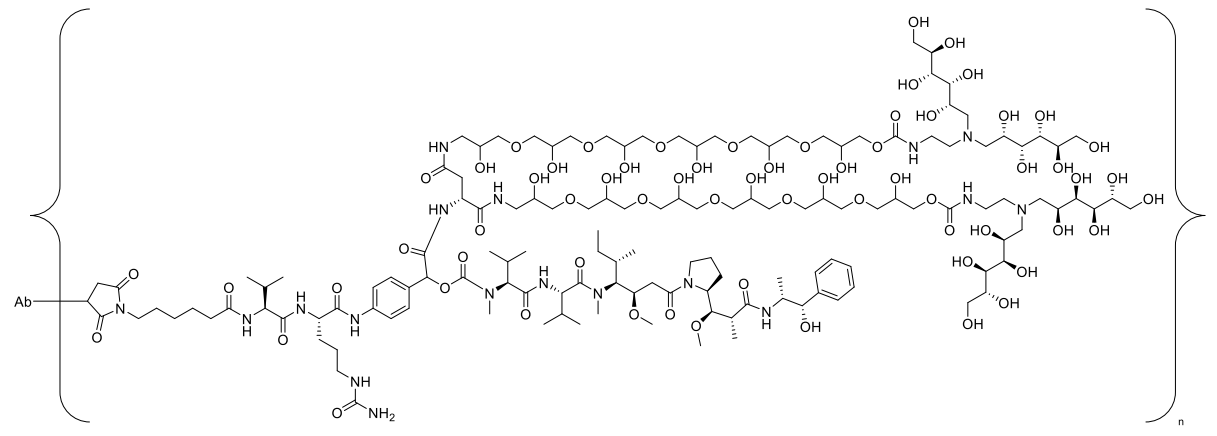


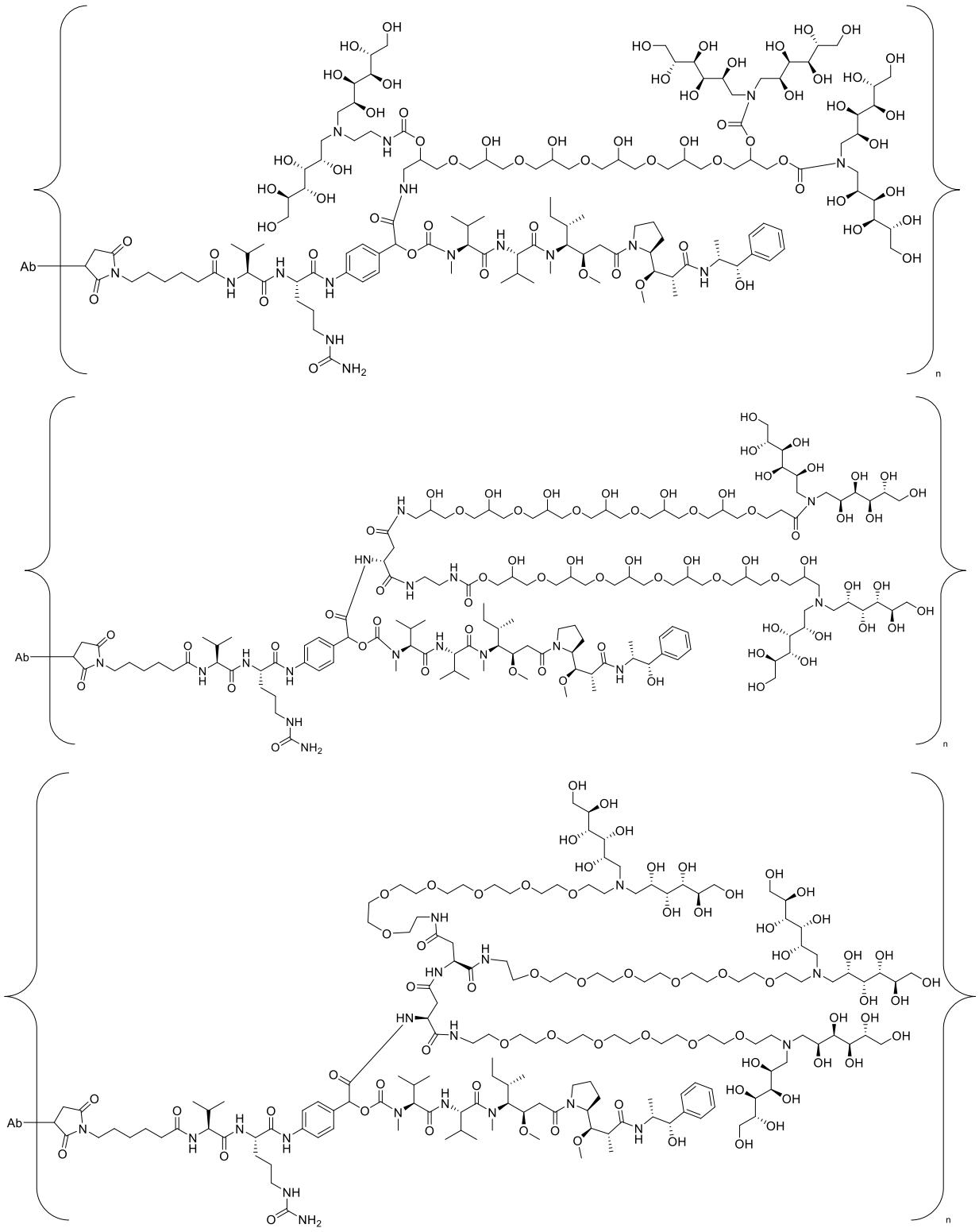


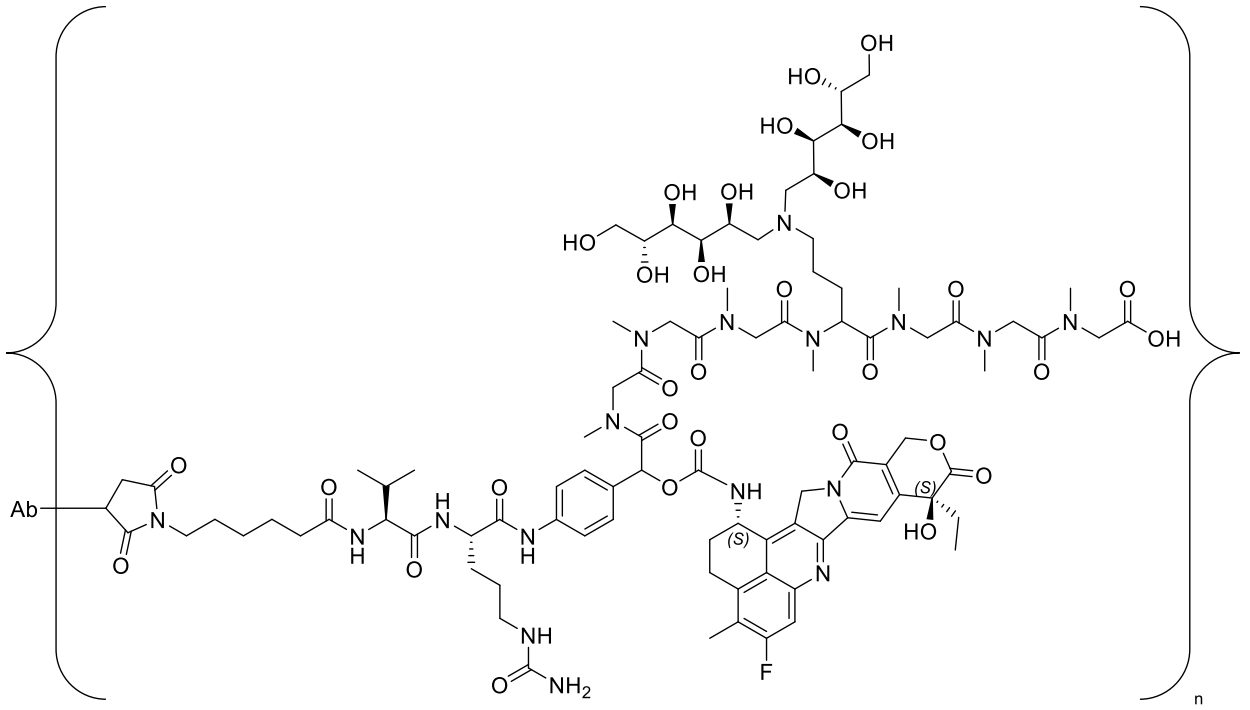


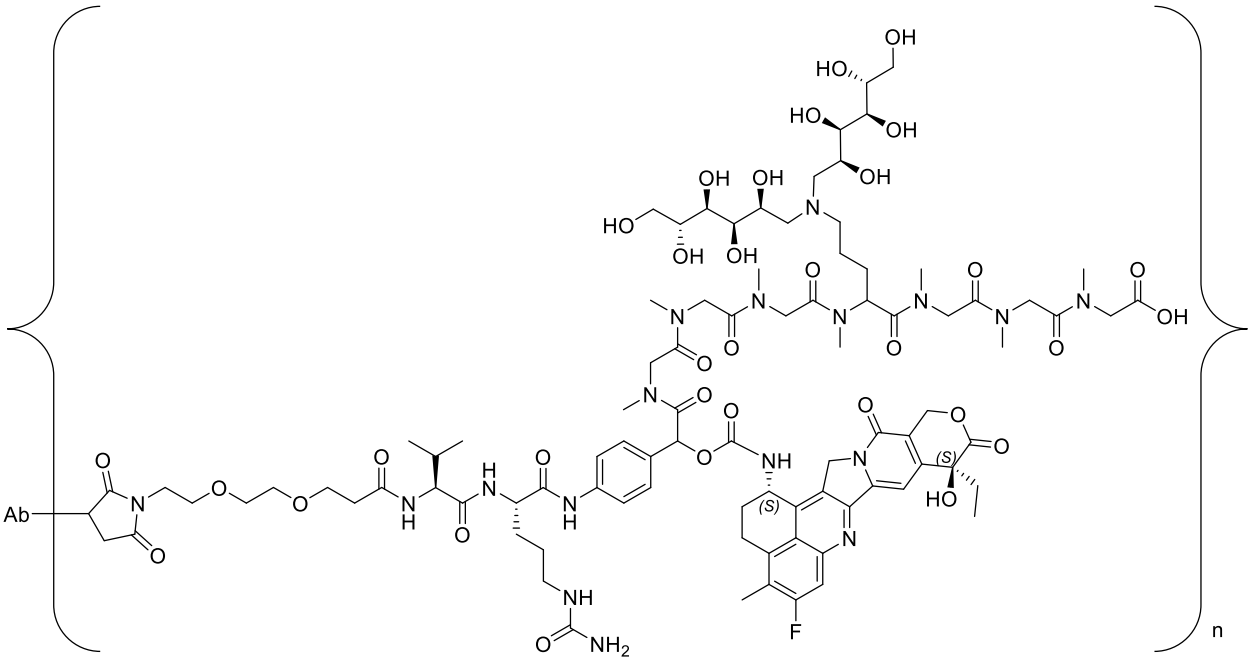


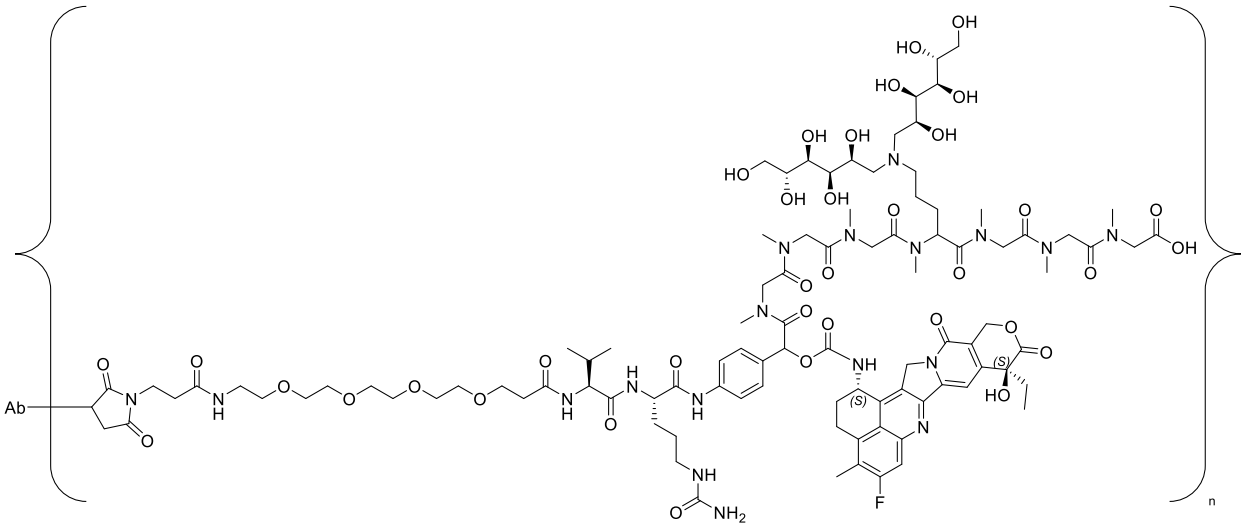


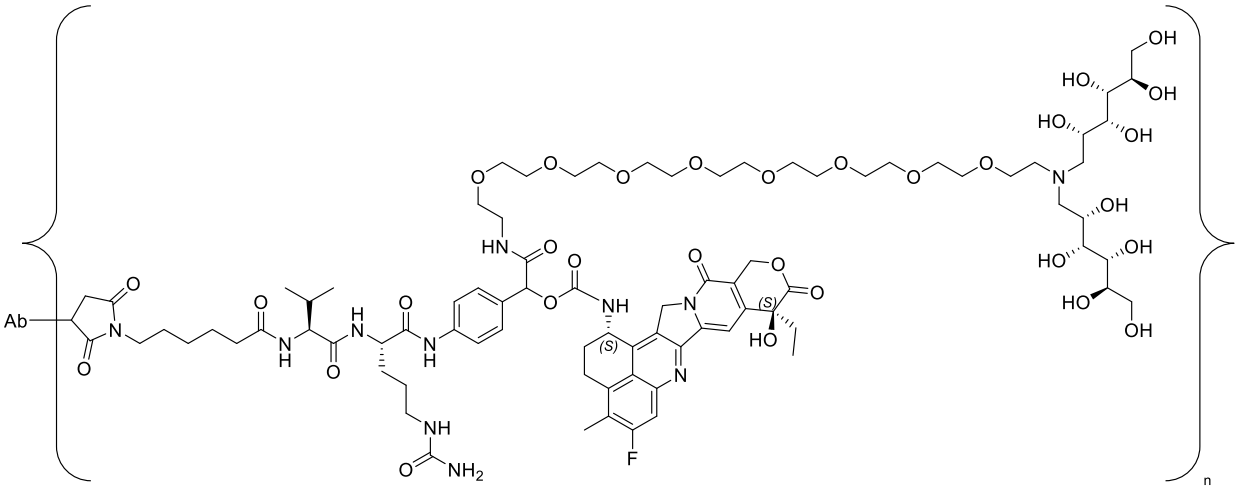


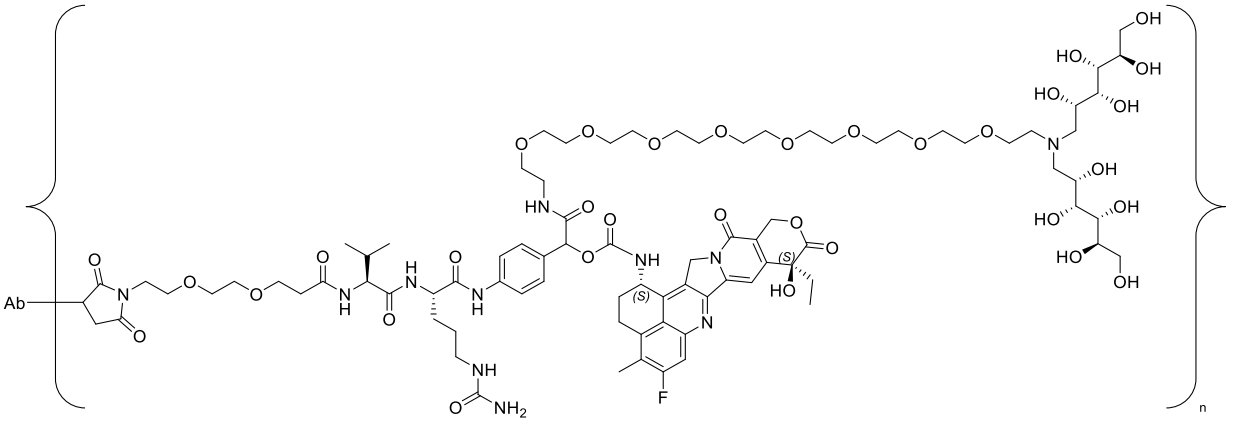


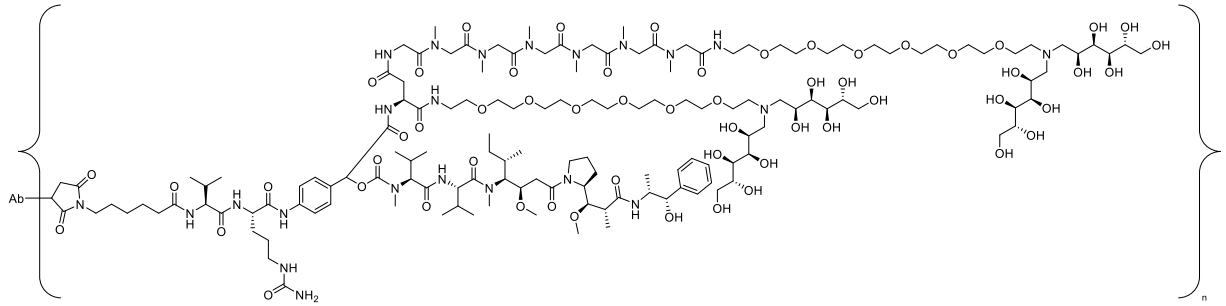


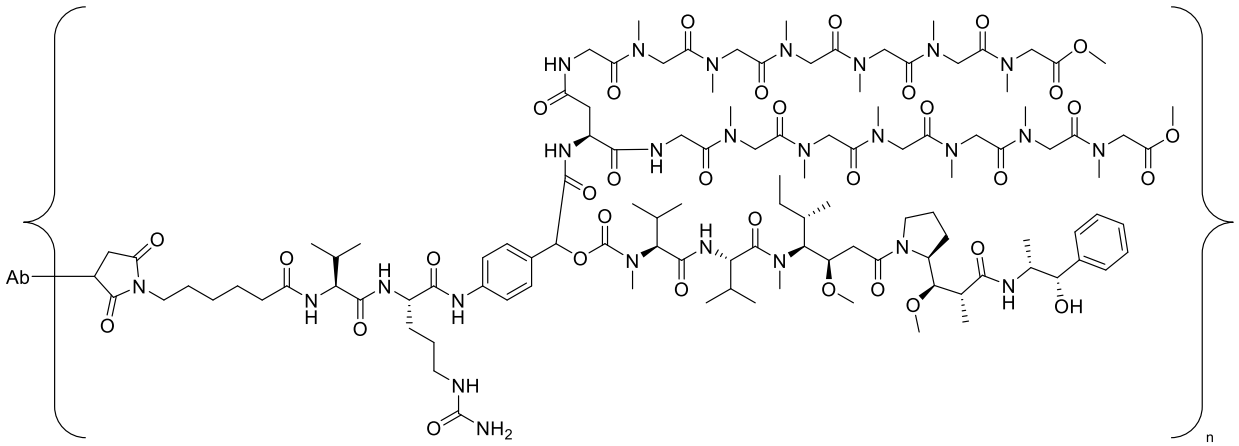


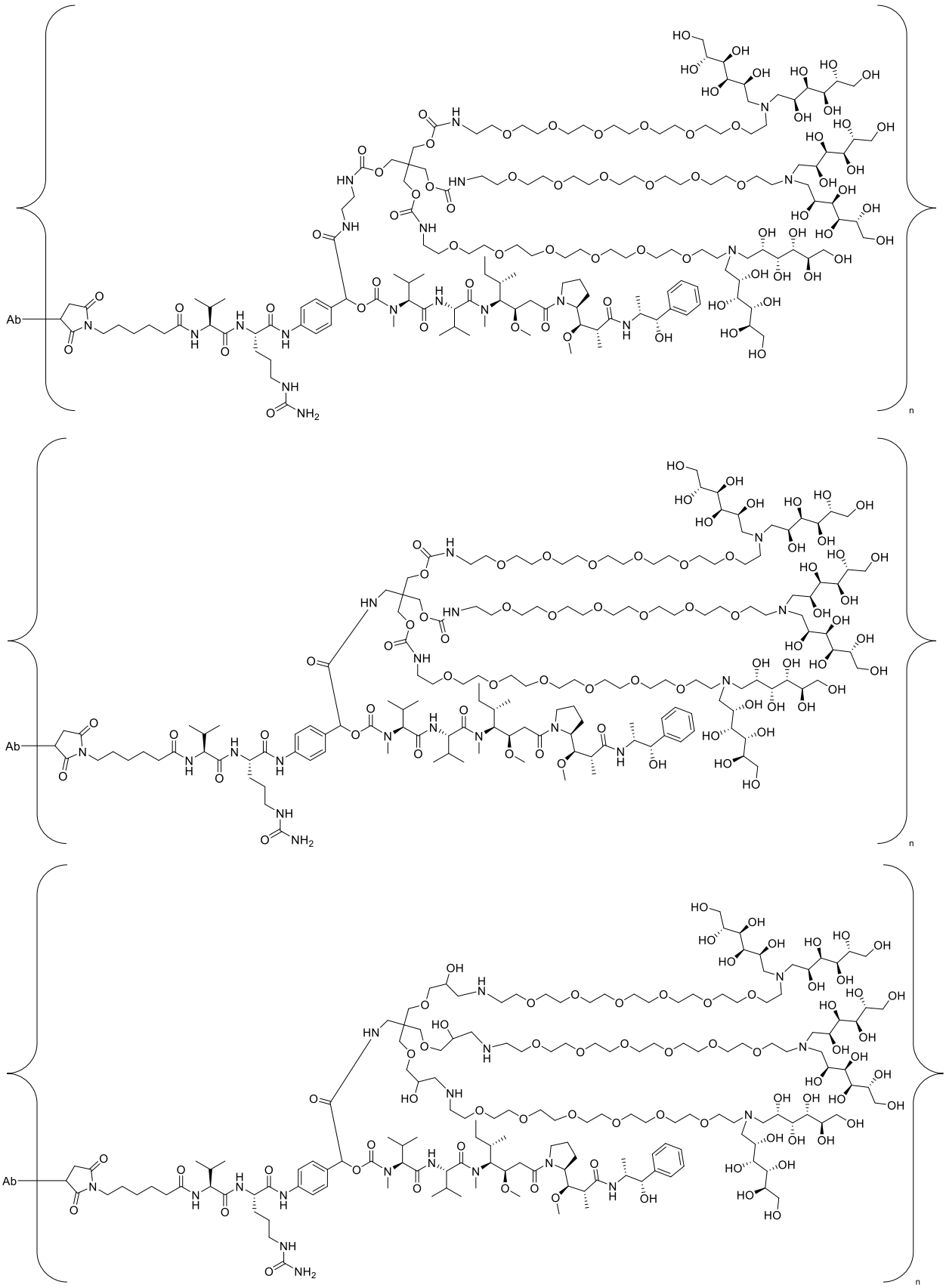


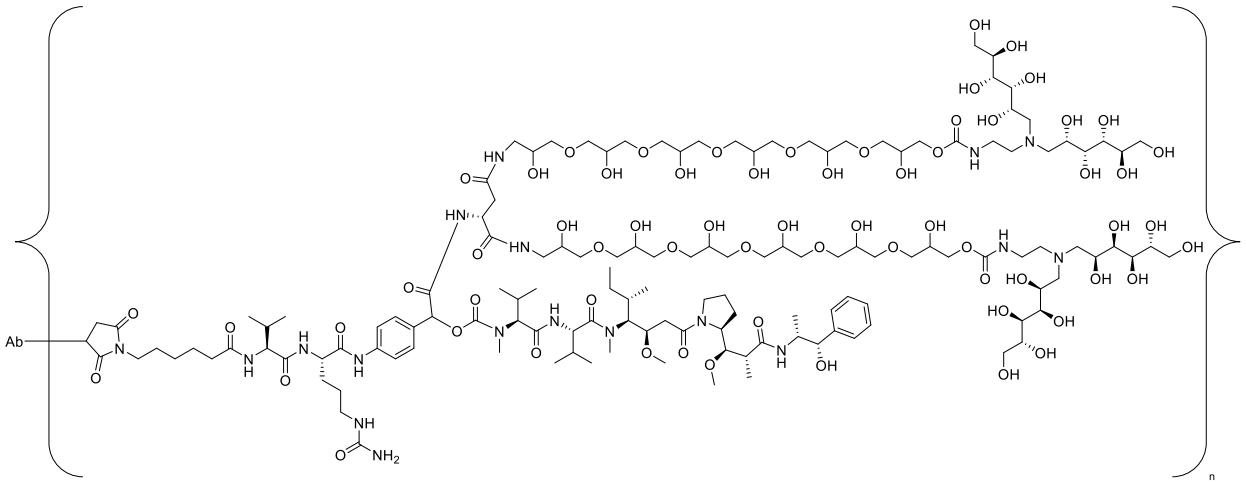


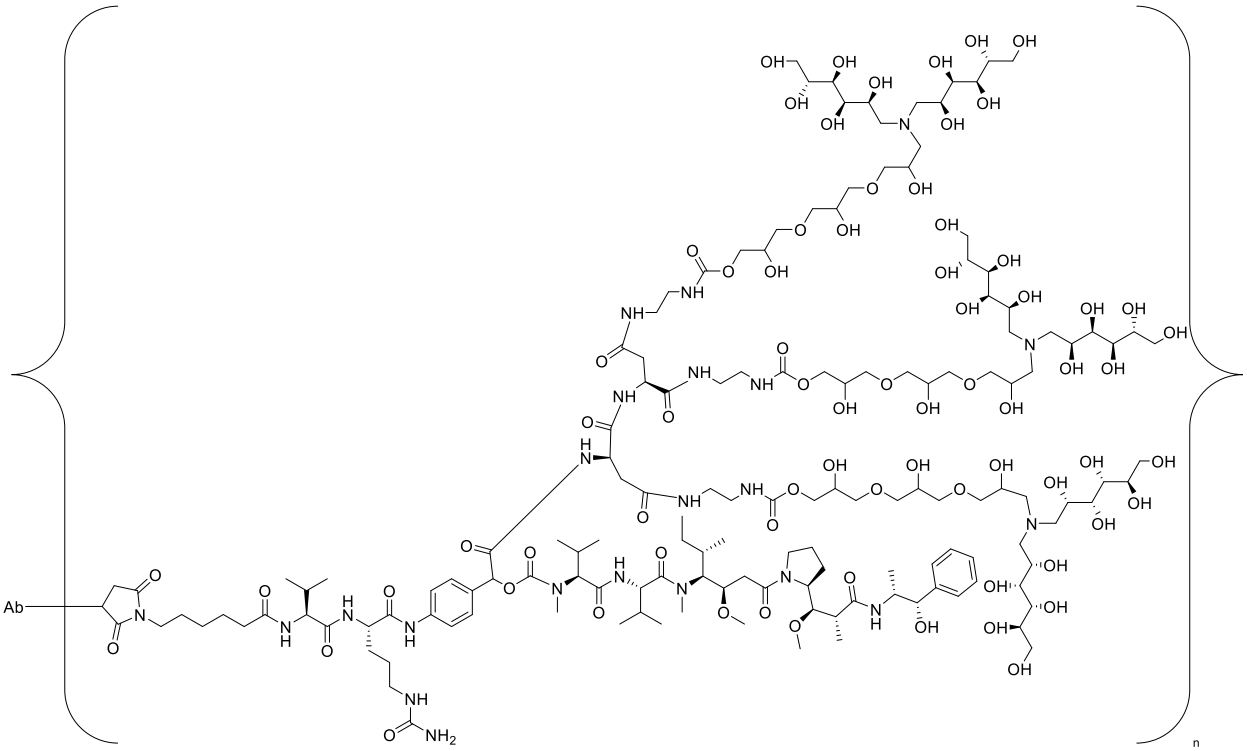


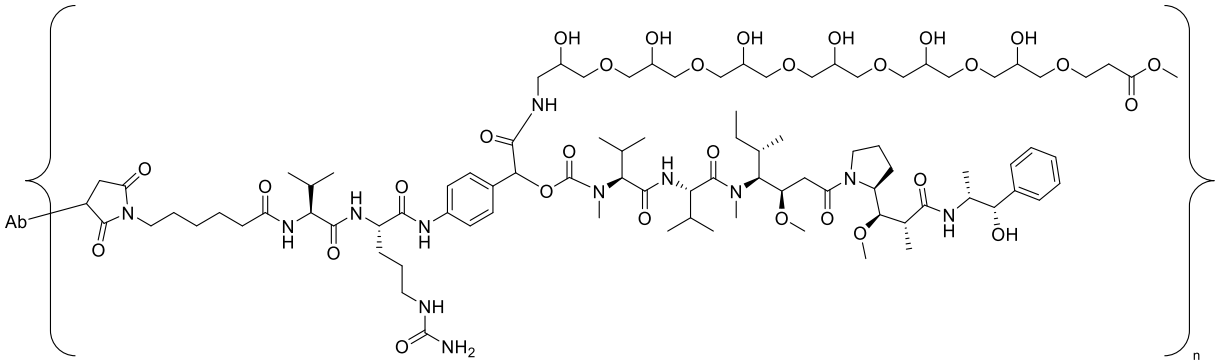


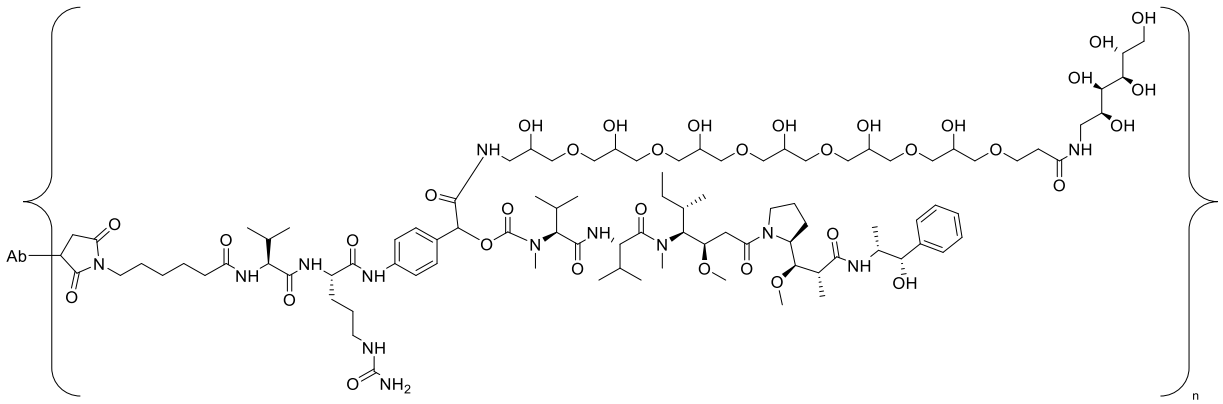


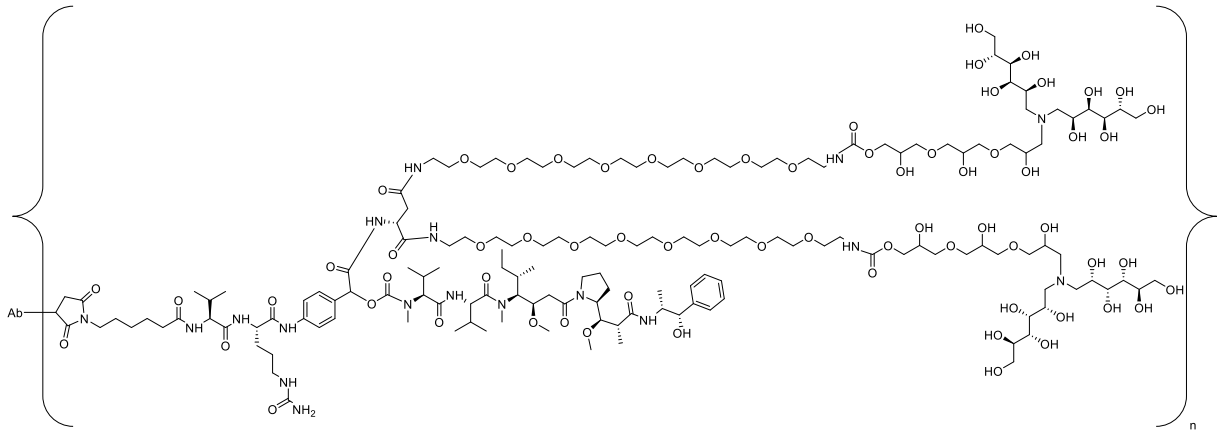


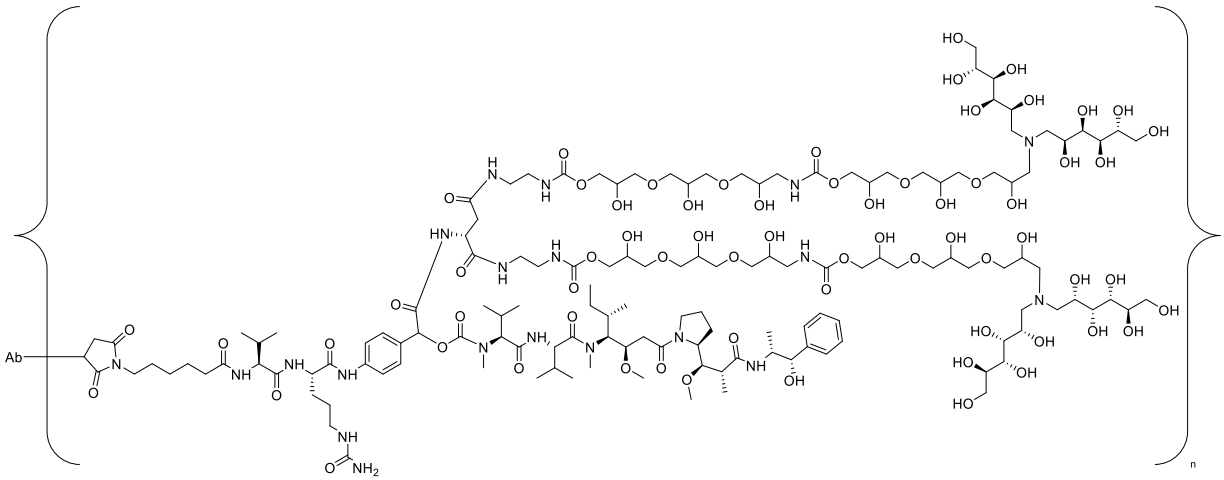


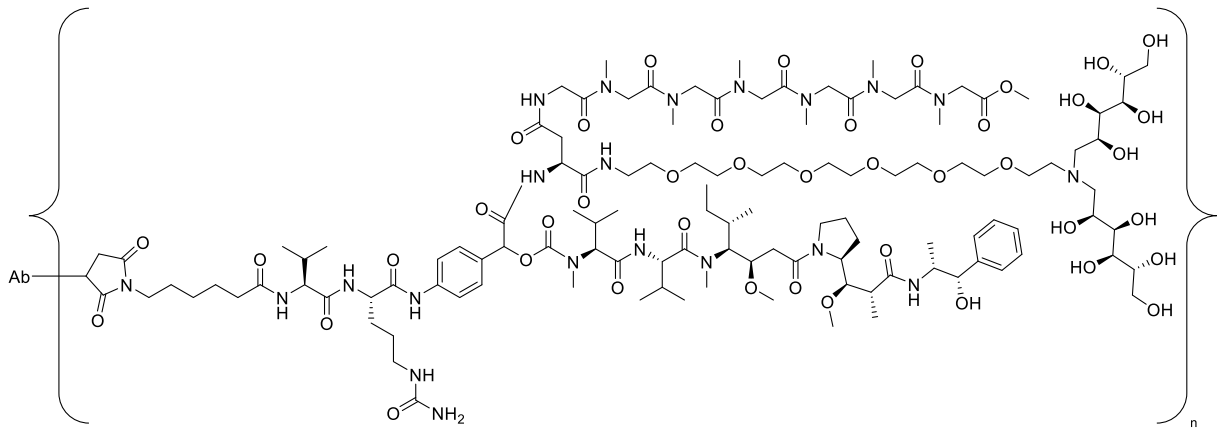


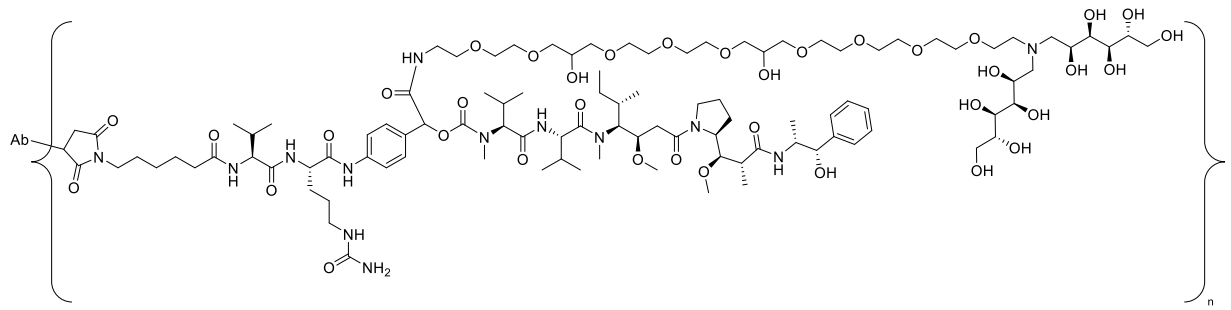


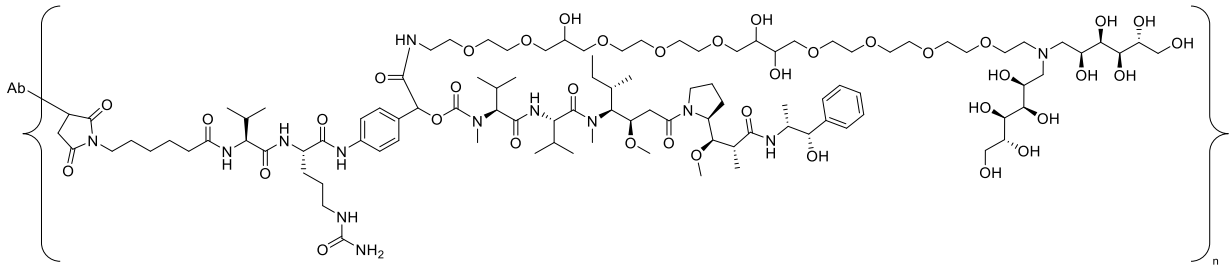


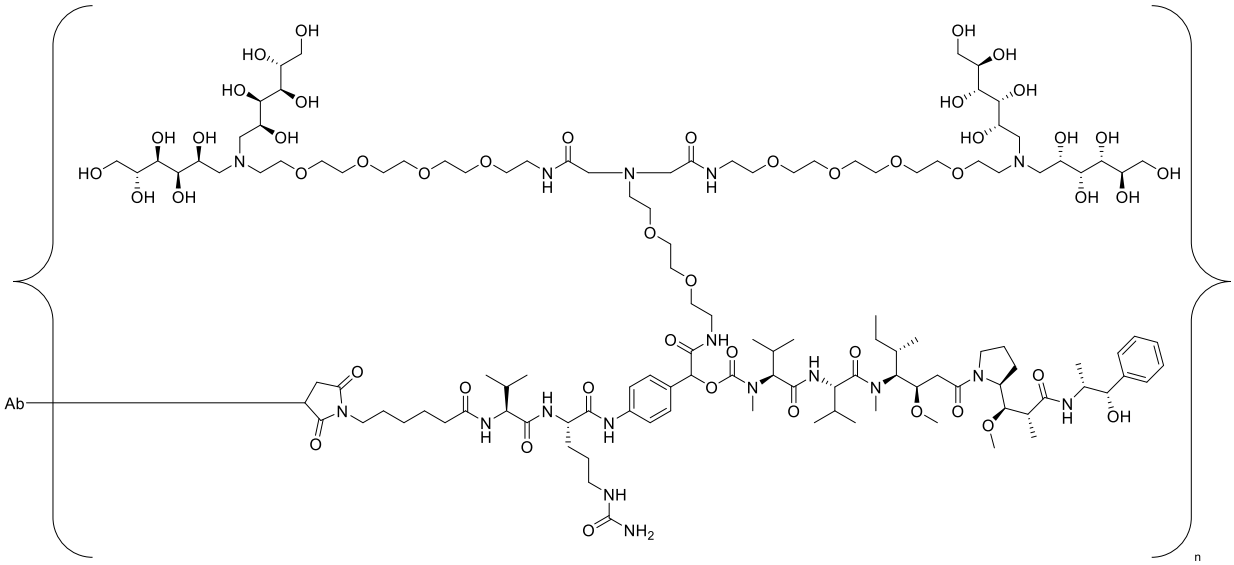


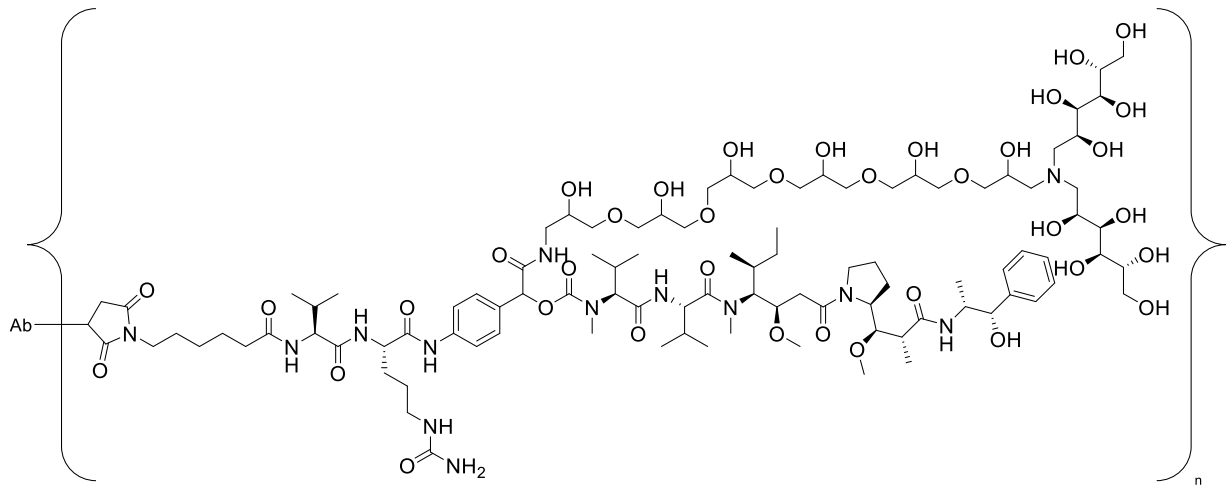


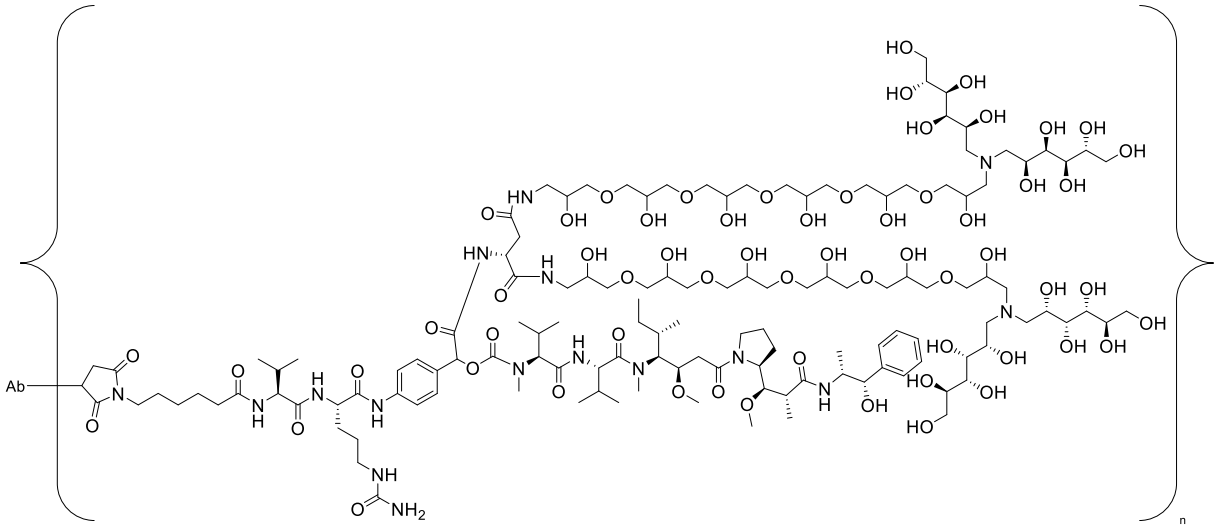


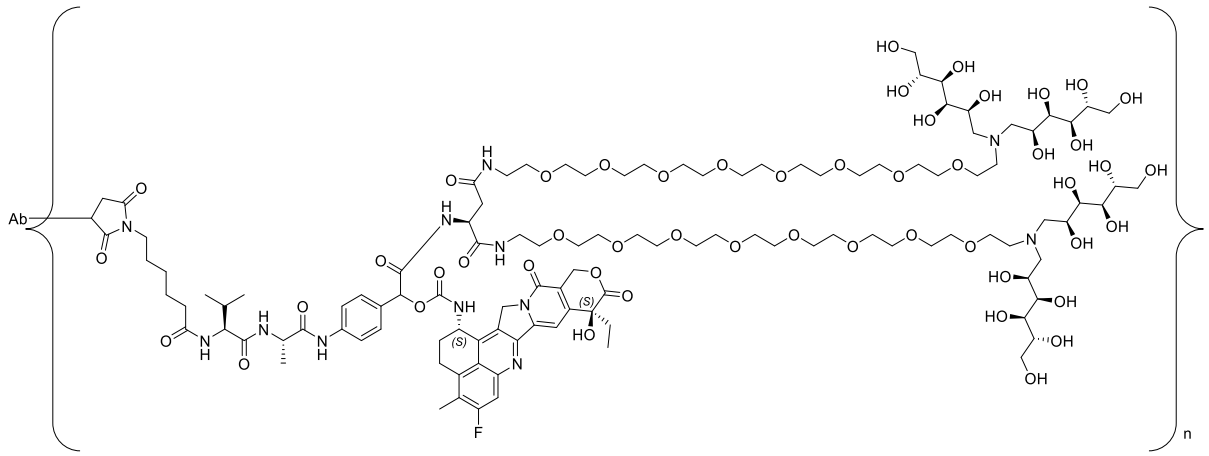




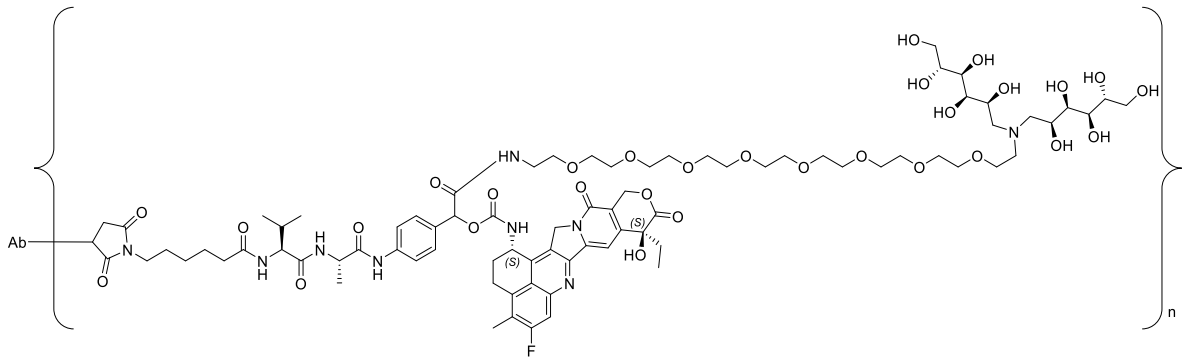




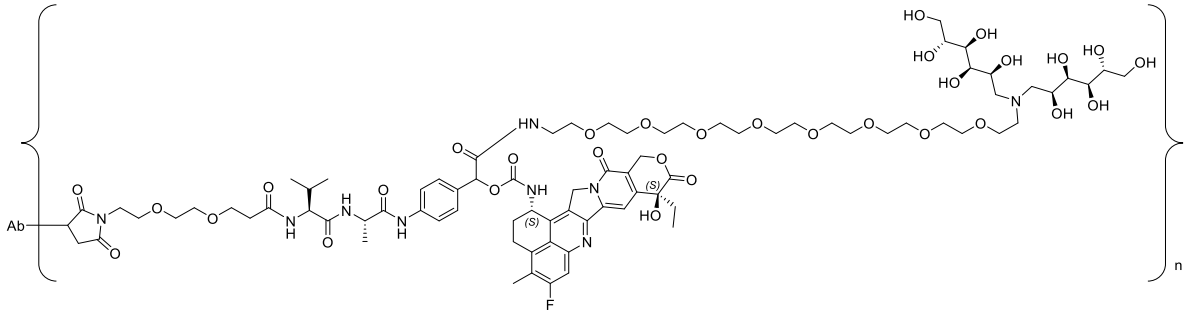




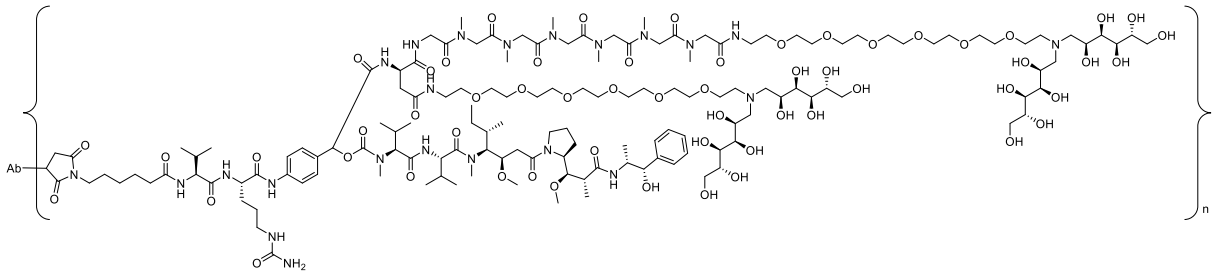
,



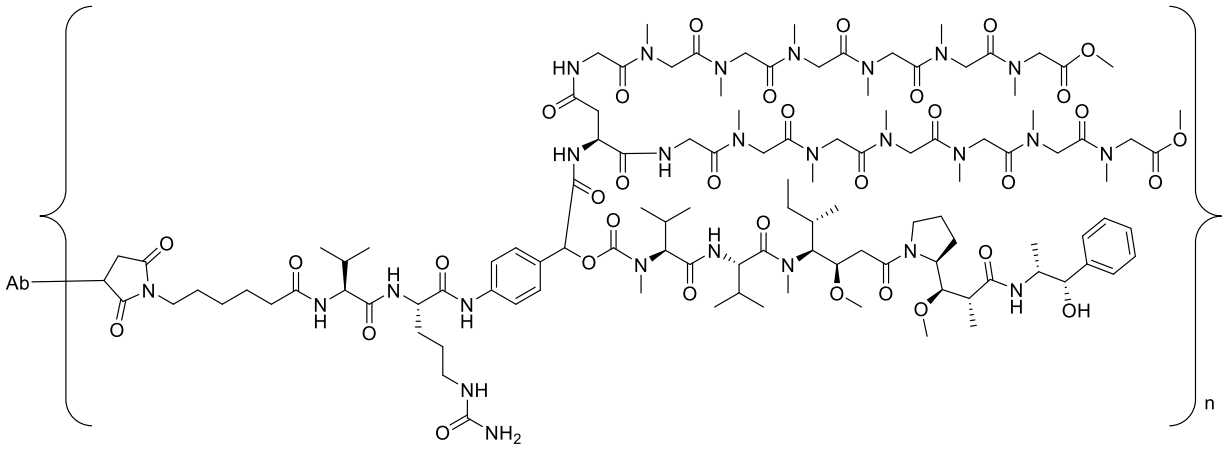
,



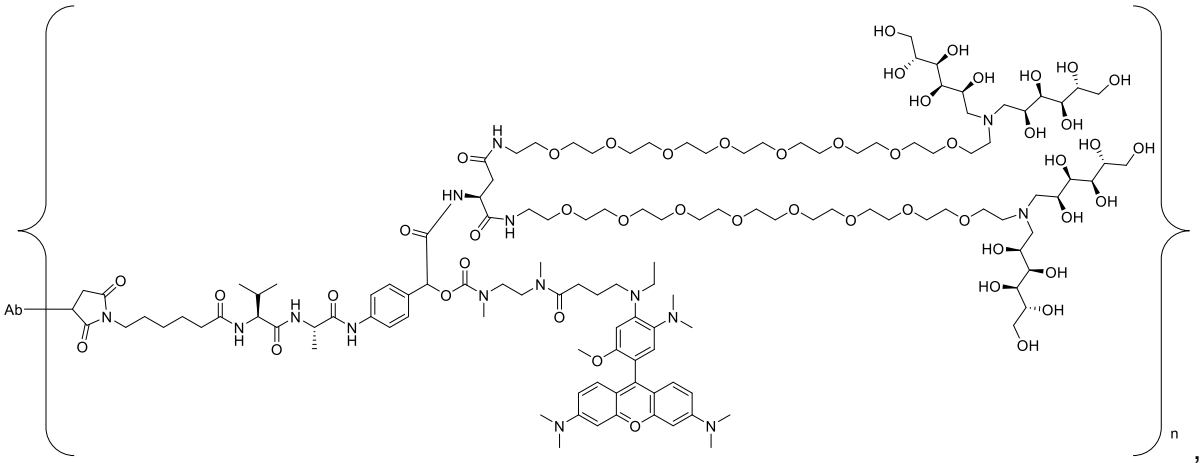
,



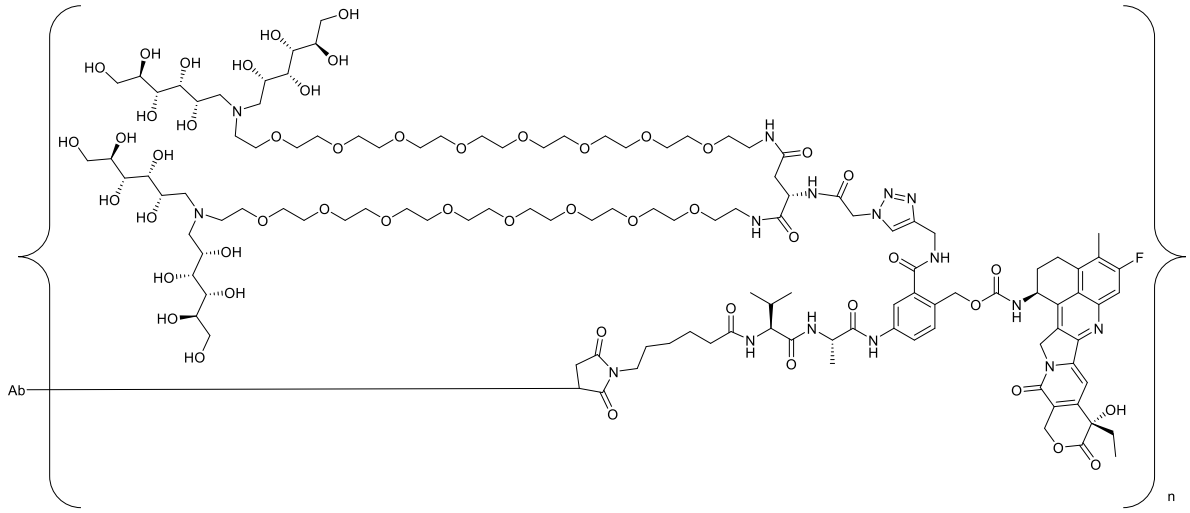
,



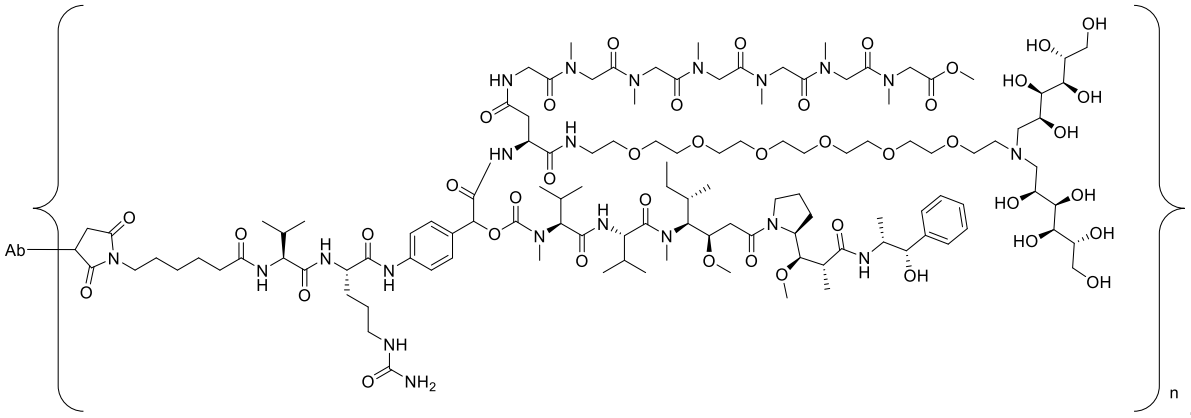
,



,



,



donde Ab es un grupo de direccionamiento y n es el p^{carga}.

[291] En algunas formas de realización, el conjugado es un estereoisómero de una de las estructuras anteriores.

[292] En algunas formas de realización, se proveen los conjugados descritos anteriormente, donde el grupo de direccionamiento se une específicamente a una molécula diana. En otras formas de realización más específicas, la molécula diana es CD19, CD20, CD30, CD33, CD70, LIV-1 o EGFRv3. En otras formas de realización más específicas, la molécula diana es CD19, CD20, CD30, CD33, CD70, LIV-1 EGFRv3, o HER2. Por ejemplo, en algunas formas de realización el grupo de direccionamiento se selecciona entre: un scFv1-ScFv2, un ScFv12-Fc-scFv22, un IgG-scFv, un DVD-Ig, un triomab/quadroma, una IgG dos-en-uno, un scFv2-Fc, un TandAb, y un scFv-HSA-scFv.

[293] En otras formas de realización, se proveen los conjugados descritos anteriormente donde la molécula diana es un antígeno asociado al cáncer. Por ejemplo, en algunas formas de realización la molécula diana es CD19, CD20, CD30, CD33, CD38, CA125, HER2, MUC-1, antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA), molécula de adhesión a la superficie celular CD44, mesotelina (MLSN), antígeno carcinoembrionario (CEA), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), EGFRvIII, receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2), antígeno asociado al melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), MAGE-A1, IL-13R-a2, GD2, 1p19q, ABL1, AKT1, ALK, APC, AR, ATM, BRAF, BRCA1, BRCA2, cKIT, cMET, CSF1R, CTNNB1, FGFR1, FGFR2, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, KDR (VEGFR2), KRAS, MGMT, MGMT-Me, MLH1, MPL, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, Pgp, PIK3CA, PR, PTEN, RET, RRM1, SMO, SPARC, TLE3, TOP2A, TOPO1, TP53, TS, TUBB3, VHL, CDH1, ERBB4, FBXW7, HNF1A, JAK3, NPM1, PTPN11, RB1, SMAD4, SMARCB1, STK1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, ROS1, ERCC1, 5T4 (TPBG), B7-H3, CCR7, CD105, CD22, CD46, CD47, CD56, CD70, CD71, CD79b, CDH6, CLDN6, CLDN18,2, CLEC12A, DLL3, DR5, ERBB3 (HER3), EPCAM, FOLR1, IGF1R, IL2RA (CD25), IL3RA, ITGB6, LIV-1, LRRC15, mesotelina (MSLN), NaPi2b (SLC34A2), nectina-4, PTK7, ROR1, SEZ6, SLC44A4, SLITRK6, Factor Tisular (TF), TROP2 o B7-H4.

[294] En otras formas de realización, se proveen los conjugados descritos anteriormente donde el grupo de direccionamiento es un anticuerpo, o un fragmento del mismo, que

comprende rituximab (Rituxan®), trastuzumab (Herceptin®), pertuzumab (Perjeta®)), bevacizumab (Avastin®), ranibizumab (Lucentis®), cetuximab (Erbitux®), alemtuzumab (Campath®), panitumumab. (Vectibix®), ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), tositumomab (Bexxar®), ipilimumab, zalutumumab, dalotuzumab, figitumumab, ramucirumab, galiximab, farletuzumab, ocrelizumab, ofatumumab (Arzerra®), tositumumab, ibritumomab, los anticuerpos CD20 2F2 (HuMax-CD20), 7D8, IgM2C6, IgG1 2C6, 11B8, B1, 2H7, LT20, 1FS o AT80, daclizumab (Zenapax®), o anticuerpos anti-receptor de LHRH incluyendo clones A9E4, F1G4, AT2G7, GNRH03, o GNRHR2.

Carga de fármaco

[295] Los conjugados pueden contener una o más unidades de fármaco por grupo de direccionamiento. El número de unidades de fármaco por grupo de direccionamiento se conoce como carga de fármaco. La carga de fármaco de un conjugado está representada por p^{carga}, el número promedio de unidades de fármaco (moléculas de fármaco (por ejemplo, agentes citotóxicos)) por cada grupo de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno o andamiaje que no es de anticuerpo o proteína no anticuerpo) en un conjugado. Por ejemplo, si la p^{carga} es aproximadamente 4, la carga promedio del fármaco teniendo en cuenta todos los grupos de direccionamiento (por ejemplo, anticuerpos o una porción de unión a antígeno o andamiaje que no es de anticuerpo o proteína no anticuerpo) presente en la composición es aproximadamente 4. En algunas formas de realización, la p^{carga} se encuentra dentro del rango entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5, entre aproximadamente 3,6 y aproximadamente 4,4, o entre aproximadamente 3,8 y aproximadamente 4,2. En algunas formas de realización, el p^{carga} puede ser aproximadamente 3, aproximadamente 4, o aproximadamente 5. En algunas formas de realización, el p^{carga} se encuentra dentro del rango entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, más preferiblemente entre aproximadamente 7,5 y aproximadamente 8,4. En algunas formas de realización, la carga puede ser aproximadamente 6, aproximadamente 7, o aproximadamente 8. En algunas formas de realización, la carga se encuentra dentro del rango entre aproximadamente 8 y aproximadamente 16.

[296] El número promedio de unidades de fármaco por grupo de direccionamiento (por ejemplo, de anticuerpo o porción de unión a antígeno o andamiaje que no es de anticuerpo) en una preparación se puede caracterizar empleando medios convencionales, tales como espectroscopia UV, espectroscopia de masas, electroforesis capilar (CE) y HPLC. También se podrá determina la distribución cuantitativa de conjugados en términos de p^{carga}. En algunos casos, se puede lograr la separación, purificación y caracterización de conjugados homogéneos en los cuales el p^{carga} tiene un determinado valor, respecto de conjugados con otras cargas de fármaco, empleando HPLC de fase reversa o cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC).

Unión de Fármaco-conectores a Anticuerpos, porciones de unión a antígeno y Otros agentes

de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)

[297] Las técnicas para unir la(s) Unidad(es) de fármaco(s) a grupos de direccionamiento (tales como anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos o andamiajes que no son anticuerpos) mediante conectores son bien conocidas en el arte. Véase, por ejemplo, Alley et al., Current Opinion in Chemical Biology 2010 14:1-9; Senter, Cancer J., 2008, 14(3):154-169. En algunas formas de realización, primero se une un conector a una unidad de fármaco (por ejemplo, uno o más agentes citotóxicos, agentes inmunomoduladores u otros agentes) y luego se une el fármaco-conector al grupo de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o andamiaje de proteína no anticuerpo). En algunas formas de realización, primero se conecta(n) uno o más conectores a un grupo de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o andamiaje de proteína no anticuerpo), y luego se conecta una unidad de fármaco a un conector. En las siguiente exposición, el término Fármaco-conector se utiliza para ejemplificar la unión de los Conectores o conjugados Fármaco-conector a los grupos de direccionamiento; los especialistas podrán apreciar que el método de unión que se seleccione se puede determinar dependiendo del Conector y la unidad de fármaco. En algunas formas de realización, una unidad de fármaco se une a un grupo de direccionamiento mediante un conector de una manera que reduce la actividad de la unidad de fármaco hasta que se libera del conjugado (por ejemplo, mediante hidrólisis, mediante degradación proteolítica o mediante un agente de escisión).

[298] Por lo general, un conjugado se puede preparar siguiendo varias rutas, mediante el empleo de reacciones, condiciones y reactivos de química orgánica conocidos por los especialistas en el arte, que incluyen: (1) reacción de un grupo nucleofílico de un grupo de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo o andamiaje de proteína no anticuerpo) con un conector bivalente para formar un grupo de direccionamiento-Conector intermediario mediante un enlace covalente, seguido de la reacción con una unidad de fármaco; y (2) reacción de un grupo nucleofílico de una unidad de fármaco con un conector bivalente, para formar un Fármaco-conector, mediante un enlace covalente, seguido de la reacción con un grupo nucleofílico de un grupo de direccionamiento. Algunos ejemplos de métodos para preparar conjugados mediante la última ruta se describen en la patente US Nº 7.498.298, que se incorpora expresamente a la presente como referencia.

[299] Los grupos nucleofílicos en los grupos de direccionamiento tales como anticuerpos, porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) incluyen, pero de manera no taxativa: (i) grupos amina N-terminal, (ii) grupos amina de cadenas laterales, por ejemplo lisina, (iii) grupos tiol de cadenas laterales, por ejemplo cisteína, y (iv) hidroxilo de sacárido o grupos de aminoácidos donde el anticuerpo esté glicosilado. Los grupos amina, tiol e hidroxilo son nucleofílicos y capaces de reaccionar para formar enlaces covalentes con grupos electrofílicos en los conectores que incluyen: (i) ésteres

activos tales como los ésteres de NHS, ésteres de HOBt, haloformiatos y haluros de ácido; (ii) haluros de alquilo y bencilo tales como las haloacetamidas; y (iii) grupos aldehído, cetona, carboxilo y maleimida. Ciertos grupos de direccionamiento, tales como los anticuerpos (y porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) tienen disulfuros intercatenarios que pueden ser reducidos, es decir, puentes de cisteína. Los anticuerpos (y porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) se pueden hacer reactivos para la conjugación con los conectores mediante tratamientos con un agente reductor tal como DTT (ditiotreitol) o tricarboniletilfosfina (TCEP), de modo que el anticuerpo se reduzca total o parcialmente. Por lo tanto, teóricamente, cada puente de cisteína formará dos tioles nucleofílicos reactivos. En los grupos de direccionamiento se pueden introducir grupos nucleofílicos adicionales, tales como anticuerpos (y porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) mediante la modificación de residuos de lisina, por ejemplo, haciendo reaccionar residuos de lisina con 2-iminotiolano (reactivo de Traut), para obtener como resultado la conversión de una amina en un tiol. En un grupo de direccionamiento (tal como un anticuerpo y porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) también se pueden introducir grupos tiol reactivos introduciendo uno, dos, tres, cuatro, o más residuos de cisteína (por ejemplo, preparando anticuerpos, porciones de unión a antígeno y otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) que comprenden uno o más residuos de cisteína no nativos de los aminoácidos).

[300] Los conjugados también se pueden producir por reacción entre un grupo electrofílico de un grupo de direccionamiento, tal como un grupo aldehído o cetona [o] carbonilo, con un grupo nucleofílico de un conector reactivo. Los grupos nucleofílicos útiles en un conector reactivo incluyen, pero de manera no taxativa, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiosemicarbazona, hidrazina carboxilo y arilhidrazida. En una forma de realización, un anticuerpo (o una porción de unión a antígeno del mismo u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) se modifica de manera de introducir unidades electrofílicas que son capaces de reaccionar con los sustituyentes nucleofílicos de un conector. En otra forma de realización, los sacáridoes de los anticuerpos glicosilados se pueden oxidar, por ejemplo con reactivos oxidantes como el peryodato, para formar grupos aldehído o cetona que pueden reaccionar con el grupo amina de un conector. Los grupos imina (bases de Schiff) resultantes pueden formar un enlace estable o pueden ser reducidos, por ejemplo, mediante reactivos de borohidruro para formar conexiones amina estables. En una forma de realización, la reacción de la porción de carbohidrato de un anticuerpo glicosilado con la galactosa oxidasa o con meta-peryodato de sodio puede producir grupos carbonilo (aldehído y cetona) en el anticuerpo (o una porción de unión a antígeno del mismo u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) que pueden reaccionar con grupos apropiados del conector (Véase, por ejemplo,

Hermanson, Bioconjugate Techniques). En otra forma de realización, unos grupos de direccionamiento tales como los anticuerpos que contienen residuos de serina o treonina N-terminales pueden reaccionar con meta-peryodato de sodio, para dar como resultado la producción de un aldehído en lugar del primer aminoácido (Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem., 3:138-146; US 5362852). Dicho aldehído puede reaccionar con un conector.

[301] Algunos ejemplos de grupos nucleofílicos en una unidad de fármaco, como por ejemplo un agente citotóxico, incluyen, pero de manera no taxativa: grupos amina, tiol, hidroxilo, hidrazida, oxima, hidrazina, tiosemicarbazona, hidrazina carboxilo, y arilhidrazida capaces de reaccionar para formar enlaces covalentes con grupos electrofílicos en uno o más conectores que incluyen:(i) ésteres activos tales como ésteres de NHS, ésteres de HOBt, haloformiatos y haluros de ácido; (ii) haluros de alquilo y bencilo tales como haloacetamidas; (iii) grupos aldehídos, cetonas, carboxilo y maleimida.

[302] En algunas formas de realización, un Fármaco-conector se une a uno o más residuos de cisteína intercadenas de un anticuerpo (o una porción de unión a antígeno del mismo u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)). Véanse, por ejemplo, WO2004/010957 y WO2005/081711. En dichas formas de realización, el conector comprende específicamente un grupo maleimida para unirse a los disulfuros de los residuos de cisteína intercadenas. En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector se une a uno o más residuos de cisteína de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo según se describe en las Patentes US Nº 7.585.491 u 8,080m250 [Sic.]. Típicamente, la carga de fármaco del conjugado resultante se encuentra dentro del rango entre 1 y 8 o entre 1 y 16.

[303] En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector se une a uno o más residuos de lisina o cisteína de un anticuerpo (o una porción de unión a antígeno del mismo u otro agente de unión) según se describe en WO2005/037992 o WO2010/141566. Típicamente, la carga de fármaco del conjugado resultante se encuentra dentro del rango entre 1 y 8.

[304] En algunas formas de realización, para la unión específica con respecto al sitio de conectores o fármaco-conector a anticuerpos o porciones de unión a antígeno de los mismos u otros agentes de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) se pueden utilizar residuos de cisteína modificados, secuencias de poli-histidina, marcas de glicoingeniería o secuencias de reconocimiento de transglutaminasa.

[305] En algunas formas de realización, se unen uno o más fármaco-conectores a un residuo de cisteína modificado en un residuo de Fc distinto de un disulfuro intercadenas. En algunas formas de realización, se unen uno o más fármaco-conectores a una modificación de una cisteína introducida en una IgG (típicamente una IgG1) en la posición 118, 221, 224, 227, 228, 230, 231, 223, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 249, 250, 258, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 275, 276, 278, 280, 281, 283, 285, 286, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 302, 305, 313, 318, 323, 324, 325, 327,

328, 329, 330, 331, 332, 333, 335, 336, 396, y/o 428, de la cadena pesada y/o a una cadena liviana en la posición 106, 108, 142 (cadena liviana), 149 (cadena liviana), y/o a la posición V205, de acuerdo con la numeración de la UE de Kabat. Un ejemplo de sustitución para la conjugación específica respecto del sitio usando una modificación de cisteína es S239C (Véase, por ejemplo, US 20100158909; la numeración de la región Fc es acorde al índice de la UE).

[306] En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector(es) se une a uno o más residuos de cisteína introducidos en un anticuerpo (o una porción de unión a antígeno del mismo u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)) según se describe en WO2006/034488, WO2011/156328 y/o WO2016040856.

[307] En algunas formas de realización, un ejemplo de sustitución para conjugación específica con respecto al sitio usando transglutaminasa bacteriana es N297S o N297Q de la región Fc. En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector(es) se une al glicano o glicano modificado de un anticuerpo o una porción de unión a antígeno o un anticuerpo de glicoingeniería (u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos)). Véanse, por ejemplo, WO2017/147542, WO2020/123425, WO2020/245229, WO2014/072482; WO2014//065661, WO2015/057066 y WO2016/022027; cuyas divulgaciones se incorporan a la presente como referencia.

[308] En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector se une a un anticuerpo, porción de unión a antígeno u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) mediante un conector Sortase A. Un conector Sortase A puede ser creado por una enzima Sortase A fusionando un motivo de reconocimiento LPXTG (SEQ ID Nº: 5) a un motivo GGG N-terminal para regenerar un enlace amida nativo.

[309] En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector se une a un anticuerpo, porción de unión a antígeno u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) usando Tecnología SMARTag, en la cual se introduce un mango de aldehído bioortogonal mediante la oxidación de un residuo de cisteína, incrustado en una secuencia de péptidos específica (CxPxR), en una formilglicina portadora de aldehído (fGly). Esta modificación enzimática la lleva a cabo la enzima generadora de formilglicina (FGE). Véase, por ejemplo, Liu et al.,).

[310] En algunas formas de realización, un conector o fármaco-conector se une a un anticuerpo, porción de unión a antígeno u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) usando conjugación de cisteína con reactivos de vinil- y alquilnil-piridina cuaternizados. Véase, por ejemplo, .

[311] En otras formas de realización, un conector o fármaco-conector se une a un anticuerpo, porción de unión a antígeno u otro agente de unión (incluyendo a los andamiajes que no son anticuerpos) usando metodologías de bis-maleimida, C-lock o K-lock.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

[312] Otros aspectos de los conjugados se relacionan con composiciones que comprenden ingredientes activos, que incluyen cualquiera de los conjugados que se describen en la presente. En algunas formas de realización, la composición es una composición farmacéutica. Tal como se usa en la presente, el término "composición farmacéutica" se refiere a un agente activo en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para usar en la industria farmacéutica. En la presente, la frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea para hacer referencia a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son apropiados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin una toxicidad, una irritación o una respuesta alérgica excesiva, y sin otros problemas o complicaciones, de acuerdo con una relación de beneficio/riesgo razonable..

[313] La preparación de una composición farmacológica que contiene ingredientes activos disueltos o dispersos en la misma es bien comprendida en el arte y no necesita ser limitada en base a ninguna formulación en particular. Típicamente, dichas composiciones se preparan como inyectables, ya sea como soluciones líquidas o suspensiones; sin embargo, también se pueden preparar formas sólidas adecuadas para la rehidratación, o suspensiones, en líquidos, antes de su uso. Una preparación también se puede emulsionar o presentar como una composición de liposomas. Se puede mezclar un conjugado con excipientes que sean farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo y en cantidades adecuadas para usar en los métodos terapéuticos descritos en la presente. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol u otros similares y combinaciones de los mismos. Además, si se desea, una composición farmacéutica puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes amortiguadores del pH y otros similares que mejoran o mantienen la eficacia del ingrediente activo (por ejemplo, un conjugado).

[314] Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden incluir sales farmacéuticamente aceptables de los componentes. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido (formada con los grupos aminoácidos libres de un polipéptido) que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como los ácidos acético, tartárico, mandélico y otros similares. También se pueden derivar sales formadas con los grupos carboxilo libres con bases inorgánicas tales como, por ejemplo, sodio, potasio, amonio, calcio o hidróxidos férricos, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína y otros similares.

[315] Los vehículos fisiológicamente tolerables son bien conocidos en el arte. Algunos ejemplos de vehículos líquidos son las soluciones acuosas estériles que contienen los ingredientes activos (por ejemplo, un conjugado) y agua, y pueden contener un amortiguador

de pH tal como fosfato de sodio a un valor de pH fisiológico, solución salina fisiológica o ambos, tal como una solución salina de pH regulado con fosfato. Aún adicionalmente, los vehículos acuosos pueden contener más de una sal amortiguadora de pH, así como sales tales como cloruros de sodio y potasio, dextrosa, polietilenglicol y otros solutos. Además de agua y excluyendo a esta, las composiciones líquidas también pueden contener fases líquidas. Algunos ejemplos de dicho tipo de fases líquidas adicionales son glicerina, aceites vegetales como aceite de semillas de algodón y emulsiones de agua-aceite. La cantidad de un agente activo que será eficaz en el tratamiento de un trastorno o condición particular dependerá de la naturaleza del trastorno o condición, y se la puede determinar mediante técnicas clínicas estándar.

[316] En algunas formas de realización, una composición farmacéutica que comprende un conjugado puede ser un liofilizado.

[317] En algunas formas de realización, se provee una jeringa que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

[318] En algunas formas de realización, se proveen métodos para tratar a un sujeto, que comprenden administrar al sujeto un conjugado descrito en la presente o una composición farmacéutica descrita en la presente. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el sujeto tiene cáncer o una enfermedad autoinmune y el conjugado se une al antígeno diana asociado con el cáncer o la enfermedad autoinmune.

[319] En algunas formas de realización, se proveen métodos para el tratamiento del cáncer que comprende administrar un conjugado. En algunas formas de realización, el sujeto necesita tratamiento para el cáncer y/o una forma maligna. En algunas formas de realización, el método es para tratar a un sujeto que padece un cáncer o una forma maligna.

[320] Los métodos descritos en la presente incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado a un sujeto que padece cáncer o una forma maligna. Tal como se las usa en la presente, las frases "cantidad terapéuticamente eficaz”, "cantidad eficaz”, o "dosis eficaz" se refieren a una cantidad de un conjugado que provee un beneficio terapéutico en el tratamiento del cáncer o de una forma maligna, en su manejo o en su prevención, por ejemplo, una cantidad que provee una disminución estadísticamente significativa de por lo menos un síntoma, signo, o marcador de un tumor o una forma maligna. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de la capacidad de los especialistas en el arte. Por lo general, la cantidad terapéuticamente eficaz puede variar, dependiendo de la historia del sujeto, su edad, condición, sexo, así como de la severidad y del tipo de la condición médica en el sujeto, y de la administración de otros agentes farmacéuticamente activos.

[321] Los términos “cáncer” y “forma maligna” se refieren a un crecimiento descontrolado de células que interfiere con el funcionamiento normal de los órganos y sistemas corporales. El

cáncer o la forma maligna puede ser primario o metastásico, es decir, que se ha vuelto invasivo, sembrando el crecimiento tumoral en tejidos alejados del sitio del tumor original. Un "tumor" se refiere a un crecimiento descontrolado de células que interfiere con el funcionamiento normal de los órganos y sistemas corporales. Un sujeto que padece cáncer es un sujeto que tiene en su cuerpo células cancerosas objetivamente mensurables presentes. En esta definición se incluyen los tumores benignos y los tipos de cáncer malignos, así como los tumores potencialmente latentes y las micrometástasis. Eventualmente los tipos de cáncer que migran de su ubicación original y siembran otros órganos vitales pueden conducir a la muerte del sujeto mediante el deterioro funcional de los órganos afectados. Por ejemplo, las neoplasias malignas hematológicas (tipos de cáncer hematopoyéticos), tales como leucemias y linfomas, pueden superar los compartimentos hematopoyéticos normales de un sujeto, lo que conduce a una falla hematopoyética (en forma de anemia, trombocitopenia y neutropenia) que finalmente causa la muerte.

[322] Algunos ejemplos de tipos de cáncer incluyen, pero de manera no taxativa, carcinomas, linfomas, blastomas, sarcomas y leucemias. Algunos ejemplos más particulares de dichos tipos de cáncer incluyen, pero de manera no taxativa: cáncer de células basales, cáncer de vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, cáncer del cerebro y el SNC, cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de peritoneo, cáncer de cuello uterino; colangiocarcinoma, coriocarcinoma, condrosarcoma, cáncer de colon y recto (cáncer colorrectal), cáncer de tejido conectivo, cáncer del sistema digestivo, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer de ojo, cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico (incluyendo cáncer gastrointestinal y cáncer de estómago), glioblastoma (GBM), cáncer hepático, hepatoma, neoplasia intraepitelial, cáncer de riñón o renal (por ejemplo, cáncer de células claras), cáncer de laringe, leucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, y carcinoma de pulmón de células escamosas), linfoma incluyendo linfoma de Hodgkin y no Hodgkin, melanoma, mesotelioma, mieloma, neuroblastoma, cáncer de la cavidad oral (por ejemplo, de labio, de lengua, de boca, y de faringe), cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer del sistema respiratorio, cáncer de glándulas salivales, sarcoma, cáncer de piel, cáncer de células escamosas, cáncer testicular, cáncer de tiroides, cáncer de útero o endometrio, cáncer de útero grave, cáncer del sistema urinario, cáncer de vulva; así como otros carcinomas y sarcomas, así como linfoma de células B (incluyendo linfoma no Hodgkin (NHL) folicular/de bajo grado, NHL linfocítico pequeño (SL), NHL folicular/de grado intermedio, NHL difuso de grado intermedio, NHL inmunoblástico de alto grado, NHL linfoblástico de alto grado, NHL de células pequeñas no hendidas de alto grado, NHL con enfermedad voluminosa, linfoma de células del manto, linfoma relacionado con el SIDA y macroglobulinemia de Waldenström), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia de células pilosas, leucemia

mieloblástica crónica y trastorno linfoproliferativo postrasplante (PTLD), así como proliferación vascular anormal asociada con facomatosis, edema (tal como el asociado con tumores cerebrales) y síndrome de Meigs.

[323] Se contempla que los métodos de la presente reducen el tamaño del tumor o la carga tumoral en el sujeto, y/o reducen las metástasis en el sujeto. En diversas formas de realización, el tamaño del tumor en el sujeto disminuye aproximadamente un 25-50%, aproximadamente un 40-70% o aproximadamente un 50-90% o más. En diversas formas de realización, los métodos reducen el tamaño del tumor en un 10%, 20%, 30% o más. En diversas formas de realización, los métodos reducen el tamaño del tumor en un 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%.

[324]

[325] Tal como se usa en la presente, un "sujeto" se refiere a un ser humano o animal. Habitualmente, el animal es un vertebrado, tal como un primate, roedor, animal doméstico o un animal de caza. Los primates incluyen chimpancés, monos cinomolgos, monos araña y macacos, por ejemplo, *Rhesus*. Los roedores incluyen ratones, ratas, marmotas, hurones, conejos y hámsteres. Los animales domésticos y de caza incluyen vacas, caballos, cerdos, ciervos, bisontes, búfalos, especies felinas, por ejemplo, gato doméstico, especies caninas, por ejemplo, perro, zorro, lobo, especies de aves, por ejemplo, pollo, emú, avestruz y peces, por ejemplo, trucha, bagre y salmón. En determinadas formas de realización, el sujeto es un mamífero, por ejemplo, un primate, por ejemplo un ser humano. Los términos, "paciente", "individuo" y "sujeto" se utilizan indistintamente en la presente.

[326] Preferiblemente, el sujeto es un mamífero. El mamífero puede ser un humano, un primate no humano, ratón, rata, perro, gato, caballo o vaca, pero no se limita a estos ejemplos. Ventajosamente se pueden usar mamíferos distintos de humanos, por ejemplo, como sujetos que representan modelos en animales, por ejemplo, de diversos cánceres. Además, los métodos que se describen en la presente se pueden usar para tratar animales domesticados y/o mascotas. El sujeto puede ser de sexo masculino o femenino. En determinadas formas de realización, el sujeto es un ser humano.

[327] En algunas formas de realización, el sujeto puede haber sido diagnosticado previamente o previamente se puede haber identificado que padece cáncer y necesita tratamiento, pero no es necesario que ya haya sido sometido a un tratamiento para el cáncer. En algunas formas de realización, también puede ser que al sujeto no se le haya diagnosticado previamente un tipo de cáncer que necesite tratamiento. En algunas formas de realización, el sujeto puede exhibir uno o más factores de riesgo para una condición o una o más complicaciones relacionadas con el cáncer o puede ser un sujeto que no exhibe factores de riesgo. Un "sujeto que necesita" tratamiento para un tipo de cáncer en particular puede ser un sujeto que padece dicha condición o a quien se le haya diagnosticado dicha condición. En otras formas de realización, un sujeto “en riesgo de desarrollar” una condición se refiere a un sujeto a

quien se le ha diagnosticado que se encuentra en riesgo de desarrollar la condición o corre el riesgo de volver a tener la condición.

[328] Tal como se los usa en la presente, cuando los términos "tratar", "tratamiento", "tratando", o "mejora" se usan al referirse a una enfermedad, trastorno o condición médica, se refieren a tratamientos terapéuticos para una condición, donde el objetivo es revertir, aliviar, mejorar, inhibir, hacer más lento o detener el progreso o la severidad de un síntoma o condición. El término "tratar" incluye reducir o aliviar por lo menos un efecto adverso o síntoma de una condición. El tratamiento es en general "eficaz" si se reducen uno o más síntomas o marcadores clínicos. Como alternativa, el tratamiento es "eficaz" si se reduce o se detiene la progresión de una condición. Es decir, el "tratamiento" incluye no sólo la mejora de los síntomas o marcadores, sino también el cese o por lo menos la desaceleración del progreso o el empeoramiento de los síntomas que se esperaría en ausencia del tratamiento. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero de manera no taxativa, reducción de la cantidad de células cancerosas en el sujeto, alivio de uno o más síntoma(s), disminución de la extensión del déficit, estabilización del estado (es decir, sin empeoramiento) del cáncer o de una forma maligna, retraso o desaceleración del crecimiento tumoral y/o metástasis, y una mayor esperanza de vida en comparación con la esperada en ausencia de tratamiento. Tal como se lo usa en la presente, el término “administrar”, se refiere a proveer un conjugado según se describe en la presente a un sujeto mediante un método o por una ruta que da como resultado la unión del conjugado a las células cancerosas o células malignas. De manera similar, una composición farmacéutica que comprende un conjugado según se describe en la presente se puede administrar por cualquier vía apropiada que dé como resultado un tratamiento eficaz en el sujeto.

[329] Los rangos de dosificación del conjugado dependen de la potencia y abarcan cantidades lo suficientemente grandes como para producir el efecto deseado, por ejemplo, haciendo más lento el crecimiento tumoral o reduciendo el tamaño del tumor. La dosis no debe ser tan grande como para causar efectos secundarios adversos inaceptables. Por lo general, la dosis variará dependiendo de la edad, condición y sexo del sujeto y puede ser determinada por un especialista en el arte. La dosis también puede ser ajustada por el médico individual en caso de cualquier complicación. En algunas formas de realización, la dosis varía entre 0,1 mg/kg de peso corporal y 10 mg/kg de peso corporal. En algunas formas de realización, la dosis se encuentra dentro del rango entre 0,5 mg/kg de peso corporal y 15 mg/kg de peso corporal. En algunas formas de realización, el rango de dosis es de entre 0,5 mg/kg de peso corporal y 5 mg/kg de peso corporal. Como alternativa, el rango de dosis se puede ajustar para mantener los niveles séricos entre 1 ug/mL y 1000 ug/mL. Para la administración sistémica, a los sujetos se les puede administrar una cantidad terapéutica, tal como, por ejemplo 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 12 mg/kg o más.

[330] La administración de las dosis citadas anteriormente se puede repetir. En una forma de

realización preferida, las dosis citadas anteriormente se administran semanalmente, quincenalmente, cada tres semanas o mensualmente durante varias semanas o meses. La duración del tratamiento depende del progreso clínico del sujeto y de su capacidad de respuesta al tratamiento.

[331] En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 25 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 12 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 25 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 12 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg.

[332] En algunas formas de realización, una dosis se puede administrar por vía intravenosa. En algunas formas de realización, la administración intravenosa puede ser una infusión que se produce durante un período de entre aproximadamente 10 minutos y aproximadamente 4 horas. En algunas formas de realización, la administración intravenosa puede ser una infusión que se produce durante un período de entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 90 minutos.

[333] En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis semanalmente. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis quincenalmente. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis aproximadamente cada 2 semanas. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis aproximadamente cada 3 semanas. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis cada cuatro semanas.

[334] En algunas formas de realización, se administra un total de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 10 dosis a un sujeto. En algunas formas de realización, se administran un total de 4 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 5 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 6 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 7 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 8 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 9 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 10 dosis. En algunas

formas de realización, se administran un total de más de 10 dosis.

[335] Las composiciones farmacéuticas que contienen un conjugado se pueden administrar como una unidad de dosificación. Cuando el término "unidad de dosificación" se usa al referirse a una composición farmacéutica se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como unidad de dosificación para el sujeto, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo (por ejemplo, conjugado), calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente fisiológicamente aceptable requerido, es decir, vehículo, o portador.

[336] En algunas formas de realización, los conjugados que se describen en la presente se pueden usar en uno o más métodos que comprende(n) administrar un conjugado a un sujeto que lo necesita, como por ejemplo a un sujeto que padece una enfermedad autoinmune.

[337] En algunas formas de realización, se proveen métodos de tratamiento de una enfermedad autoinmune que comprenden administrar un conjugado según se describe en la presente. En algunas formas de realización, el sujeto necesita tratamiento para una enfermedad autoinmune. Los métodos descritos en la presente incluyen administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado a un sujeto que padece una enfermedad autoinmune. Tal como se la usa en la presente, la frase "cantidad terapéuticamente eficaz", "cantidad eficaz", o "dosis eficaz" se refiere a una cantidad de un conjugado según se describe en la presente que provee un beneficio terapéutico en el tratamiento de una enfermedad autoinmune, o en el manejo o la prevención de la recaída de la misma, por ejemplo, una cantidad que provee una disminución estadísticamente significativa de por lo menos un síntoma, signo, o marcador de una enfermedad autoinmune. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de la capacidad de los especialistas en el arte. Por lo general, la cantidad terapéuticamente eficaz puede variar, dependiendo de la historia del sujeto, su edad, condición, sexo, así como de la severidad y el tipo de condición médica que padece dicho sujeto, y de la administración de otros agentes farmacéuticamente activos.

[338] El término “enfermedad autoinmune” se refiere a un trastorno inmunológico caracterizado por una activación inadecuada de células inmunitarias (por ejemplo, linfocitos o células dendríticas), que interfiere con el funcionamiento normal de los órganos y sistemas corporales. Algunos ejemplos de enfermedad autoinmune incluyen, pero de manera no taxativa, artritis reumatoide, artritis psoriásica, enfermedades autoinmunes desmielinizantes (por ejemplo, esclerosis múltiple, encefalomielitis alérgica), oftalmopatía endocrina, uveoretinitis, lupus eritematoso sistémico, miastenia gravis, enfermedad de Grave, glomerulonefritis, trastorno hepatológico autoinmune, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn), anafilaxis, reacción alérgica, síndrome de Sjögren, diabetes mellitus tipo I, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegener, fibromialgia, polimiositis, dermatomiositis, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, uveítis autoinmune, enfermedad de Addison, adrenalitis, tiroiditis, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad autoinmune

de la tiroides, anemia perniciosa, atrofia gástrica, hepatitis crónica, hepatitis lupoide, aterosclerosis, lupus eritematoso cutáneo subagudo, hipoparatiroidismo, síndrome de Dressler, trombocitopenia autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica, pénfigo vulgar, pénfigo, dermatitis herpetiforme, alopecia areata, penfigoide, esclerodermia, esclerosis sistémica progresiva, síndrome CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), infertilidad autoinmune masculina y femenina, espondilitis anquilosante, colitis ulcerosa, enfermedad mixta del tejido conectivo, poliarteritis nodosa, vasculitis necrosante sistémica, dermatitis atópica, rinitis atópica, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Chagas, sarcoidosis, fiebre reumática, asma, aborto recurrente, síndrome antifosfolípido, pulmón del granjero, eritema multiforme, síndrome poscardiotomía, síndrome de Cushing, hepatitis crónica activa autoinmune, pulmón del criador de aves, necrólisis epidérmica tóxica, síndrome de Alport, alveolitis, alveolitis alérgica, alveolitis fibrosante, enfermedad pulmonar intersticial, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, reacción transfusional, arteritis de Takayasu, polimialgia reumática, arteritis temporal, esquistosomiasis, arteritis de células gigantes, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Samter, eccema, granulomatosis linfomatoide, enfermedad de Behçet, síndrome de Caplan, enfermedad de Kawasaki, dengue, encefalomielitis, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, endoftalmitis, eritema elevatum et diutinum, psoriasis, eritroblastosis fetal, facitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, filariasis, ciclitis, ciclitis crónica, ciclitis heterocrónica, ciclitis de Fuch, nefropatía por IgA, púrpura de Henoch-Schönlein, enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de trasplante, cardiomiopatía, síndrome de Eaton-Lambert, policondritis recidivante, crioglobulinemia, enfermedad de Waldenstrom macroglobulemia, síndrome de Evan e insuficiencia gonadal autoinmune.

[339] En algunas formas de realización, los métodos descritos en la presente abarcan el tratamiento de trastornos de los linfocitos B (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, artritis reumatoide y diabetes de tipo I), de los linfocitos Th1 (por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de Sjögren, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Grave, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Wegener granulomatosis, tuberculosis, o enfermedad de injerto contra huésped), o de los linfocitos Th2 (por ejemplo, dermatitis atópica, lupus eritematoso sistémico, asma atópica, rinoconjuntivitis, rinitis alérgica, síndrome de Omenn, esclerosis sistémica, o enfermedad de injerto contra huésped crónica). Por lo general, los trastornos que afectan a las células dendríticas incluyen trastornos de los linfocitos Th1 o de los linfocitos Th2.

[340] Tal como se usa en la presente, un "sujeto" se refiere a un ser humano o animal. Habitualmente, el animal es un vertebrado, tal como un primate, roedor, animal doméstico o un animal de caza. Los primates incluyen chimpancés, monos cinomolgos, monos araña y macacos, por ejemplo, *Rhesus*. Los roedores incluyen ratones, ratas, marmotas, hurones, conejos y hámsteres. Los animales domésticos y de caza incluyen vacas, caballos, cerdos,

ciervos, bisontes, búfalos, especies felinas, por ejemplo, gato doméstico, especies caninas, por ejemplo, perro, zorro, lobo, especies de aves, por ejemplo, pollo, emú, avestruz y peces, por ejemplo, trucha, bagre y salmón. En determinadas formas de realización, el sujeto es un mamífero, por ejemplo, un primate, por ejemplo un ser humano. Los términos, "paciente", "individuo" y "sujeto" se utilizan indistintamente en la presente.

[341] Preferiblemente, el sujeto es un mamífero. El mamífero puede ser un humano, un primate no humano, ratón, rata, perro, gato, caballo o vaca, pero no se limita a estos ejemplos. Ventajosamente se pueden usar mamíferos distintos de humanos, por ejemplo, como sujetos que representan modelos en animales, por ejemplo, de diversas enfermedades autoinmunes. Además, los métodos que se describen en la presente se pueden usar para tratar animales domesticados y/o mascotas. El sujeto puede ser de sexo masculino o femenino. En determinadas formas de realización, el sujeto es un ser humano.

[342] En algunas formas de realización, al sujeto se le puede haber diagnosticado previamente una enfermedad autoinmune o previamente se puede haber identificado que padece enfermedad autoinmune y necesita tratamiento, pero no es necesario que ya haya sido sometido a un tratamiento para la enfermedad autoinmune. En algunas formas de realización, también puede ser que al sujeto no se le haya diagnosticado previamente una enfermedad autoinmune que necesita tratamiento. En algunas formas de realización, el sujeto puede exhibir uno o más factores de riesgo para una condición o una o más complicaciones relacionadas con una enfermedad autoinmune o puede ser que el sujeto no exhiba factores de riesgo. Un "sujeto que necesita" tratamiento para una enfermedad autoinmune particular puede ser un sujeto que padece dicha condición o a quien se le haya diagnosticado que padece dicha condición. En otras formas de realización, un sujeto “en riesgo de desarrollar” una condición se refiere a un sujeto a quien se le ha diagnosticado que corre el riesgo de desarrollar la condición o el riesgo de volver a padecer la condición (por ejemplo, una enfermedad autoinmune).

[343] Tal como se los usa en la presente, cuando los términos "trata”, "tratamiento”, "tratar”, o "mejora” se usan al referirse a una enfermedad, trastorno o condición médica, se refieren a tratamientos terapéuticos para una condición, donde el objetivo es revertir, aliviar, mejorar, inhibir, hacer más lenta o detener la progresión o severidad de un síntoma o condición. El término "tratar" incluye reducir o aliviar por lo menos un efecto adverso o síntoma de una condición. El tratamiento es en general "eficaz" si se reducen uno o más síntomas o marcadores clínicos. Como alternativa, el tratamiento es "eficaz" si se reduce o se detiene la progresión de una condición. Es decir, el "tratamiento" incluye no sólo la mejora de los síntomas o marcadores, sino también el cese o por lo menos la desaceleración del progreso o el empeoramiento de los síntomas que se esperaría en ausencia del tratamiento. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero de manera no taxativa, reducción de la cantidad de células autoinmunes en el sujeto, alivio de uno o más síntomas, disminución del alcance del déficit, estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de una enfermedad

autoinmune, retraso o desaceleración de la progresión de una enfermedad autoinmune, y una mayor esperanza de vida en comparación con la esperada en ausencia de tratamiento. Tal como se los usa en la presente, el término "administrar", se refiere a proveer un conjugado según se describe en la presente a un sujeto mediante un método o por una ruta que resulta en la unión del conjugado con células autoinmunes diana. De manera similar, una composición farmacéutica que comprende un conjugado según se describe en la presente se puede administrar por cualquier vía apropiada que dé como resultado un tratamiento eficaz en el sujeto.

[344] Los rangos de dosificación del conjugado dependen de la potencia y abarcan cantidades lo suficientemente grandes como para producir el efecto deseado, por ejemplo, haciendo más lenta la progresión de una enfermedad autoinmune o reduciendo los síntomas. La dosis no debe ser tan grande como para causar efectos secundarios adversos inaceptables. Por lo general, la dosis variará dependiendo de la edad, condición y sexo del sujeto y puede ser determinada por un especialista en el arte. La dosis también puede ser ajustada por el médico individual en caso de cualquier complicación. En algunas formas de realización, la dosis varía entre 0,1 mg/kg de peso corporal y 10 mg/kg de peso corporal. En algunas formas de realización, la dosis se encuentra dentro del rango entre 0,5 mg/kg de peso corporal y 15 mg/kg de peso corporal. En algunas formas de realización, el rango de dosis es de entre 0,5 mg/kg de peso corporal y 5 mg/kg de peso corporal. Como alternativa, el rango de dosis se puede ajustar para mantener los niveles séricos entre 1 ug/mL y 1000 ug/mL. Para la administración sistémica, a los sujetos se les puede administrar una cantidad terapéutica, tal como, por ejemplo 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 12 mg/kg o más.

[345] La administración de las dosis citadas anteriormente se puede repetir. En una forma de realización preferida, las dosis citadas anteriormente se administran semanalmente, quincenalmente, cada tres semanas o mensualmente durante varias semanas o meses. La duración del tratamiento depende del progreso clínico del sujeto y de su capacidad de respuesta al tratamiento.

[346] En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 25 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 12 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 25 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de

entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 12 mg/kg. En algunas formas de realización, una dosis puede ser de entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg.

[347] En algunas formas de realización, la dosis se puede administrar por vía intravenosa. En algunas formas de realización, una administración intravenosa puede ser una infusión que se produce durante un período de entre aproximadamente 10 minutos y aproximadamente 4 horas. En algunas formas de realización, una administración intravenosa puede ser una infusión que se produce durante un período de entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 90 minutos.

[348] En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis semanalmente. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis quincenalmente. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis aproximadamente cada 2 semanas. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis aproximadamente cada 3 semanas. En algunas formas de realización, se puede administrar una dosis cada cuatro semanas.

[349] En algunas formas de realización, se administra un total de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 10 dosis a un sujeto. En algunas formas de realización, se administran un total de 4 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 5 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 6 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 7 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 8 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 9 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de 10 dosis. En algunas formas de realización, se administran un total de más de 10 dosis.

[350] Las composiciones farmacéuticas que contienen un conjugado de las mismas [Sic.] se pueden administrar en una unidad de dosificación. Cuando el término "unidad de dosificación" se usa al referirse a una composición farmacéutica se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como unidades de dosificación para el sujeto, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo (por ejemplo, un conjugado), calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente fisiológicamente aceptable requerido, es decir, vehículo, o portador.

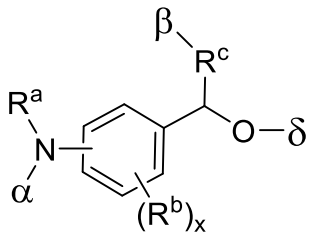
[351] En algunas formas de realización, un conjugado, o una composición farmacéutica de cualquiera de estos, se administra con una terapia de inmunosupresión. En algunas formas de realización, se provee un método para mejorar el resultado del tratamiento en un sujeto que recibe terapia de inmunosupresión. Por lo general, el método incluye administrar una cantidad eficaz de una terapia de inmunosupresión al sujeto que padece un trastorno autoinmune; y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado o una composición

farmacéutica del mismo al sujeto, donde el conjugado se une específicamente a células autoinmunes diana; donde el resultado del tratamiento del sujeto mejora, en comparación con la administración de la inmunoterapia sola. En algunas formas de realización, el conjugado de las mismas según se describe en la presente [Sic.]. En algunas formas de realización, un resultado mejorado del tratamiento es una disminución en la progresión de la enfermedad, un alivio de uno o más síntomas, o algo similar.

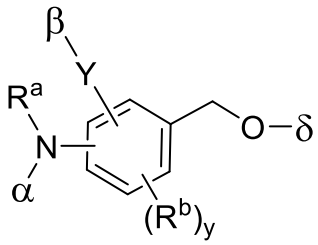
[352] La presente invención se ilustra además con las siguientes formas de realización, que no se deben considerar en un sentido limitante.

[0353] Forma de realización 1. Un compuesto conector, o un estereoisómero o sal del mismo, que comprende:

(a) una unidad conectora que tiene entre 1 y 4 sitios de unión para una unidad de fármaco y que tiene una de las siguientes estructuras (i) o (ii):



(i)



(ii) ;

(b) por lo menos un grupo polar que comprende una unidad Polímero, opcionalmente una unidad sacárido, opcionalmente una unidad carboxilo, y combinaciones de las mismas; y

(c) opcionalmente un grupo extensor que tiene un sitio de unión para un grupo de direccionamiento;

donde:

α— es un sitio de unión a un grupo enzimáticamente escindible;

β— es un sitio de unión al por lo menos un grupo polar;

δ— es H, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a un grupo conector unido a por lo menos una de las unidades de fármaco;

la unidad Polímero comprende una poliamida, un poliéter, o una combinación de los mismos, donde el poliéter comprende un grupo hidroxilo, un grupo polihidroxilo, un grupo sacárido, un grupo carboxilo, o combinaciones de los mismos;

cada R^a es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

cada R^b es independientemente halo, C_1-$_6$ alquilo, un sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco, o un sitio de unión a por lo menos uno de los grupos polares;

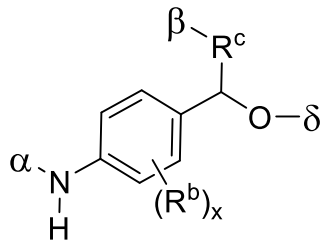
x es 0, 1, 2, 3 o 4;

y es 0, 1, 2 o 3;

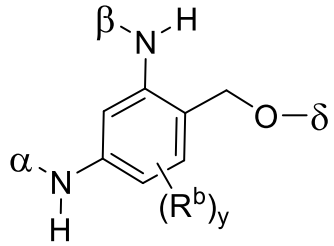
R^c es un enlace, -C(O)-, -S(O)-, -SO_2-, C_1-$_6$ alquileno, C_1-$_6$ alquinileno, triazolilo o combinaciones de los mismos; y

Y es un enlace, -O-, -S-, -N(R^a)-, -C(O)-, -S(O)-, -SO_2-C_1-C_6 alquileno, C_1-C_6 alquenileno, C_1-C_6 alquinileno, un grupo que contiene triazolilo, o combinaciones de los mismos.

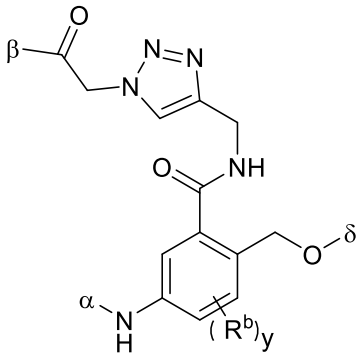
[0354] Forma de realización 2. El compuesto conector de la forma de realización 1, donde la unidad conectora tiene una de las siguientes estructuras (i-a), (ii-a), o (iii-a):



(i-a),



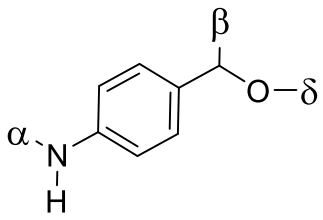
(ii-a),



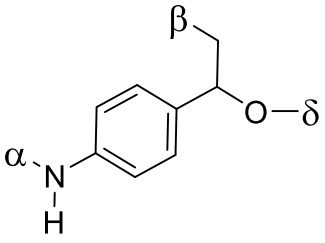
(iii-a),

o un estereoisómero o una sal de las mismas.

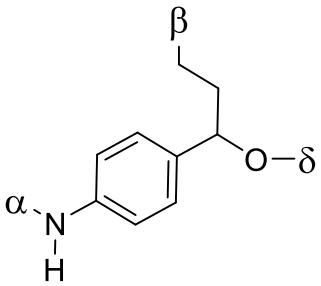
[0355] Forma de realización 3. El compuesto conector de la forma de realización 1 o 2, donde la unidad conectora tiene una de las siguientes estructuras (i-b), (i-c), (i-d), (i-e) o (i-f):



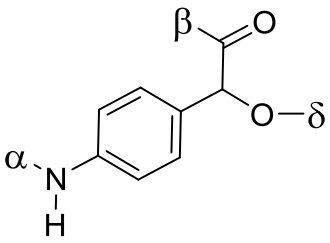
(i-b)



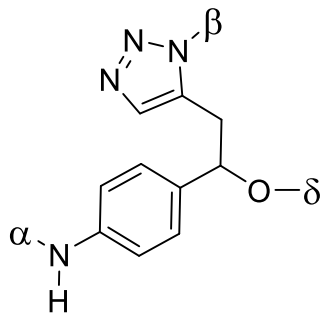
(i-c) ,



(i-d)



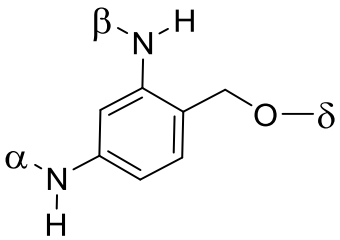
(i-e) ,



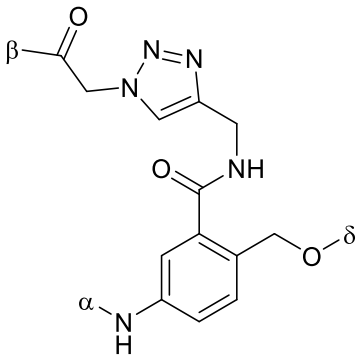
(i-f)

o un estereoisómero o sal de las mismas.

[0356] Forma de realización 4. El compuesto conector de la forma de realización 1, donde la unidad conectora tiene la siguiente estructura (ii-b) o (iii-b):



(ii-b),



(iii-b),

o un estereoisómero o sal de las mismas.

[0357] Forma de realización 5. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-4, donde el grupo polar comprende por lo menos una unidad sacárido que tiene la siguiente fórmula:

$$L3–N(CH_2 – (CH(XR))_k – X_1(X_2))_2 \qquad (X)$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

cada X se selecciona independientemente entre NH y O;

cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, acetilo, un monosacárido, un disacárido, y un polisacárido;

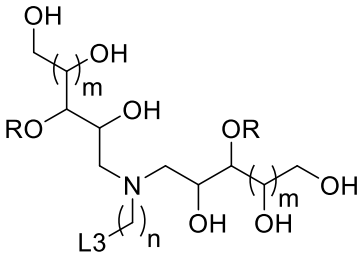
cada X_1 se selecciona independientemente entre CH_2 y C(O);

cada X_2 se selecciona independientemente entre H, OH y OR;

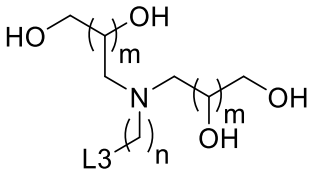
k es entre 1 y 10; y

L3 es un punto de unión al resto del grupo polar.

[0358] Forma de realización 6. El compuesto conector de la forma de realización 5, donde la por lo menos una unidad sacárido tiene una de las siguientes estructuras (XII) o (XIII):



(XII) o



(XIII) ,

o un estereoisómero o sal de las mismas, donde:

cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, un monosacárido, un disacárido y un polisacárido;

m es entre 1 y 8; y

n es entre 0 y 4.

[0359] Forma de realización 7. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-6, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:

(a) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XX)

o un estereoisómero o una sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo; y

n20 es entre 2 y 26; o

(b) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno;

uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo

opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} es un polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; y

n20 es entre 2 y 26; o

(c) $$\sim R^{20}\text{-}[\text{-}R^{26}\text{-}[R^{29}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}R^{29}]_{n21}\text{-}R^{27}\text{-}NR^{24}R^{25}]_{n27} \quad \text{(XXII)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{26} y R^{27} se seleccionan en forma opcional e independiente entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C_1-C_{12} alquileno-$N(CH_3)$-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)- y -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-;

uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo;

cada R^{29} se selecciona en forma opcional e independiente entre -C(O)-, -NH-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno-, -NH-C_1-C_6 alquileno-, -C_1-C_6 alquileno-NH-, -C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -NH(CO)-C_1-C_6alquileno-, -$N(CH_3)$-(CO)-C_1-C_6alquileno-, -NH(CO)NH-, y triazol;

n20 es entre 2 y 26;

n21 es entre 1 y 4; y

n27 es entre 1 y 4, o

(d) $$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[\text{-}C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^N)\text{-}]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25} \quad \text{(XXIII)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} es un enlace, C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$, -$[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-

C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-;

R^{22} es C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$, -[CH_2-CH_2-O]$_{n20}$-C_1-C_3alquileno- o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$-C(O)-;

cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo; y

cada n20 es independientemente entre 2 y 26, o

(e) ~R^{20}-R^{21}-[-C(R^{α})H-C(O)-N(R^N)-]$_{n20}$-R^{22}-CO_2R^{26} (XXIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, o -C_1-C_3alquileno[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$;

cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo;

R^{26} es H o C_1-C_4 alquilo; y

cada n20 es independientemente entre 2 y 26,

con la condición de que por lo menos un R^{α} o R^N es -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$; o

(f) ~R^{20}-R^{21}-[C(R^{α})H-C(O)-N(R^N)-]$_{n20}$-R^{22}-N-(R^{23}-$NR^{24}R^{25}$)$_2$ (XXV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno, o -C_1-C_3alquileno-[O-CH_2-CH_2-]$_{n20}$;

cada R^{α} es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

cada R^N es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

cada R^{23} es independientemente C_1-C_6 alquileno;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; y -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo; y

cada n20 es independientemente entre 2 y 26.

[0360] Forma de realización 8. El compuesto conector de la forma de realización 7, donde R^{24} y R^{25} no son ambos H.

[0361] Forma de realización 9. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H y un grupo polihidroxilo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H.

[0362] Forma de realización 10. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 7 a 9, donde el grupo polihidroxilo es un monosacárido lineal, opcionalmente seleccionado entre un sacárido C6 o C5, un sacárido ácido y un sacárido amino.

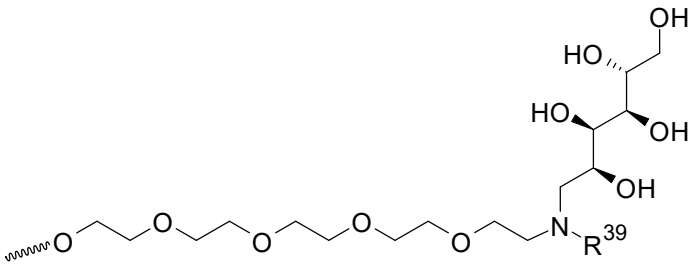
[0363] Forma de realización 11. El compuesto conector de la forma de realización 10, donde:

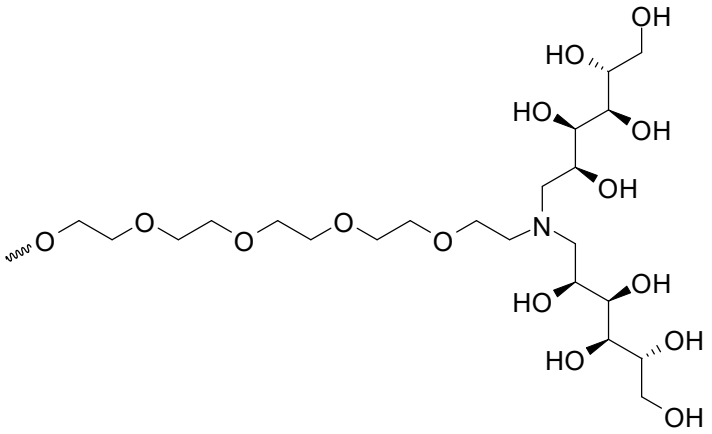
el sacárido C6 o C5 se selecciona entre glucosa, ribosa, galactosa, manosa, arabinosa, 2-desoxiglucosa, gliceraldehído, eritrosa, treosa, xilosa, lixosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, aldosa, y cetosa;

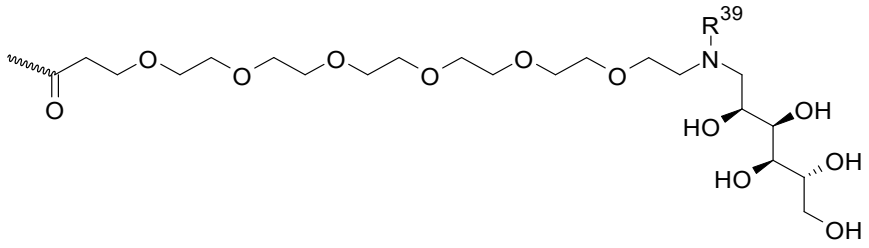
el sacárido ácido se selecciona entre ácido glucónico, ácido aldónico, ácido urónico y ácido ulosónico; o

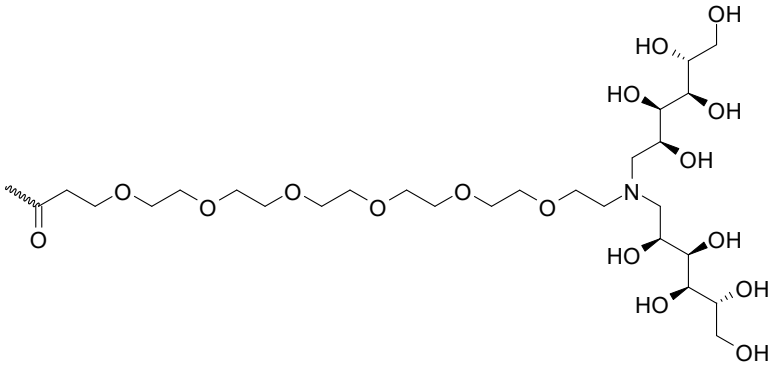
el sacárido amino se selecciona entre glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina.

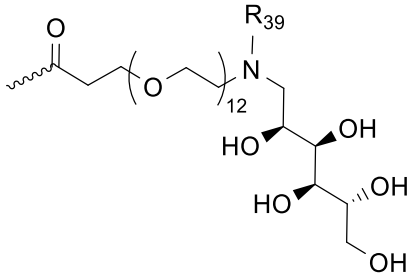
[0364] Forma de realización 12. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

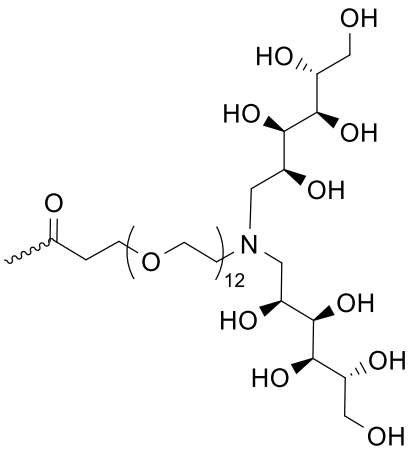


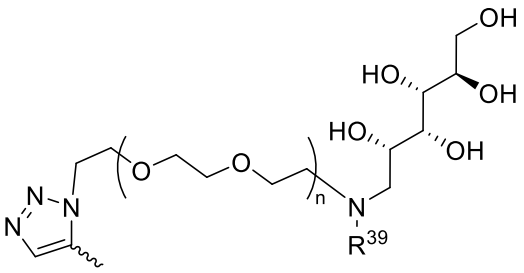


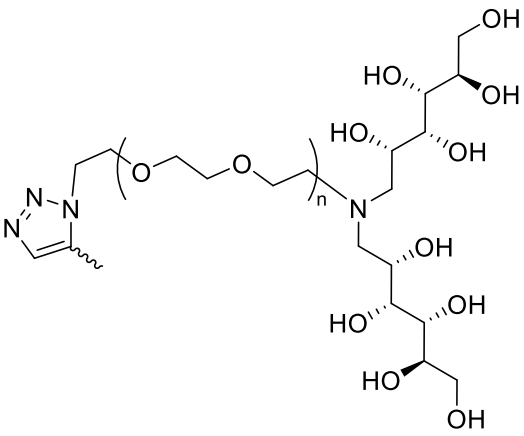


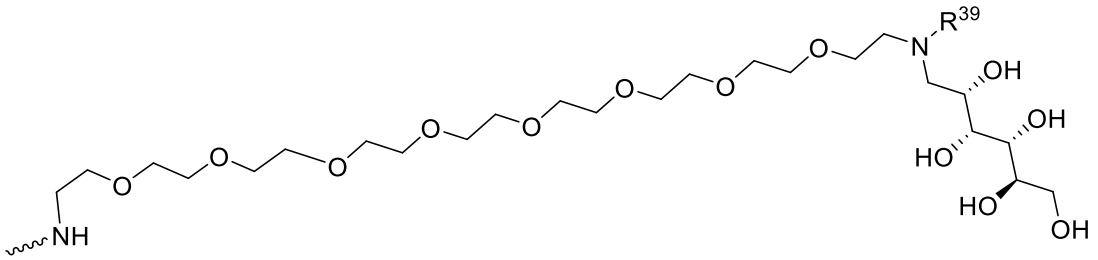


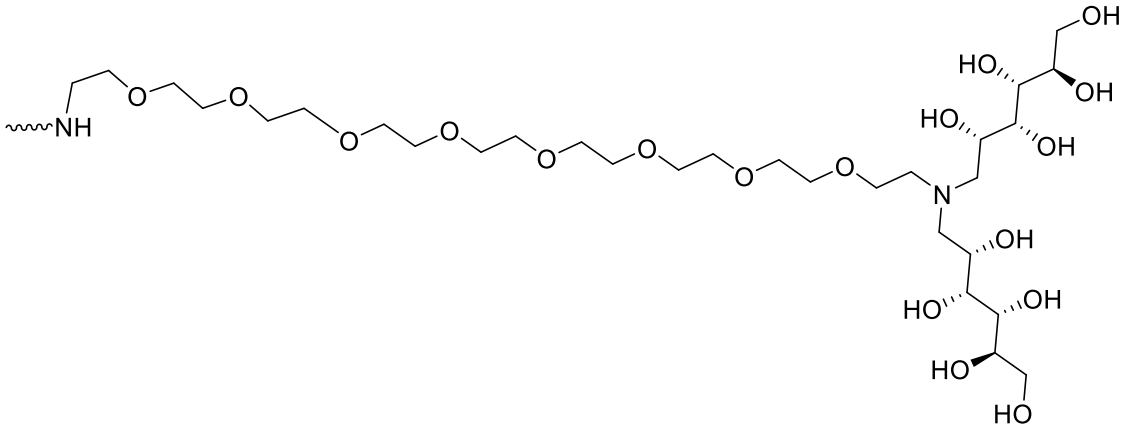


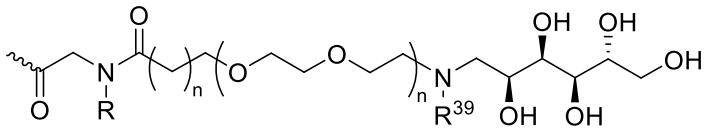


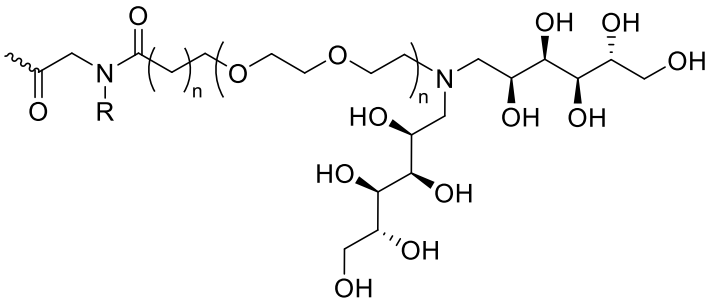


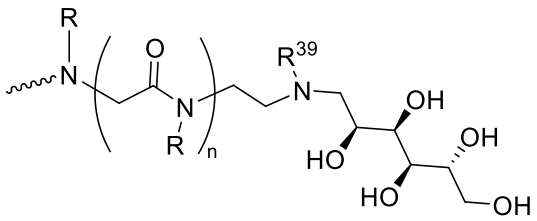


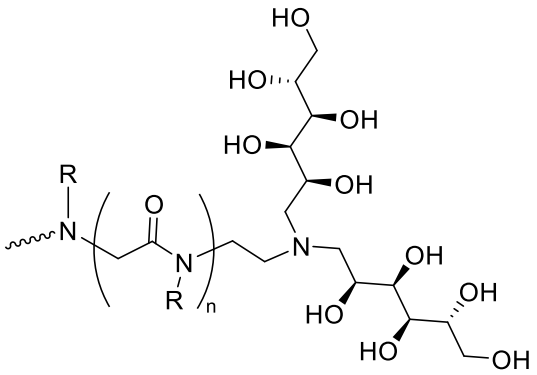


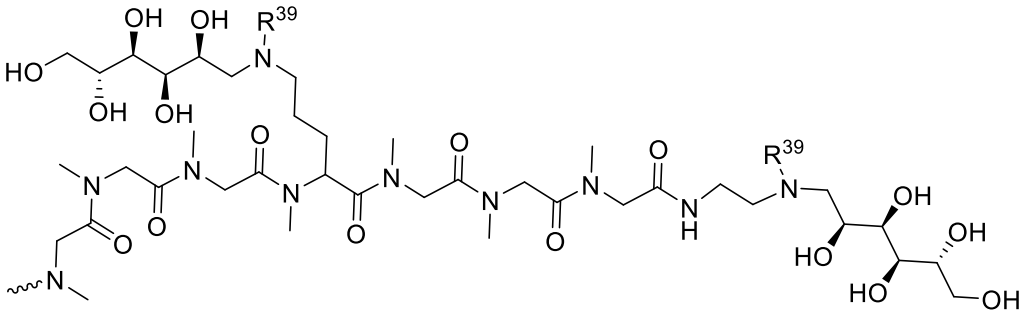


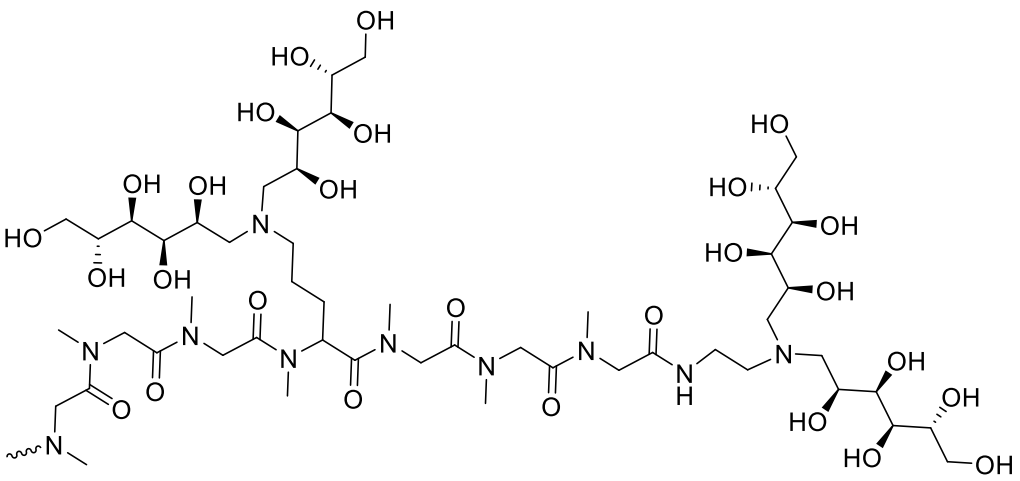


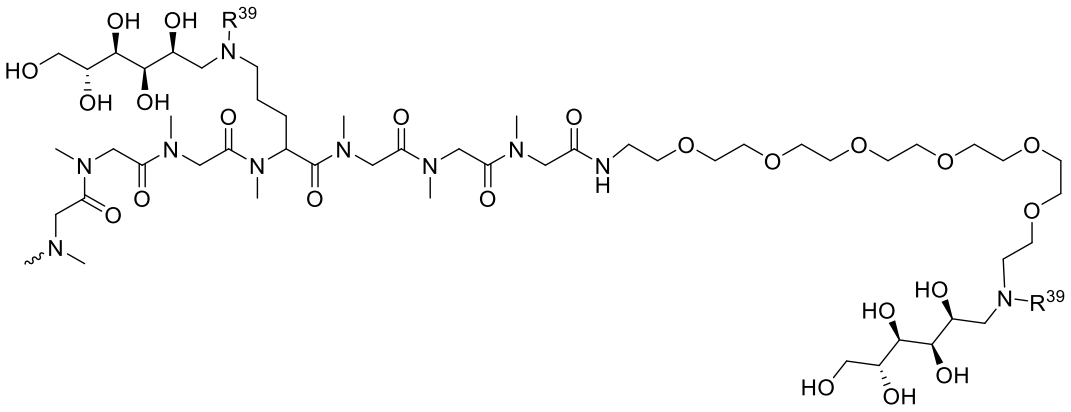


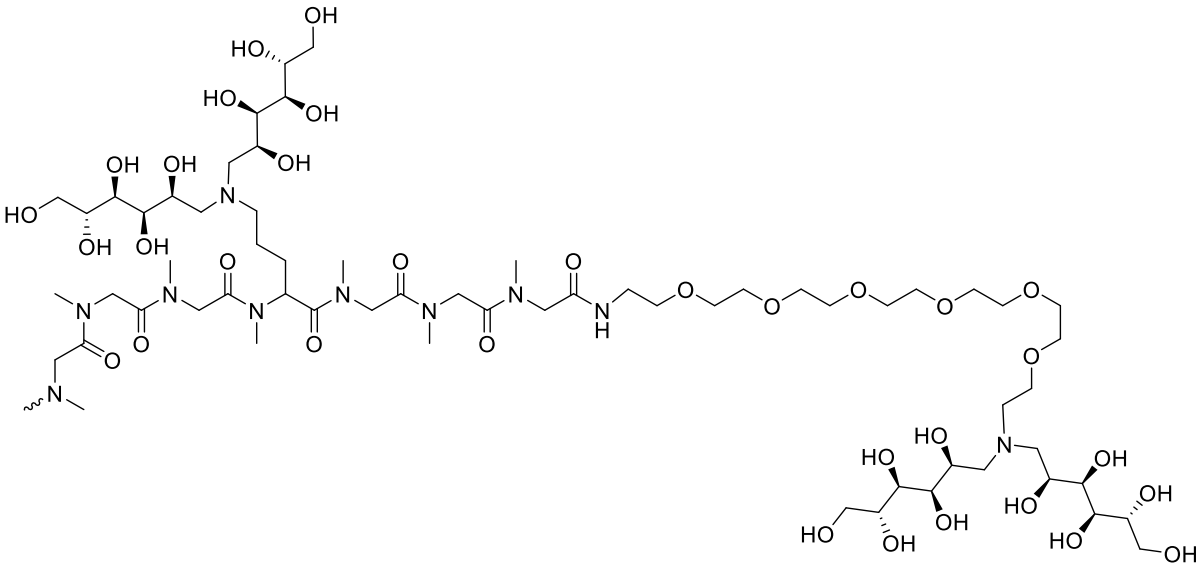


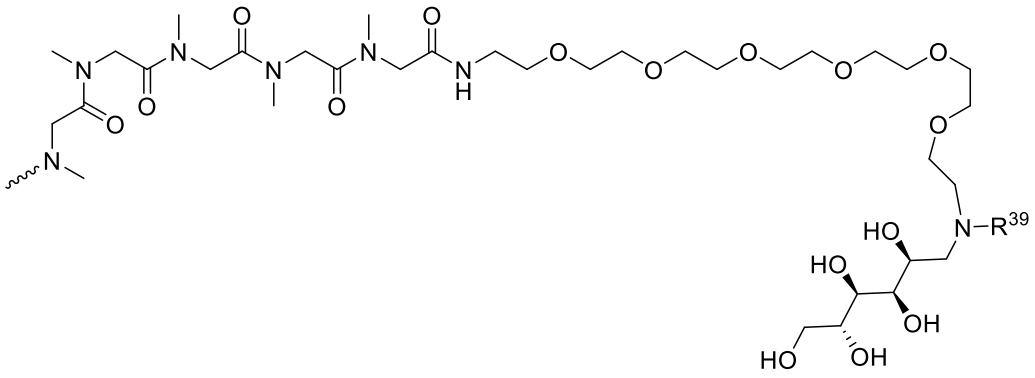


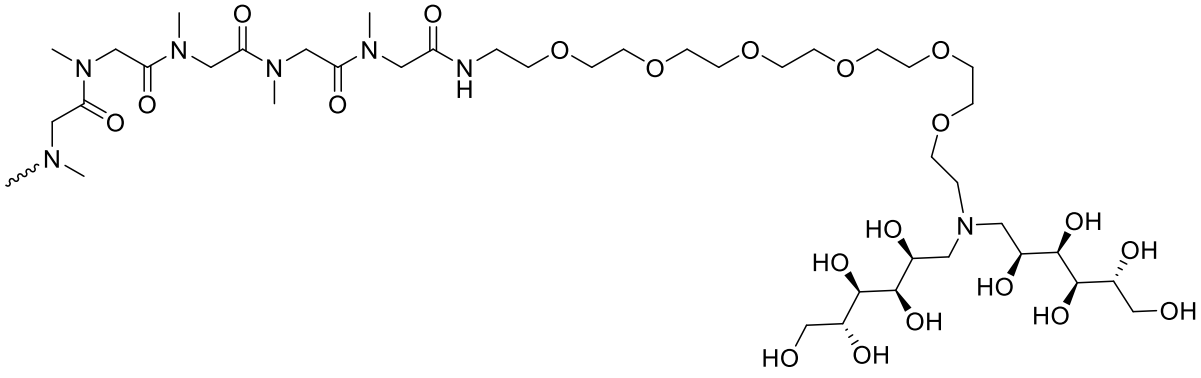


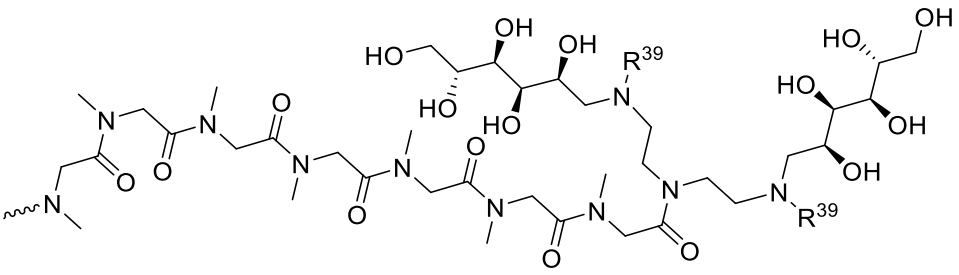


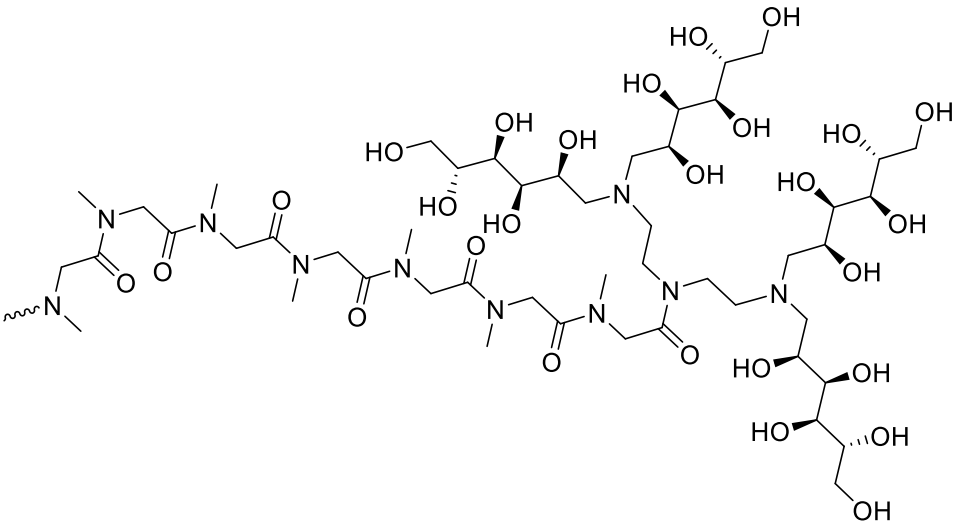


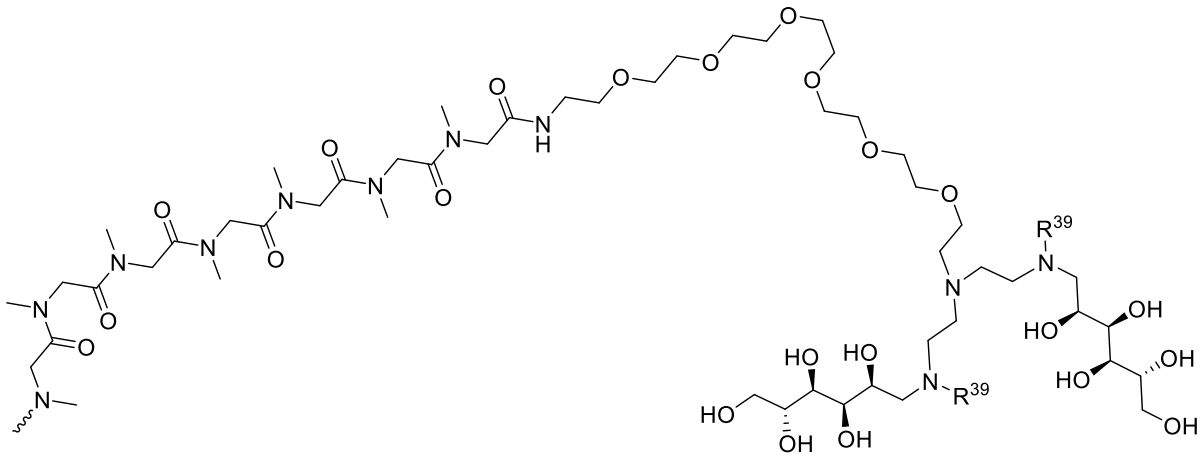


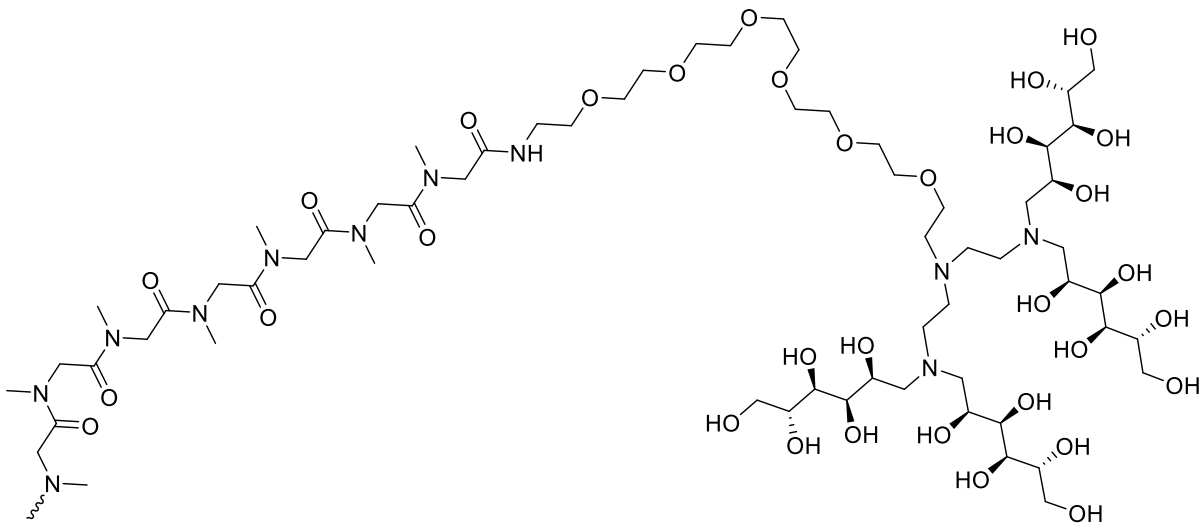


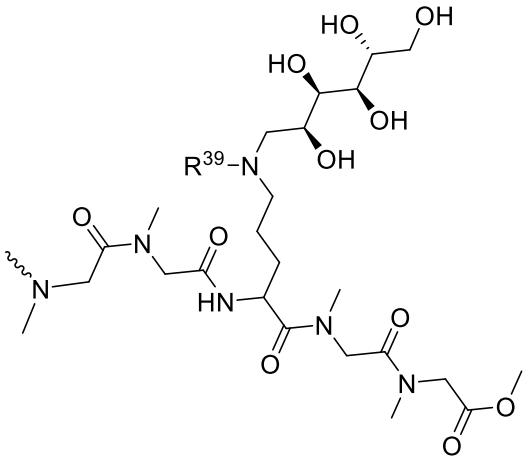


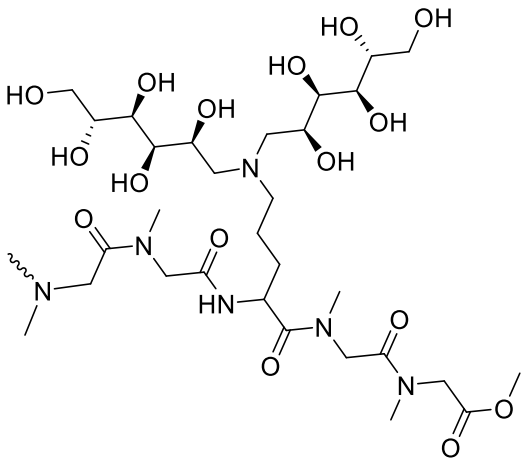


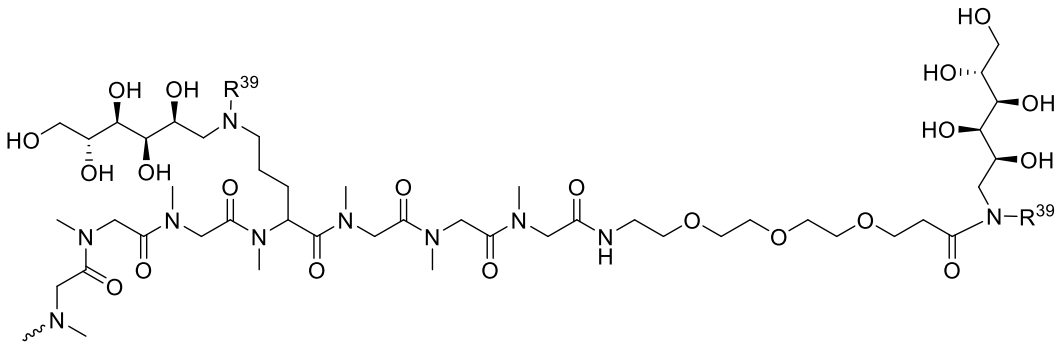


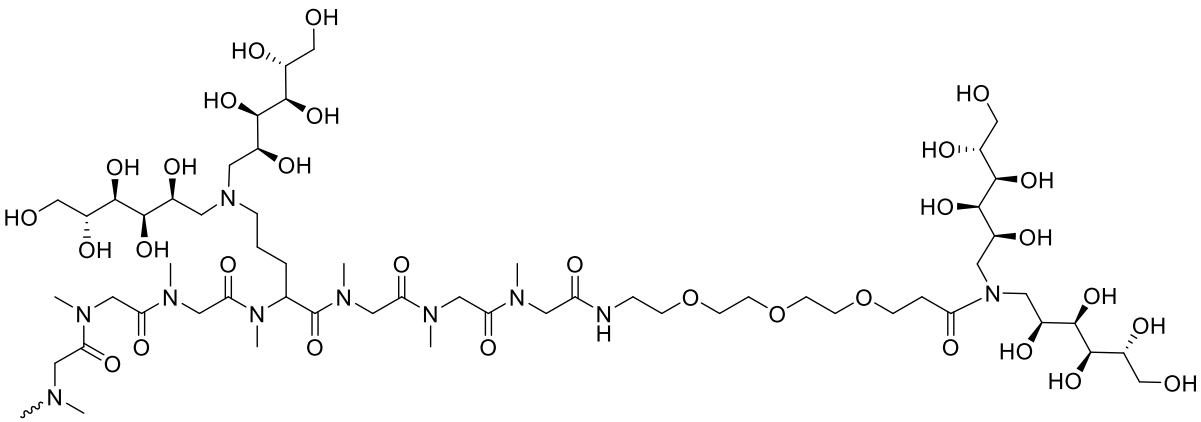


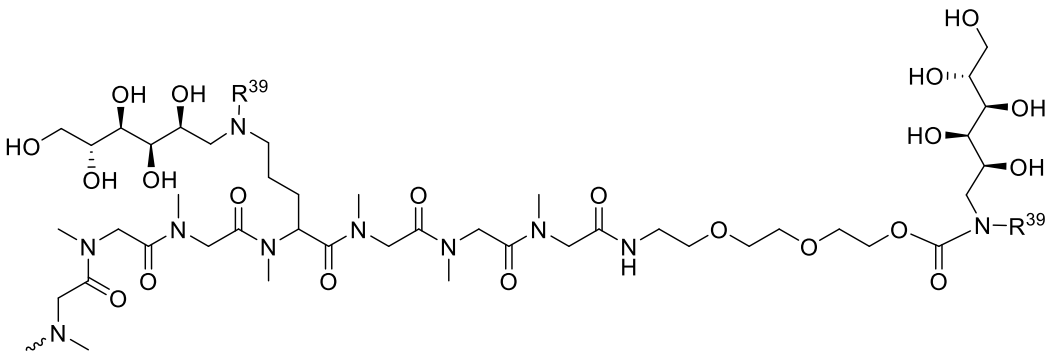


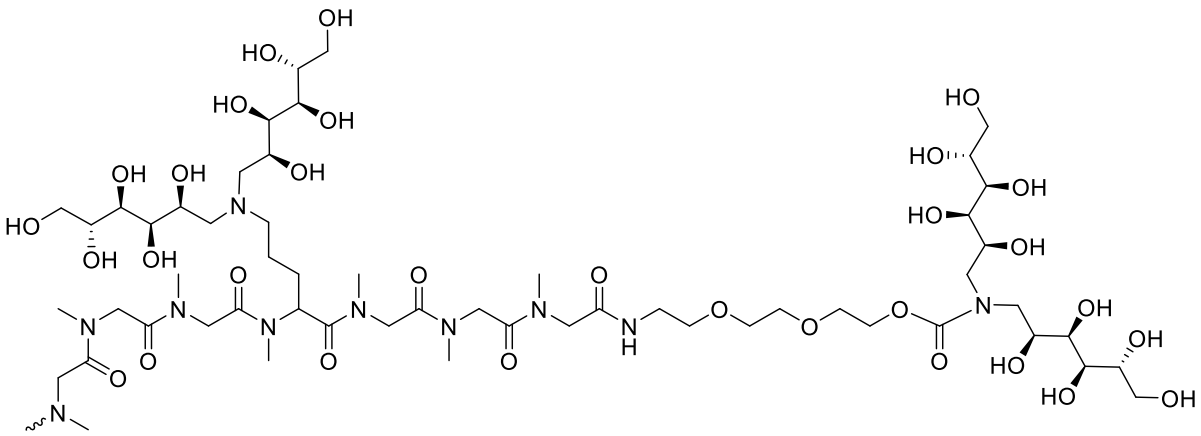


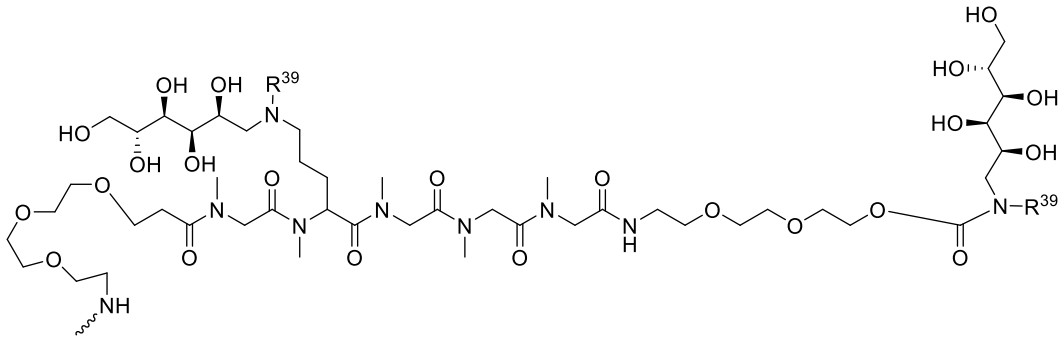


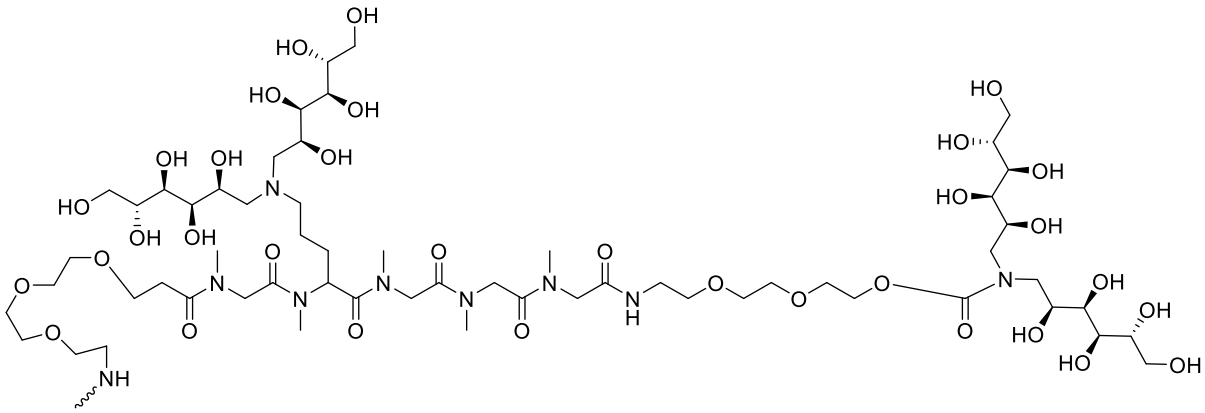


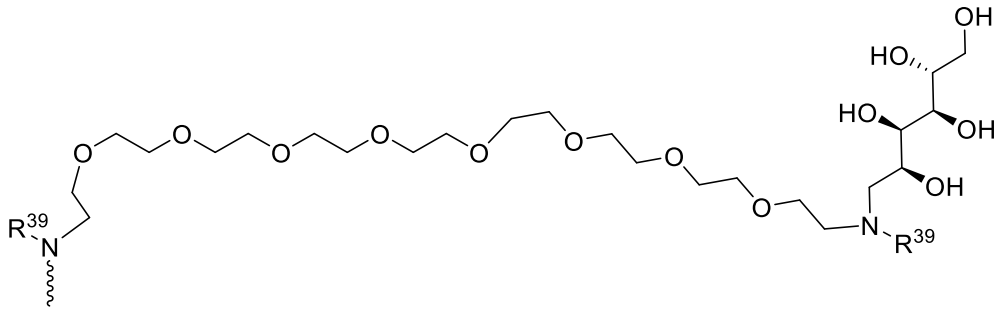


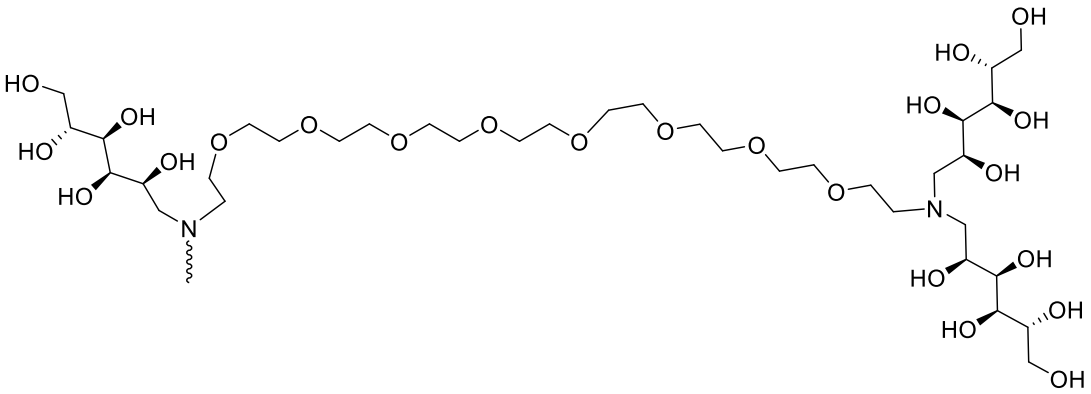


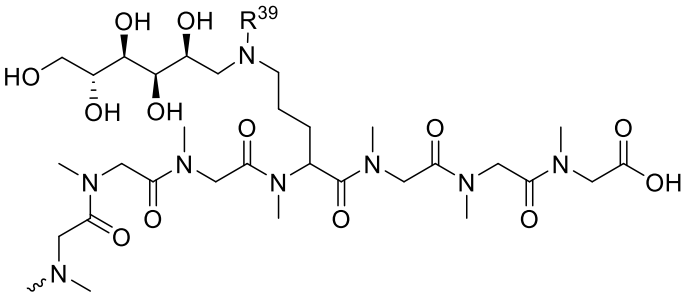


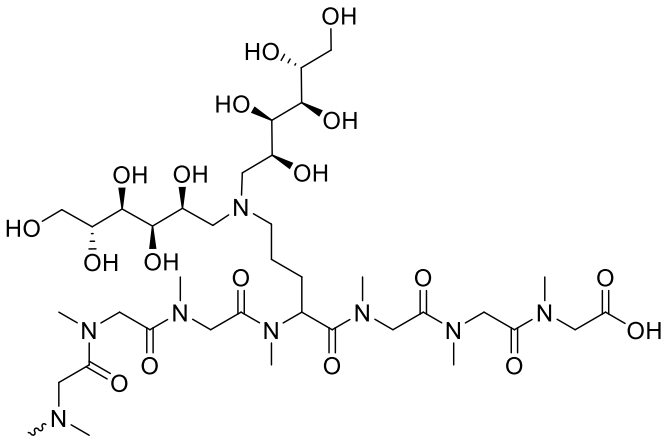








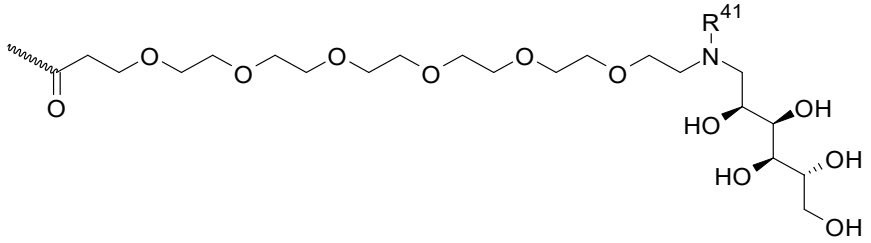


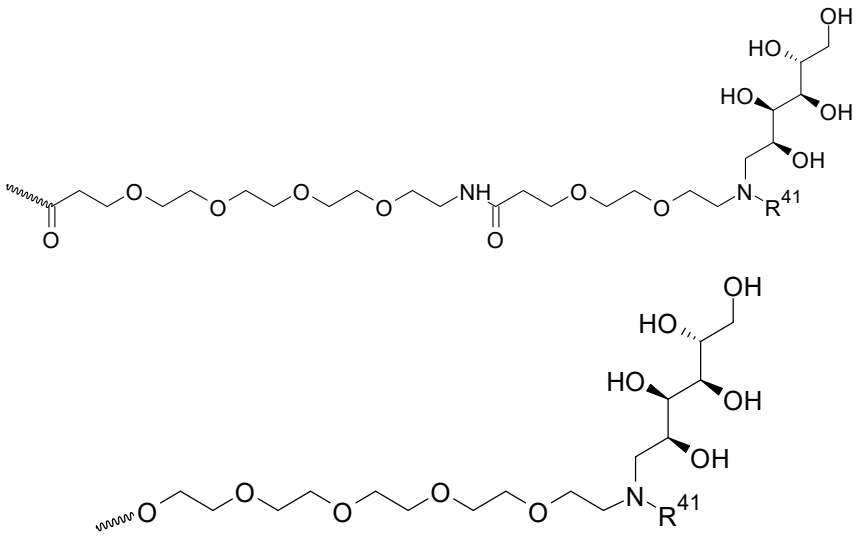


donde cada R es independientemente H o alquilo; cada R^{39} se selecciona independientemente entre H, un monosacárido lineal y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; cada n es independientemente 1-12; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0365] Forma de realización 13. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde uno de R^{24} y R^{25} es un monosacárido lineal y el otro es un monosacárido cíclico.

[0366] Forma de realización 14. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

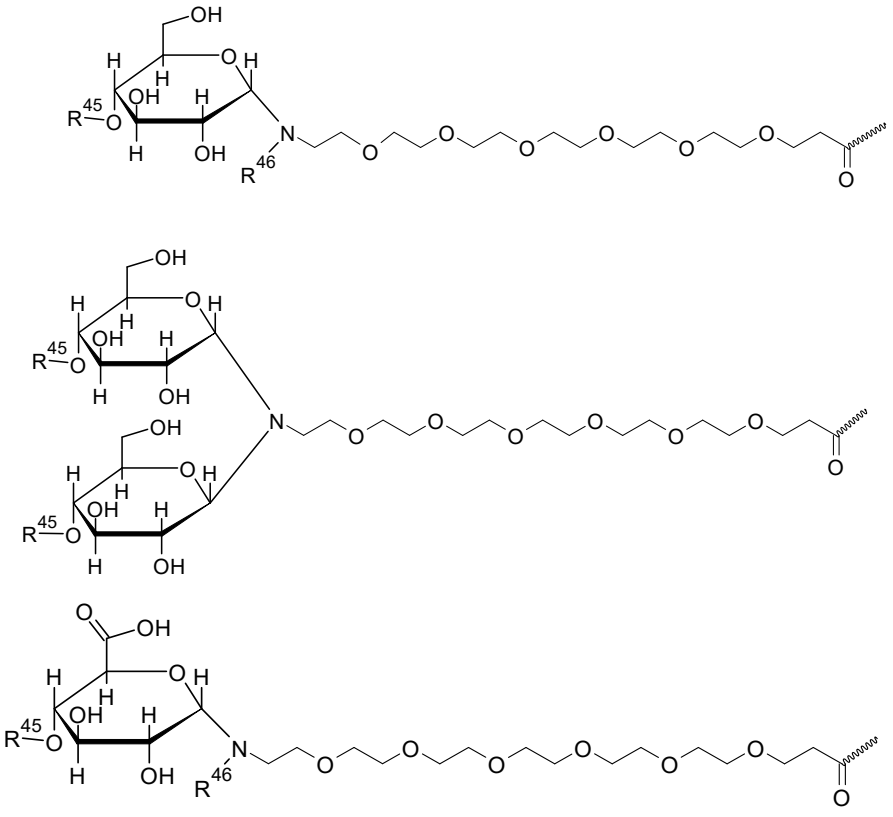




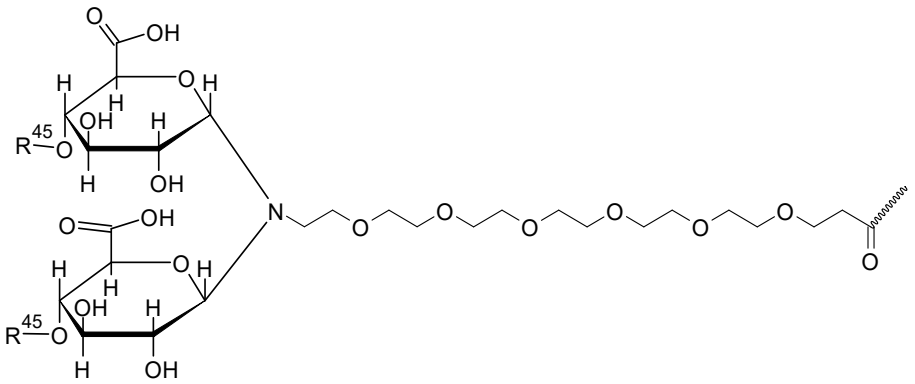
donde R^{41} es un monosacárido cíclico; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0367] Forma de realización 15. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} son independientemente un polihidroxilo seleccionado entre un monosacárido, disacárido y polisacárido cíclicos.

[0368] Forma de realización 16. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



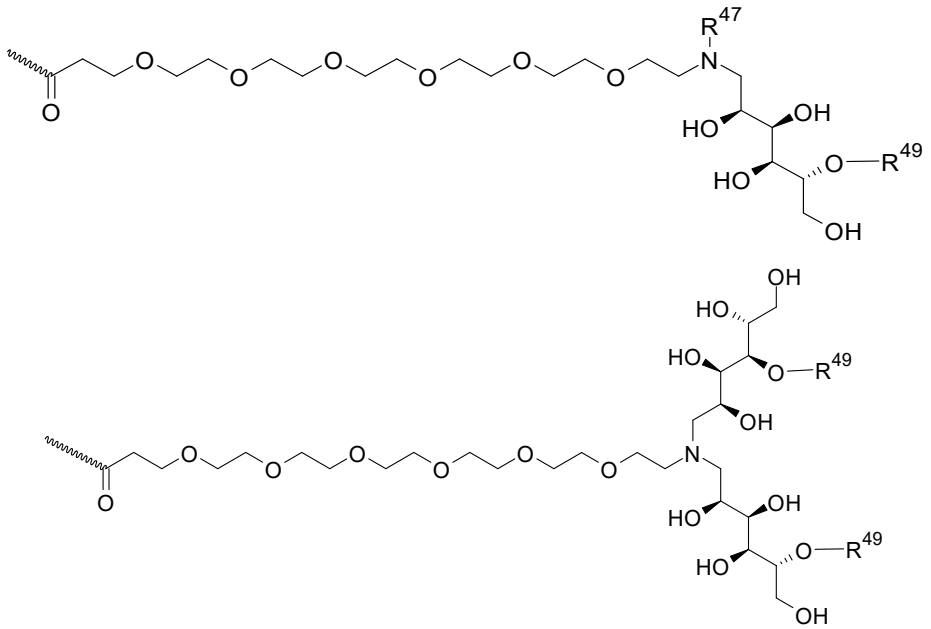
y

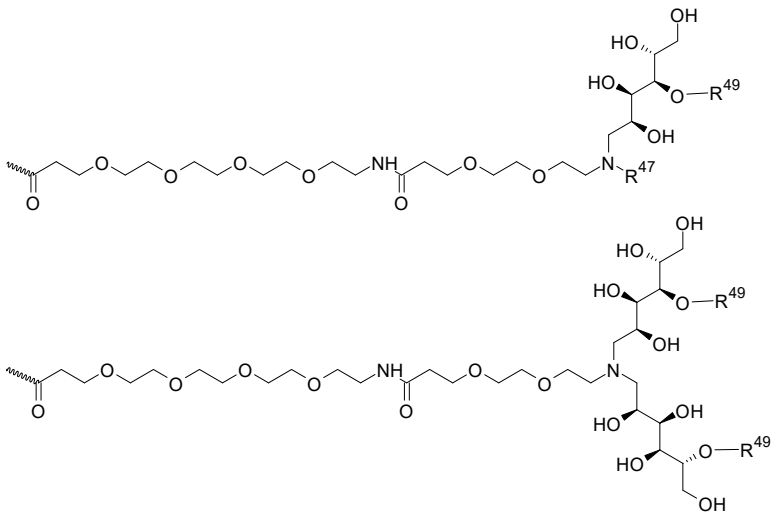


donde cada R^{45} se selecciona entre H y un monosacárido, un disacárido, o un polisacárido; y R^{46} se selecciona entre un monosacárido, disacárido, o polisacárido cíclico; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0369] Forma de realización 17. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido lineal sustituido, donde el monosacárido lineal sustituido está sustituido con un monosacárido, un disacárido o un polisacárido.

[0370] Forma de realización 18. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

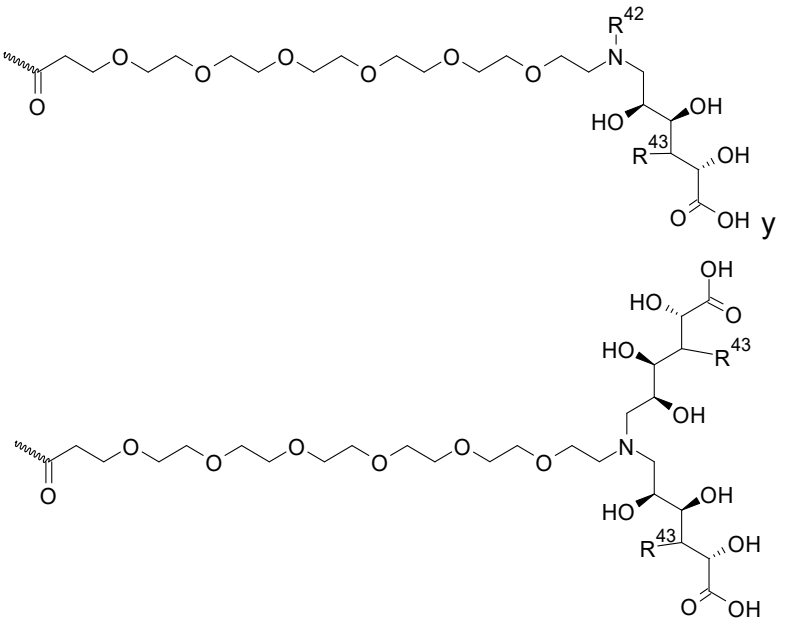




donde R^{47} es un monosacárido lineal; y cada R^{49} se selecciona entre un monosacárido, un disacárido y un polisacárido; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0371] Forma de realización 19. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido sustituido, donde el monosacárido lineal sustituido está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, O-alquilo, arilo, O-arilo, carboxilo, éster, o amida, y opcionalmente también está sustituido con un monosacárido, disacárido o un polisacárido.

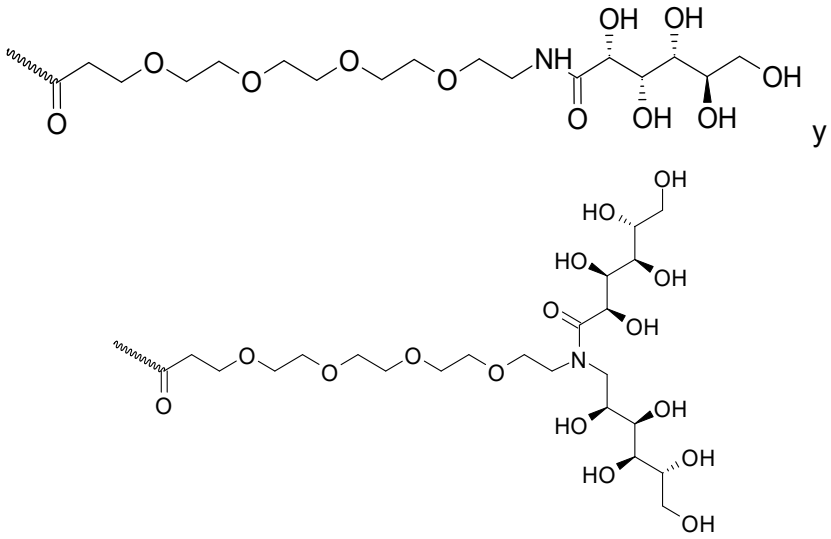
[0372] Forma de realización 20. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



donde cada R^{42} se selecciona independientemente entre un monosacárido lineal y un monosacárido lineal sustituido; cada R^{43} se selecciona independientemente entre alquilo, O-alquilo, arilo, O-arilo, carboxilo, éster, y amida; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0373] Forma de realización 21. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 7 a 8, donde uno de R^{24} y R^{25} es un grupo -C(O)-polihidroxilo o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, y el otro de R^{24} y R^{25} es un H, grupo -C(O)-polihidroxilo, grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, grupo polihidroxilo o grupo polihidroxilo sustituido; donde el grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido y el grupo polihidroxilo están sustituidos con un monosacárido, un disacárido, un polisacárido, alquilo, -O-alquilo, arilo, carboxilo, éster, o amida.

[0374] Forma de realización 22. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-21, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

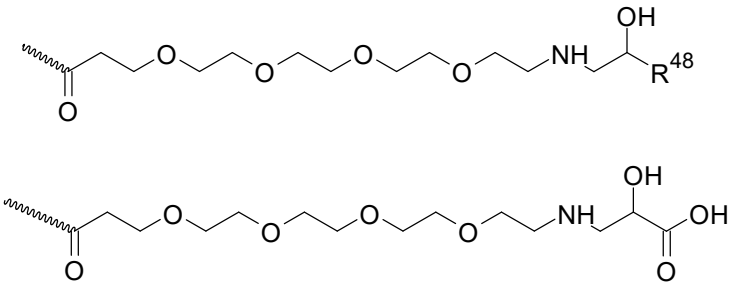


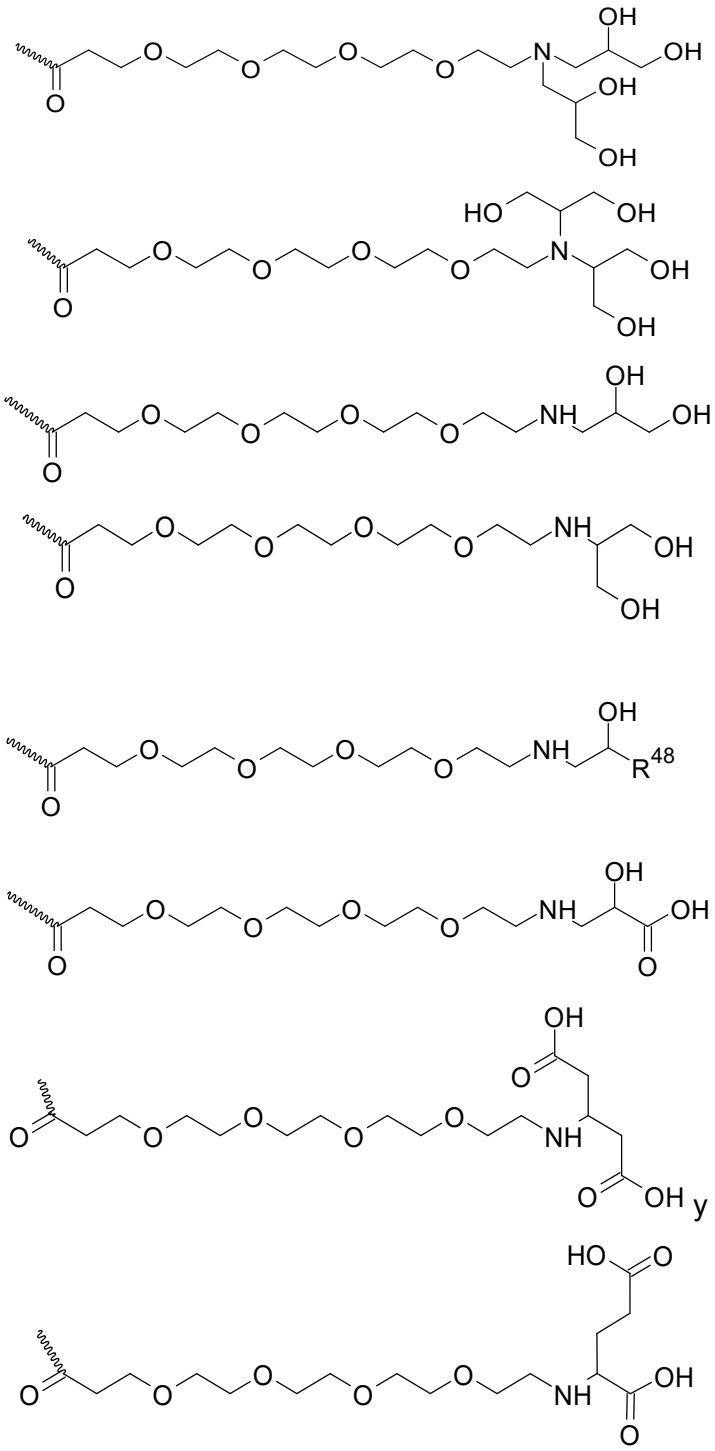
y

donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0375] Forma de realización 23. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente entre un H, -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo sustituido o -C_1-C_3 alquilo sustituido; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; donde -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo, y -C_1-C_3 alquilo están sustituidos con hidroxilo y/o carboxilo.

[0376] Forma de realización 24. El compuesto conector de la Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

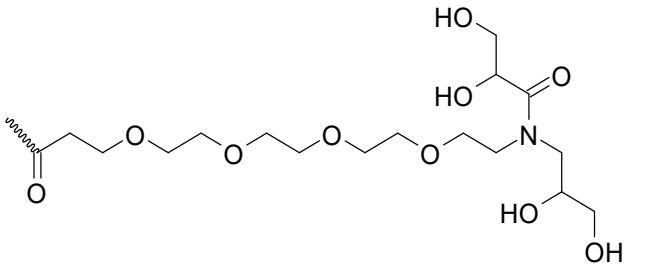


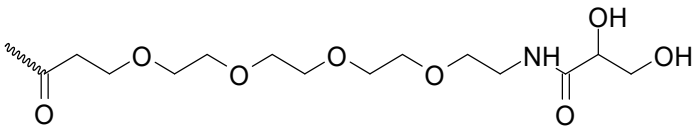


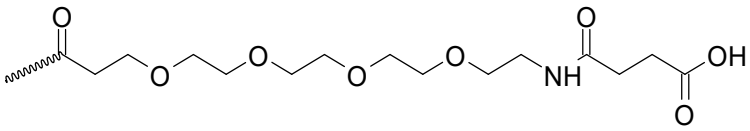
donde R^{48} se selecciona entre H, OH, CH_2OH, COOH o -C_1-C_6 alquilo sustituido con hidroxilo o carboxilo; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

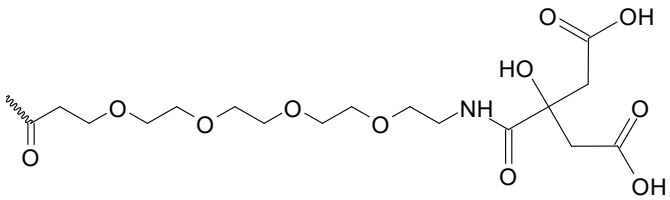
[0377] Forma de realización 25. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H, -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_4 alquilo sustituido, y -C(O)-C_1-C_3 alquilo sustituido y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_4 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_3 alquilo sustituido, -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo sustituido, y -C_1-C_3 alquilo sustituido, donde -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_4 alquilo sustituido, -C(O)-C_1-C_3 alquilo sustituido, -C_1-C_8 alquilo sustituido, -C_1-C_4 alquilo y -C_1-C_3 alquilo están sustituidos con hidroxilo y/o carboxilo.

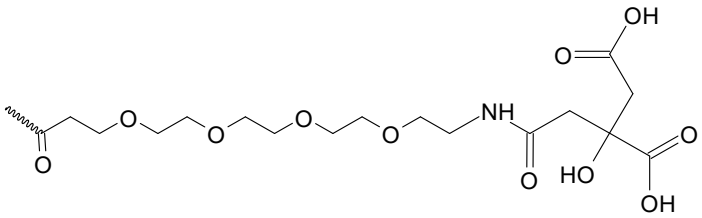
[0378] Forma de realización 26. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

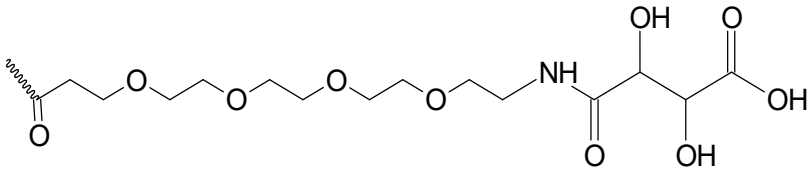


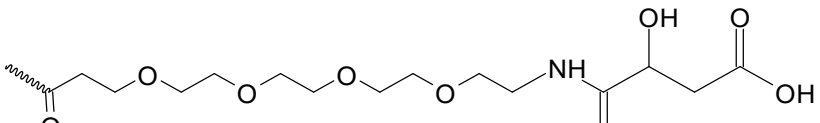


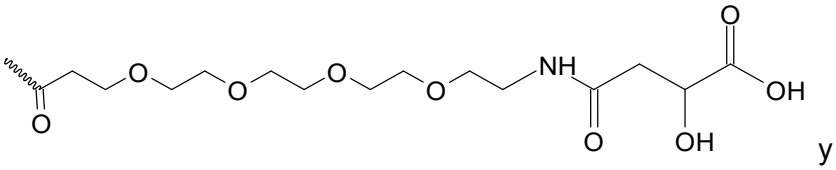




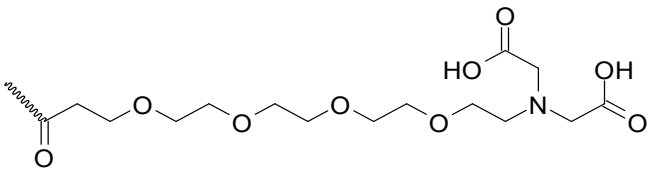








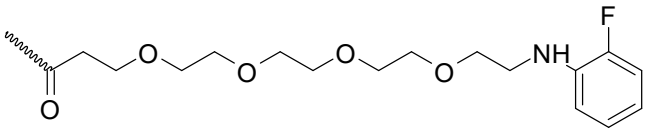
y

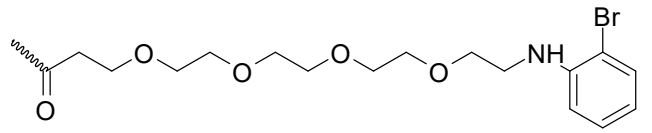


donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

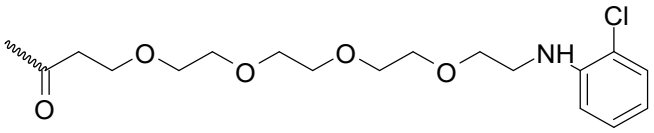
[0379] Forma de realización 27. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 6 a 8, donde R^{24} y R^{25} se seleccionan entre H y arilo opcionalmente sustituido; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H.

[0380] Forma de realización 28. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:





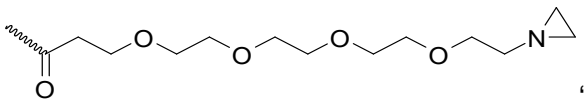
y



donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible .

[0381] Forma de realización 29. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} forman juntos un C_3-C_8 heterociclo o heteroarilo opcionalmente sustituido.

[0382] Forma de realización 30. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar que tiene la siguiente estructura:



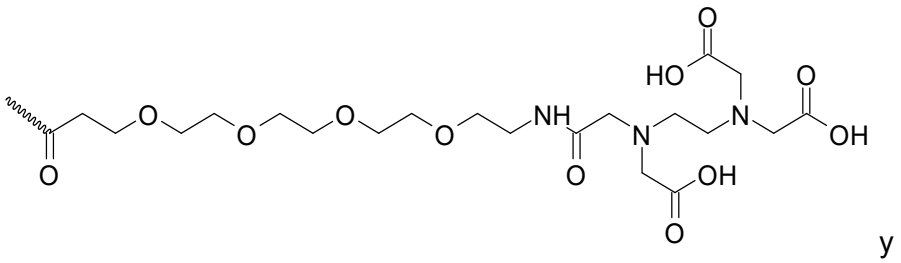
o un estereoisómero o una sal de la misma, donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0383] Forma de realización 31. El compuesto conector de la forma de realización 7 u 8, donde R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente entre H y un quelante, donde el quelante opcionalmente está unido al nitrógeno de $-NR^{24}R^{25}$ por medio de un alquileno, arileno, carbociclo, heteroarileno o heterocarbocilo; con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H.

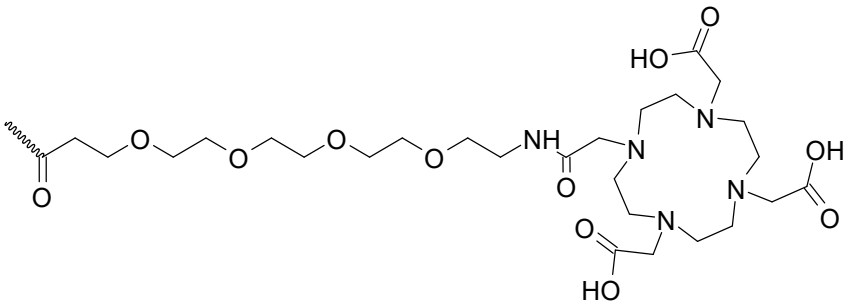
[0384] Forma de realización 32. El compuesto conector de la forma de realización 31, donde el quelante se selecciona entre ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido trietilentetraminohexaacético (TTHA), bencil-DTPA,

ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), bencil-DOTA, ácido 1,4,7-triazaciclononano-N,N',N''-triacético (NOTA), bencil-NOTA, ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetraacético (TETA) y N,N'-alquilo disustituido-piperazina.

[0385] Forma de realización 33. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-7, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:



y



donde la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0386] Forma de realización 34. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 6 a 21, donde cada monosacárido se selecciona independientemente entre:

un sacárido C5 o C6 seleccionado entre glucosa, ribosa, galactosa, manosa, arabinosa, 2-desoxiglucosa, gliceraldehído, eritrosa, treosa, xilosa, lixosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, aldosa, cetosa, glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina;

un sacárido ácido seleccionado entre ácido glucónico, ácido aldónico, ácido urónico y ácido ulosónico; o

un sacárido amino seleccionado entre glucosamina, N-acetilglucosamina, galactosamina, y N-acetilgalactosamina.

[0387] Forma de realización 35. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 34, donde el sitio de unión β está formado por un grupo funcional de un compuesto precursor del grupo polar, donde dicho grupo funcional se selecciona entre halo, aldehído, carboxilo, amino, alquinilo, azido, hidroxilo, carbonilo, carbamato, tiol, urea, tiocarbamato, tiourea, sulfonamida, acilsulfonamida, alquilsulfonato, triazol, azadibenzociclooctino, hidrazina, carbonilalquilheteroarilo, y formas protegidas de los mismos.

[0388] Forma de realización 36. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 35, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre las siguientes:

(a) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}R^{30}$ (XXX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^{30} se selecciona entre un C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; tiourea; tiourea opcionalmente sustituida; urea; urea opcionalmente sustituida; sulfamida; alquilsulfamida; acilsulfamida, alquilsulfamida opcionalmente sustituida; acilsulfamida opcionalmente sustituida; sulfonamida; sulfonamida opcionalmente sustituida; guanidina, incluyendo alquilguanidina y arilguanidina; fosforamida; o fosforamida opcionalmente sustituida; o R^{30} se selecciona entre azido, alquinilo, alquinilo sustituido, -NH-C(O)-alquinilo, -NH-C(O)-alquinil-R^{65}; ciclooctino; -NH-ciclooctino, -NH-C(O)-ciclooctino, o -NH-$(ciclooctino)_2$; donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

n20 es entre 2 y 26;

(b) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NH\text{-}C(O)\text{-}R^{31}$ (XXXI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo;

R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

n20 es entre 2 y 26;

(c) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NH\text{-}R^{31}$ (XXXII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde independientemente cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo;

R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se

selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido y heteroarilo opcionalmente sustituido; y

n20 es entre 2 y 26;

(d) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NR^{31}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$ (XXXIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{31} es H o R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H; y

n20 es entre 2 y 26;

(e) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N(R^{33}\text{-}R^{31})_2$ (XXXIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo;

R^{33} es C_1-C_3 alquileno, C_1-C_3 alquileno-C(O), -C(O)-C_1-C_3 alquileno, o -C(O)-C_1-C_3 alquileno-C(O);

R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y

n20 es entre 2 y 26;

(f) $\sim R^{20}\text{-}(R^{21}\text{-}[CH_2\text{-}CH(OR^{34})\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}R^{36})_{n25}$ (XXXV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

cada R^{21} es independientemente un enlace, -O- o grupo C_1-C_3 alquileno;

cada R^{34} es independientemente H, $-[CH_2\text{-}CH(OH)\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}R^{36}$, $-C(O)\text{-}NR^{24}R^{25}$ o $-C(O)N(R^N)\text{-}C_1\text{-}C_6$alquileno-$NR^{24}R^{25}$;

R^N es H o C_1-C_4alquilo;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo

polihidroxilo; o grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H;

cada R^{36} es independientemente H, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-$NR^{44}R^{45}$, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-C_1-C_6alquileno-$NR^{44}R^{45}$, -C(O)-$NR^{24}R^{25}$, -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$, C_1-C_6alquileno-C(O)$NR^{24}R^{25}$ o C_1-C_6alquileno-CO_2R^{37};

cada R^{37} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

R^{44} y R^{45} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H;

cada n20 es independientemente entre 1 y 26; y

n25 es 1 o 2;

(g) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}[CH(OH)]_{n23}\text{-}CH_2\text{-}O]_{n21}]_{n22}\text{-}R^{23}\text{-}NR^{24}\text{-}R^{25}$

(XXXVI)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21}, R^{22} y R^{23} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H;

cada n20 es independientemente entre 0 y 26, y cada n21 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos uno de n20 o n21 es entre 2 y 26;

n22 es entre 1 y 5;

cada n23 es independientemente 1 o 2;

(h) $\sim R^{20}\text{-}(R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N(R^N)\text{-}CO_2\text{-}[CH_2\text{-}CH(OR^{34})\text{-}CH_2\text{-}O]_{n21}\text{-}R^{36})_{n25}$

(XXXVII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^N es H o C_1-C_4alquilo;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; o grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H;

cada R^{34} es independientemente H, $-[CH_2\text{-}CH(OH)\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}R^{36}$ o -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$;

cada R^{36} es independientemente H, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-$NR^{44}R^{45}$, C_1-C_6alquileno-C(OH)H-C_1-C_6alquileno-$NR^{44}R^{45}$, -C(O)N(R^N)-C_1-C_6alquileno-$NR^{24}R^{25}$, C_1-C_6alquileno-C(O)$NR^{24}R^{25}$ o C_1-C_6alquileno-CO_2R^{37};

cada R^{37} es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

R^{44} y R^{45} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; con la condición de que R^{44} y R^{45} no son ambos H;

n20 es entre 2 y 26;

n21 es entre 1 y 26; y

n25 es 1 o 2;

(i) $\sim R^{20}\text{-}(R^{21}\text{-}[N(R^N)\text{-}C(O)\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH(OH)\text{-}CH_2]_{n20}]_{n21}\text{-}R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25})_{n25}$

(XXXVIII)

o un estereoisómero o una sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

R^N es H o C_1-C_4alquilo;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; o grupo polihidroxilo sustituido, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H;

n20 es entre 2 y 26;

n21 es entre 1 y 4; y

n25 es 1, 2 o 3;

(j) $\sim R^{20}\text{-}(R^{21}\text{-}[C(R^\alpha)H\text{-}C(O)\text{-}N(R^N)]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}NR^{24}R^{25})_{n25}$

(XXXIX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno,-C_1-C_3alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$, -$[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-$C_1$-$C_3$alquileno- o -$C_1$-$C_3$alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$-C(O)-;

cada R^α es independientemente H o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o -R^{22}-$NR^{24}R^{25}$;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H;

cada n20 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n20 es entre 2 y 26; y

n25 es 1 o 2; o

(k) $\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}\text{-}NR^{24}R^{25}$

$R^{21}\text{-}[C(R^{\alpha})H\text{-}C(O)\text{-}N(R^{N})]_{n21}\text{-}R^{22}\text{-}[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n21}\text{-}R^{23}\text{-}CO_2\text{-}R^{26}$

(XXXVX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{21}, R^{22} y R^{23} son independientemente entre sí un enlace, C_1-C_3 alquileno,-C_1-C_3alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$, $-[CH_2\text{-}CH_2\text{-}O]_{n20}$-$C_1$-$C_3$alquileno- o -$C_1$-$C_3$alquileno-$[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}]_{n20}$-C(O)-;

cada R^{α} es independientemente H o $-R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$;

cada R^N es independientemente H, C_1-C_6 alquilo o $-R^{22}\text{-}NR^{24}R^{25}$;

R^{24} y R^{25} se seleccionan independientemente en cada caso entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; $-C(O)\text{-}R^{28}$, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); o $-NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo, con la condición de que R^{24} y R^{25} no son ambos H;

R^{26} es H o C_1-C_6 alquilo;

cada n20 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n20 es entre 2 y 26; y

cada n21 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n21 es entre 2 y 26.

[0389] Forma de realización 37. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 36, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre las siguientes, o un estereoisómero o sal de las mismas:

$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}NH\text{-}C(O)\text{-}R^{31}$ (XXXI),

$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}C(O)NH\text{-}R^{31}$ (XXXII), y

$\sim R^{20}\text{-}R^{21}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n20}\text{-}R^{22}\text{-}N\text{-}(R^{33}\text{-}R^{31})_2$ (XXXIII);

donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

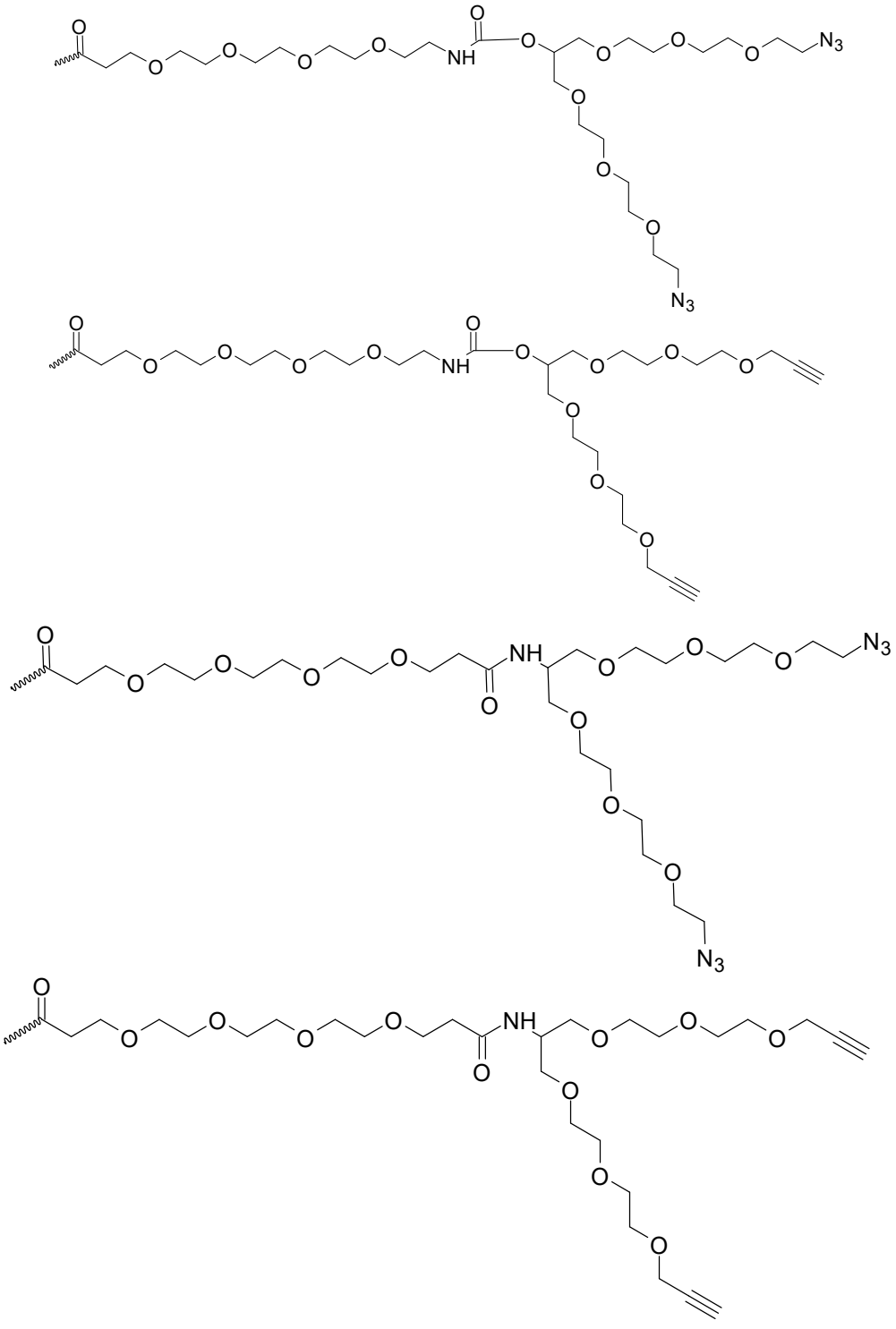
R^{21} y R^{22} son independientemente entre sí un enlace o grupo C_1-C_3 alquileno;

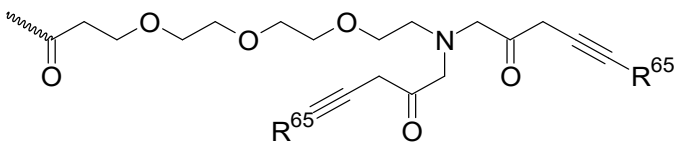
R^{31} es una cadena polietilenglicol ramificada, donde cada ramificación tiene entre 1 y 26 subunidades etilenglicol y donde cada ramificación tiene un R^{35} en su extremo;

R^{33} es C_1-C_3 alquileno, -C_1-C_3 alquileno-C(O), -C(O)-C_1-C_3 alquileno o -C(O)-C_1-C_3 alquileno-C(O);

R^{35} es azido, alquinilo, alquinil-R^{65}, ciclooctino o ciclooctino-R^{65}, donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; la línea ondulada (~) indica un sitio de unión a R^{20}; y n20 es entre 2 y 26.

[0390] Forma de realización 38. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-37, que comprende un grupo polar formado por un grupo precursor seleccionado entre los siguientes:





donde R^{65} se selecciona entre alquilo opcionalmente sustituido, alquenilo opcionalmente sustituido, alquinilo opcionalmente sustituido, carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heterocarbociclo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido; y la línea ondulada es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0391] Forma de realización 39. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 36 a 38, donde el sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible está formado por un grupo funcional de un compuesto precursor del grupo polar, donde dicho grupo funcional se selecciona entre halo, aldehído, carboxilo, amino, alquinilo, azido, hidroxilo, carbonilo, carbamato, tiol, urea, tiocarbamato, tiourea, sulfonamida, acilsulfonamida, alquilsulfonato, triazol, azadibenzociclooctino, hidrazina, carbonilalquilheteroarilo, y formas protegidas de los mismos.

[0392] Forma de realización 40. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-39, que comprende un grupo polar que tiene la fórmula:

$$\sim R^{20}\text{-}(R^{43}\text{-}R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42} \qquad \text{(XL)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno;

cada R^{43} es, independientemente, un enlace o se selecciona entre C_1-C_{12} alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -NH-C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C(O)-NH-C_1-C_{12} alquileno, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, o -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_{12} alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno;

R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato; n40 es entre 2 y 26;

n41 es entre 1 y 6; y

n42 es entre 1 y 6.

[0393] Forma de realización 41. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-40, que comprende un grupo polar que tiene la fórmula:

$$\sim R^{20}\text{-}(R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42} \qquad \text{(XLI)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno;

R^{43} es un enlace o se selecciona entre C_1-C_{12} alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -NH-C(O)-C_1-C_{12} alquileno, C(O)-NH-C_1-C_{12} alquileno, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, o -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_{12} alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno;

R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato; n40 es entre 1 y 26;

n41 es entre 1 y 6; y

n42 es entre 1 y 6.

[0394] Forma de realización 42. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-41, que comprende un grupo polar que tiene la fórmula:

$$\sim R^{20}\text{-}(R^{41}\text{-}[O\text{-}CH_2\text{-}CH_2]_{n40}\text{-}R^{42}\text{-}R^{43}\text{-}(NR^{44}R^{45})_{n41})_{n42} \qquad \text{(XLII)}$$

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{20} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_3 alquileno;

R^{43} es un enlace o se selecciona entre C_1-C_6 alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_6 alquileno-NH-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno, -C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_6 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_6 alquileno-NH-, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -NH-C(O)-C_1-C_6 alquileno, -C(O)-NH-C_1-C_{12} alquileno, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_6 alquileno, heteroaril-C_1-C_6 alquileno-C(O)-, o -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_6 alquileno y el otro es C_1-C_{12} alquileno;

R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato; n40 es entre 1 y 16;

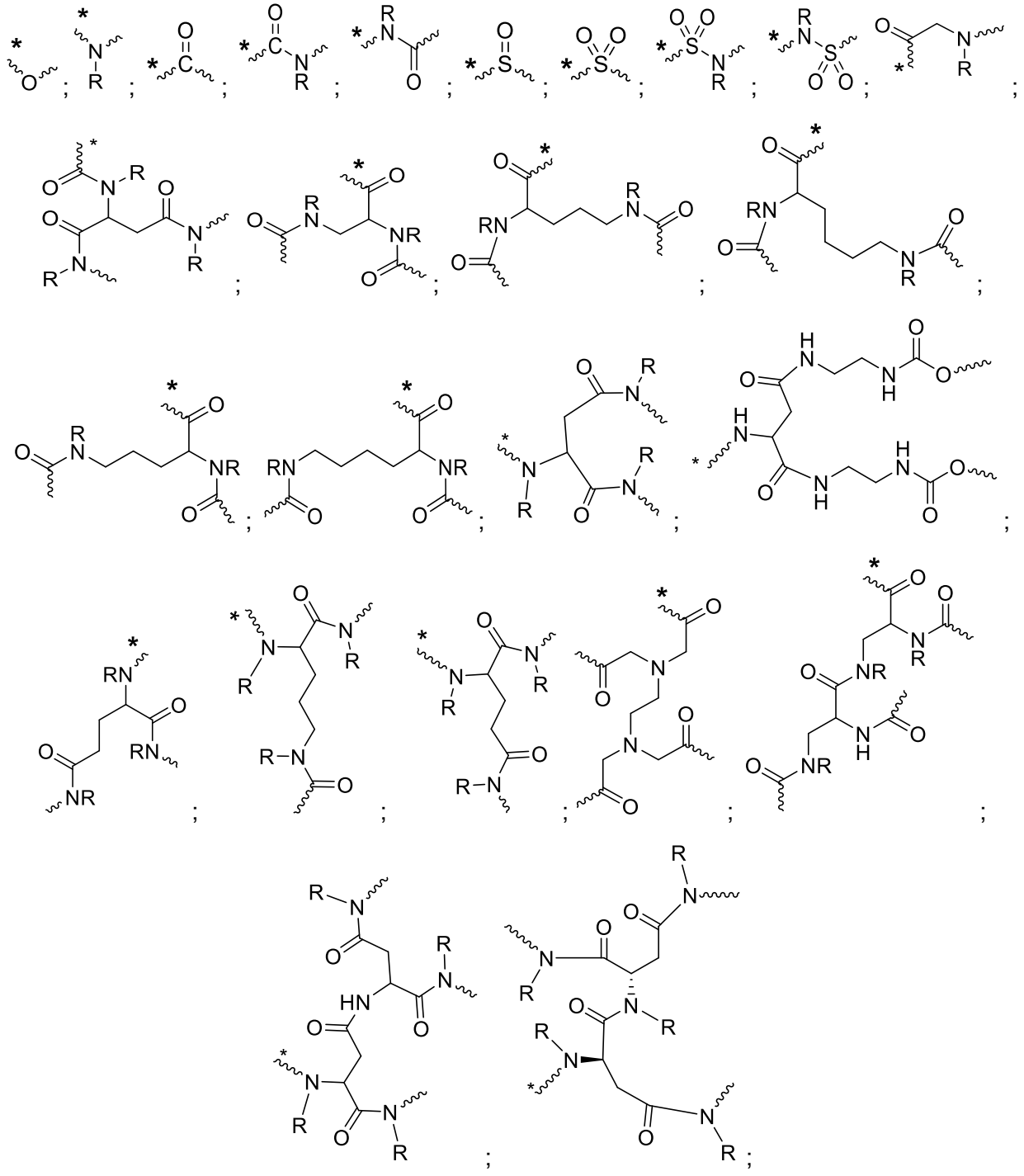
n41 es entre 1 y 4; y

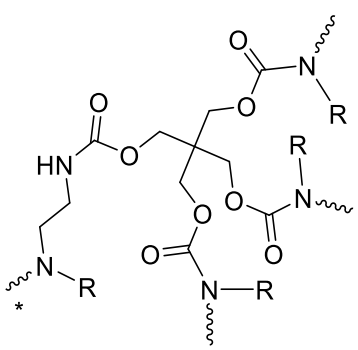
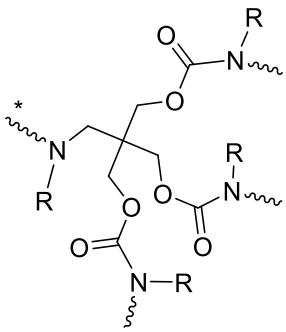
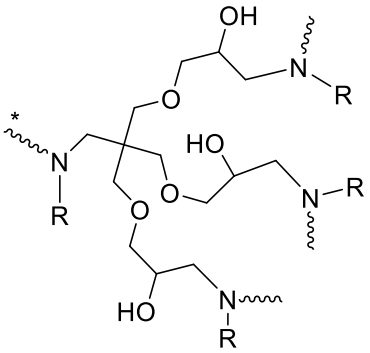
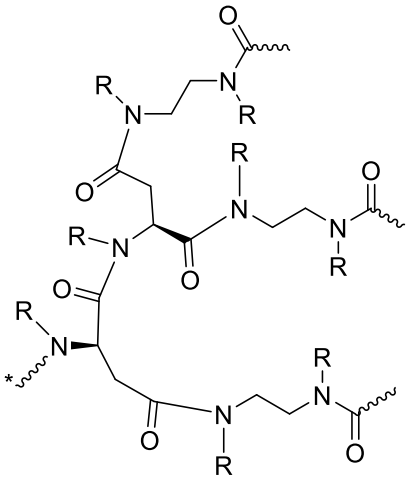
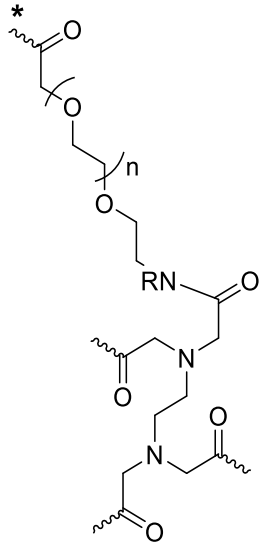
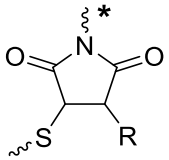
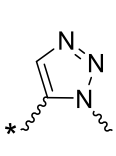
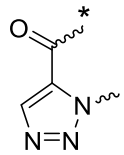
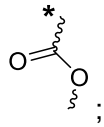
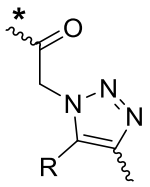
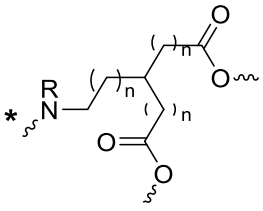
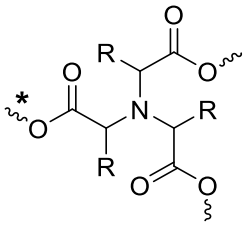
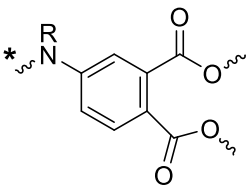
n42 es entre 1 y 4.

[0395] Forma de realización 43. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 7, 36, 37 y 40-42, donde R^{20} está formado por un grupo funcional de un compuesto precursor del grupo polar, donde dicho grupo funcional se selecciona entre halo, aldehído, carboxilo, amino, alquinilo, azido, hidroxilo, carbonilo, carbamato, tiol, urea, tiocarbamato, tiourea, sulfonamida, acilsulfonamida, alquilsulfonato, triazol, azadibenzociclooctino, hidrazina,

carbonilalquilheteroarilo, o formas protegidas de los mismos.

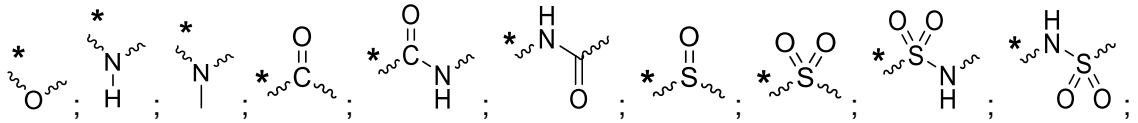
[0396] Forma de realización 44. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 7, 36, 37 y 40-42, donde R^{20} comprende una de las siguientes estructuras:

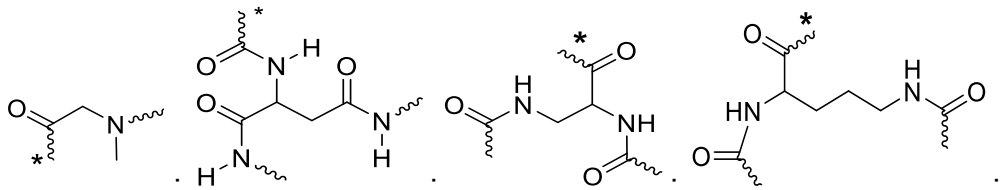


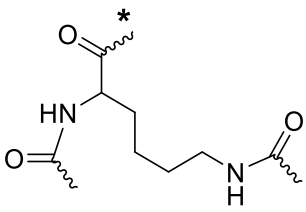
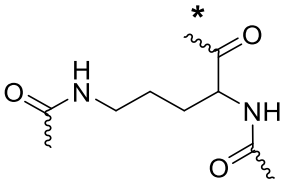
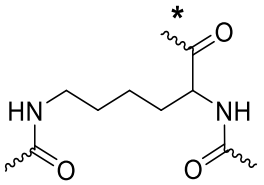
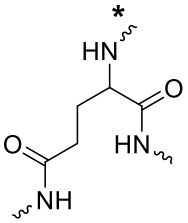
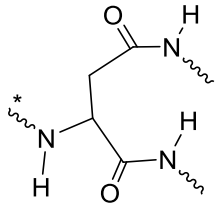
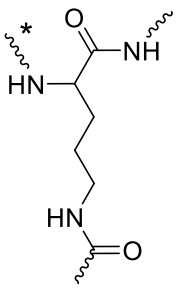
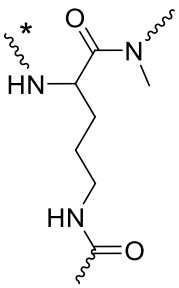
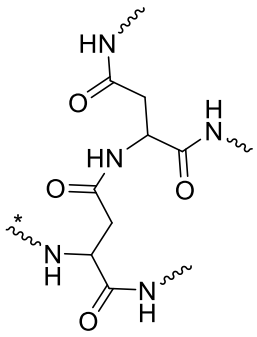
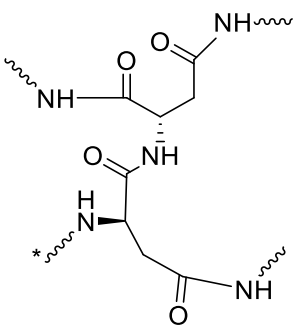
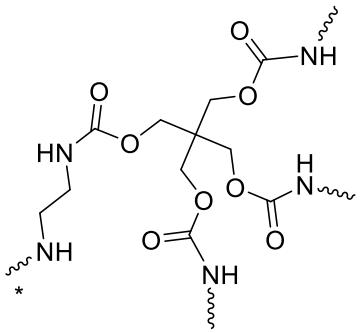
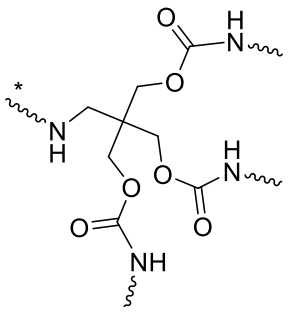
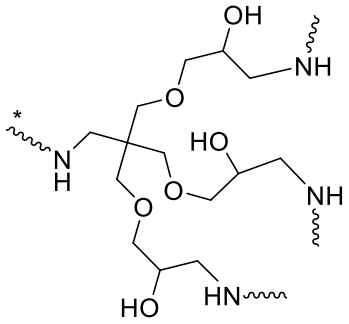
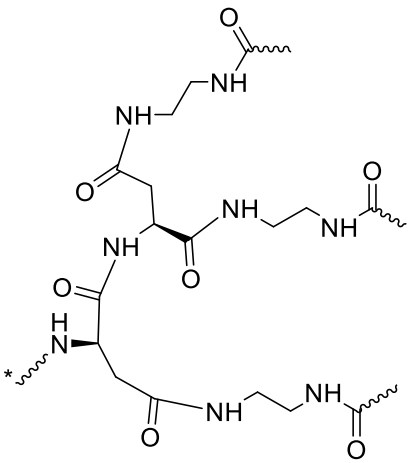
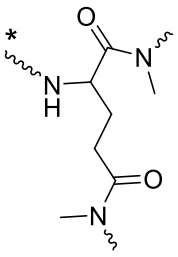
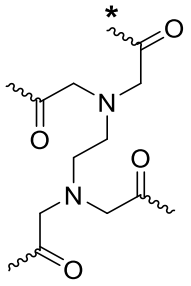

;

;

;

;

;

;

;

;

;

,

;

; o

,

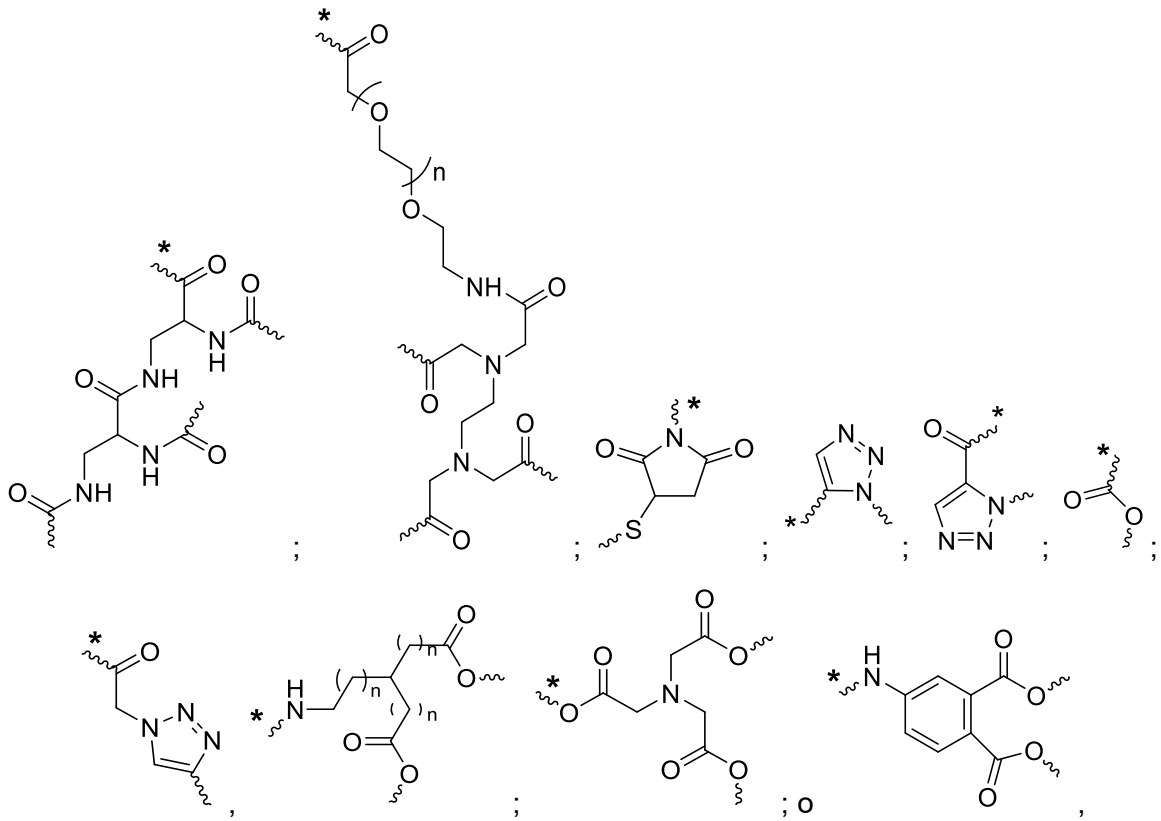
o un estereoisómero de las mismas, donde R es H, C_1-C_6 alquilo o grupo polihidroxilo, n es entre 0 y 12, (〰 *) indica un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible, y (〰) indica un sitio de unión a la porción restante del grupo polar.

[0397] <u>Forma de realización 45</u>. El compuesto de cualquiera de las Formas de realización 7, 36, 37 y 40-42, donde R^{20} tiene una de las siguientes estructuras:



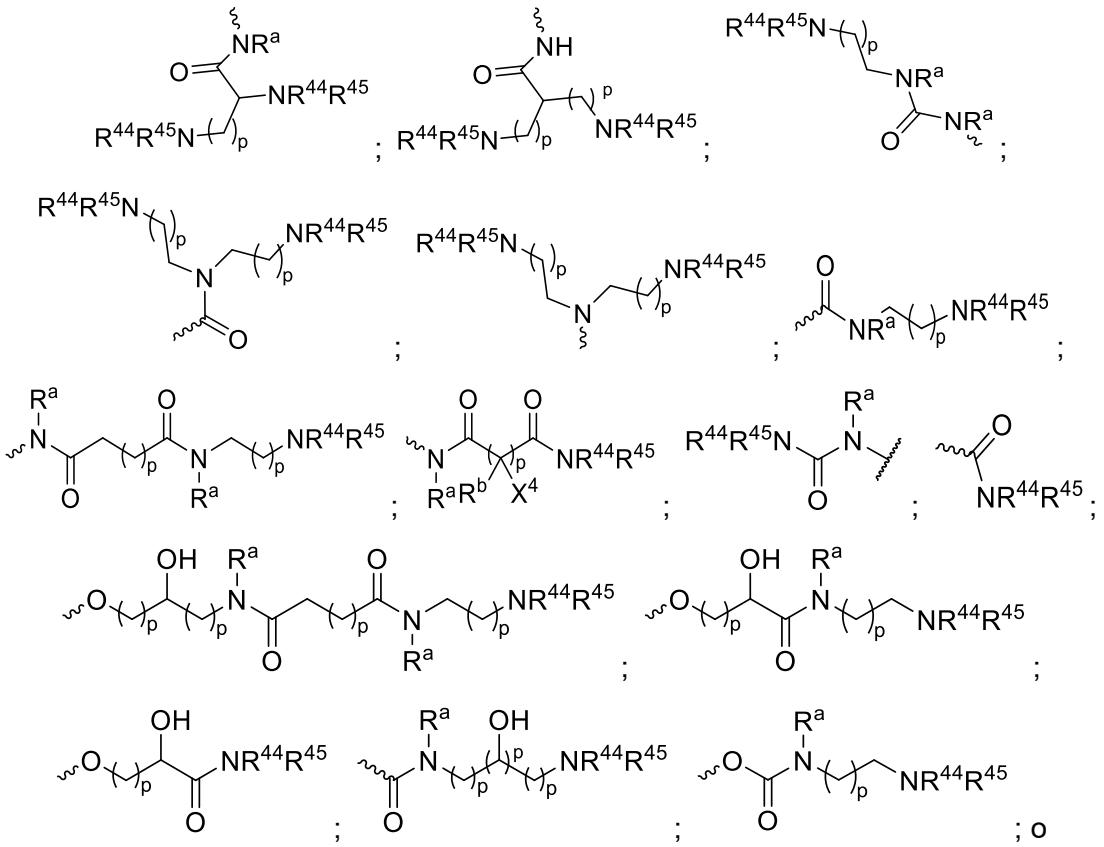


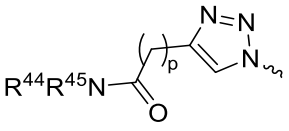

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;



o un estereoisómero de las mismas, donde n = 0 a 12, (〰 *) indica un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible, y (〰) indica un sitio de unión a la porción restante del grupo polar.

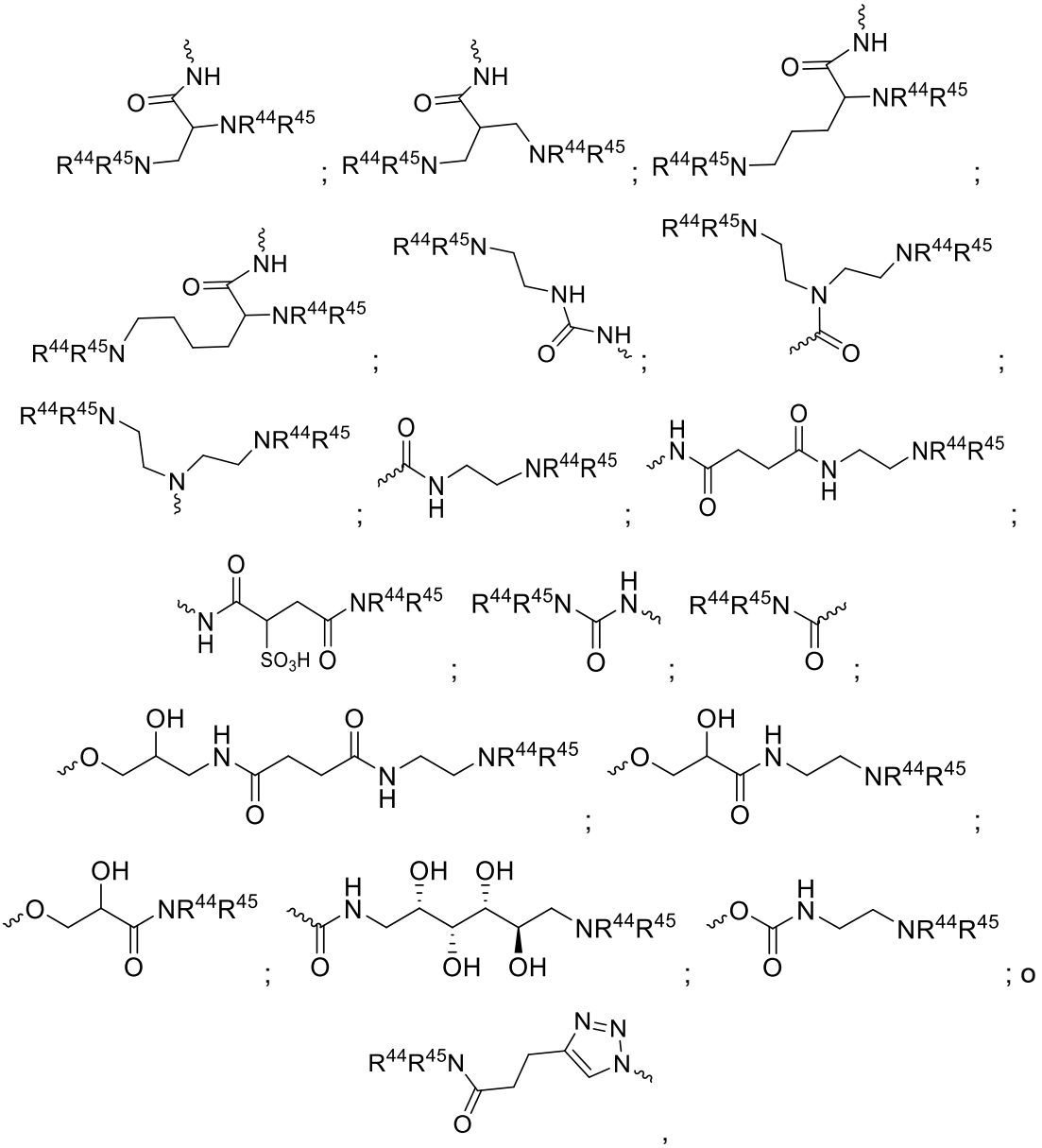
[0398] Forma de realización 46. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 40-45, donde R^{43}-$(NR^{44}R^{45})_{n41}$ tiene una de las siguientes estructuras:





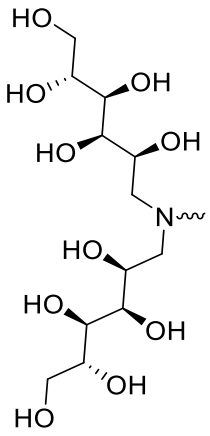
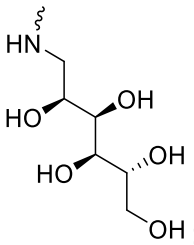
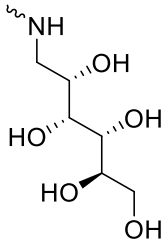
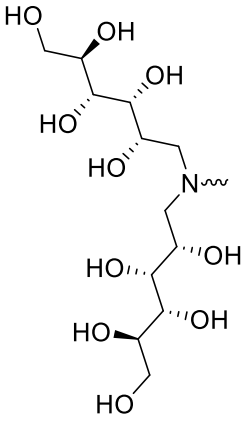
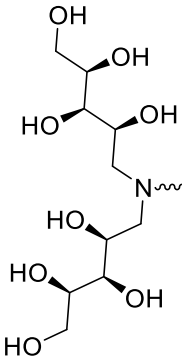
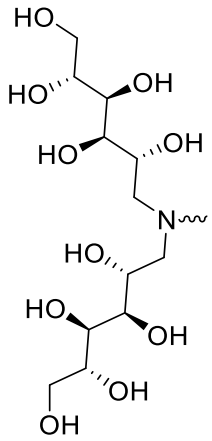
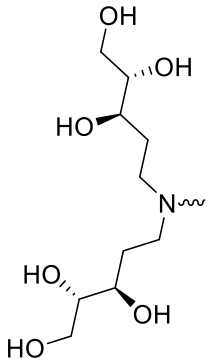
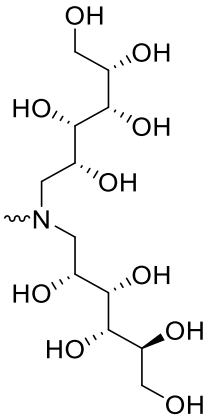
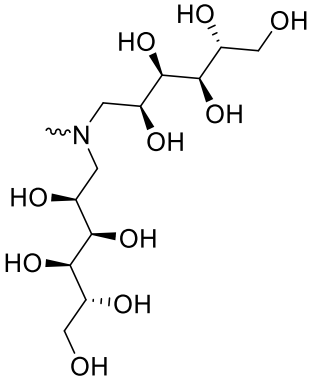
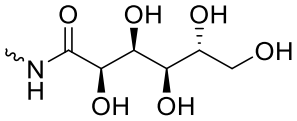
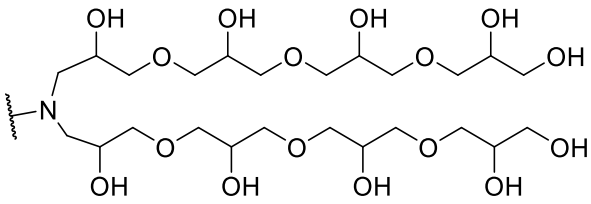
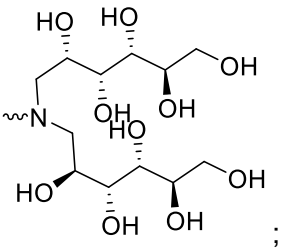
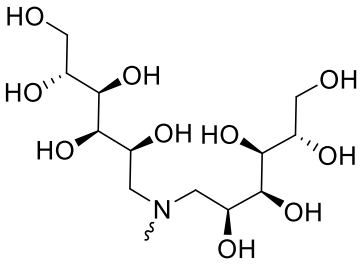
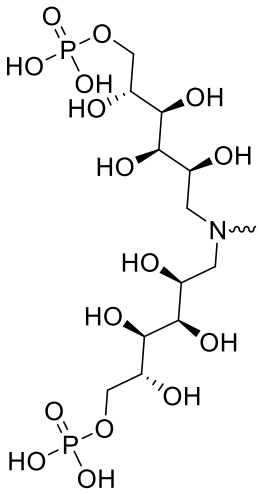
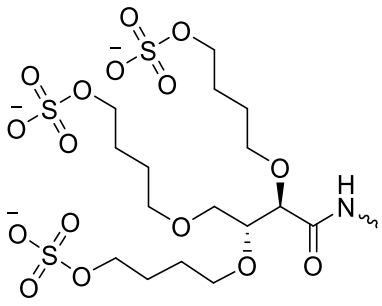
o un estereoisómero de las mismas, donde R = H, C_1-C_6 alquilo, un grupo polihidroxilo, o un grupo polihidroxilo sustituido; y (〰) indica el sitio de unión de R^{43} al resto del grupo polar.

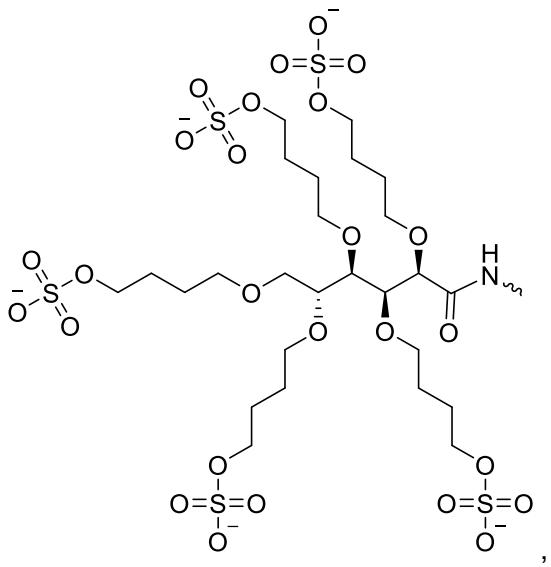
[0399] Forma de realización 47. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 40-45, donde R^{43}-$(NR^{44}R^{45})_{n41}$ tiene una de las siguientes estructuras:



o un estereoisómero de las mismas, donde (〰) indica el sitio de unión de R^{43} al resto del grupo polar.

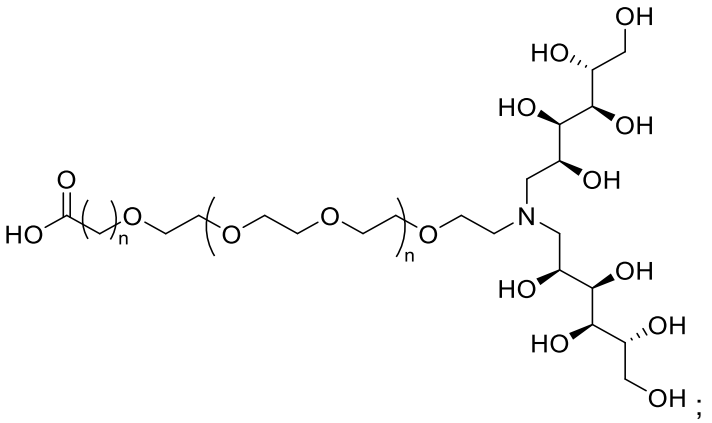
[0400] Forma de realización 48. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 40-47, donde -$NR^{44}R^{45}$ tiene una de las siguientes estructuras:

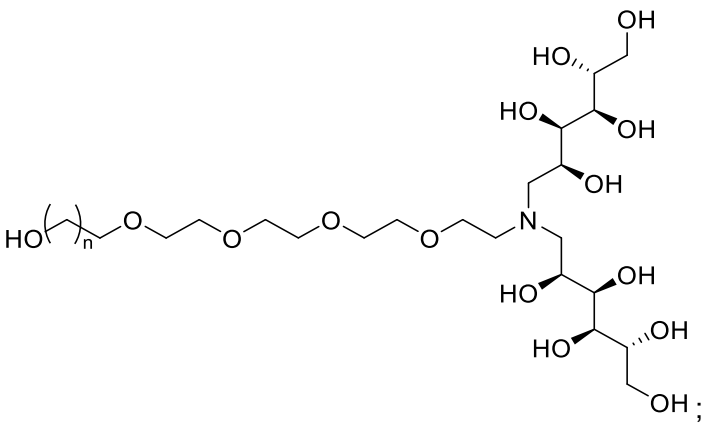

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

; o

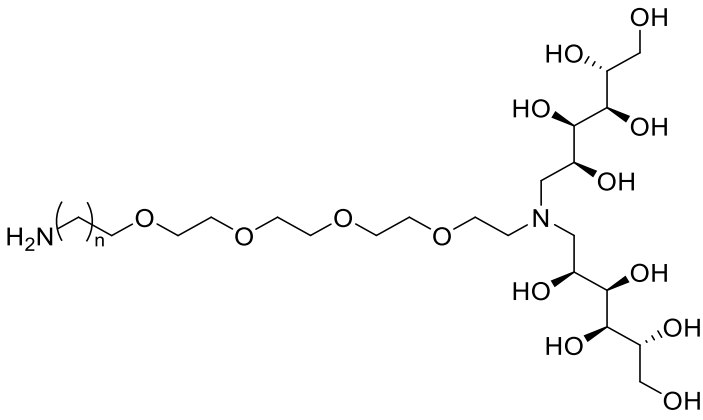


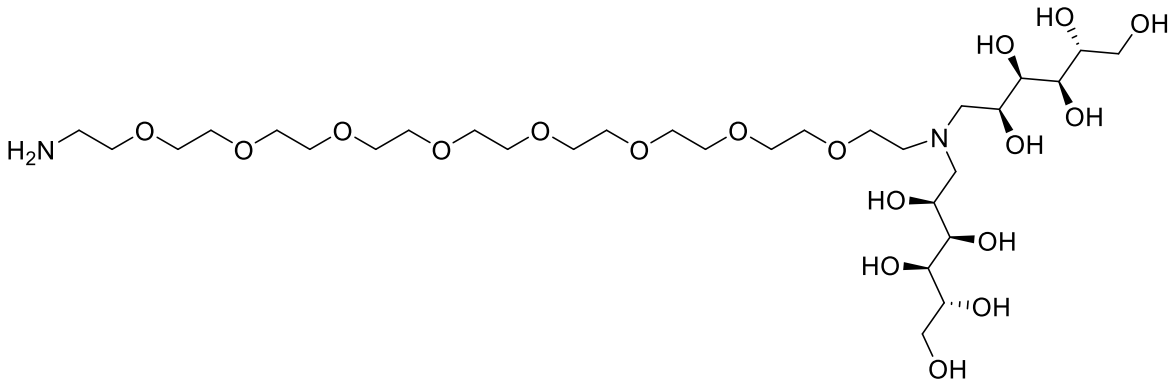
o un estereoisómero de las mismas, donde ( ) indica el sitio de unión de -$NR^{44}R^{45}$ al resto del grupo polar.

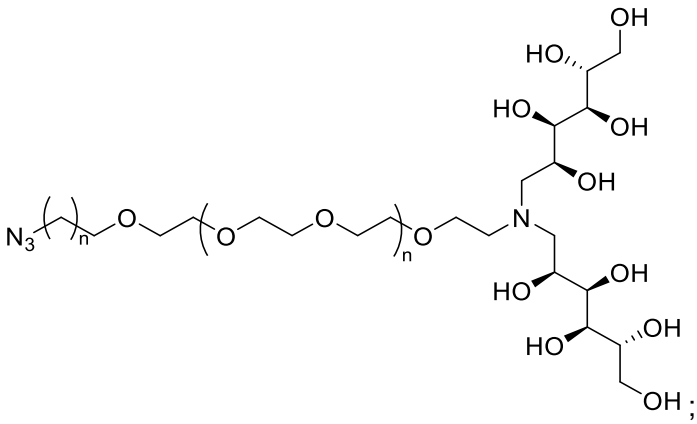
[0401] Forma de realización 49. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-48, que comprende un grupo polar que tiene una de las siguientes estructuras antes de unirse a la unidad conectora:

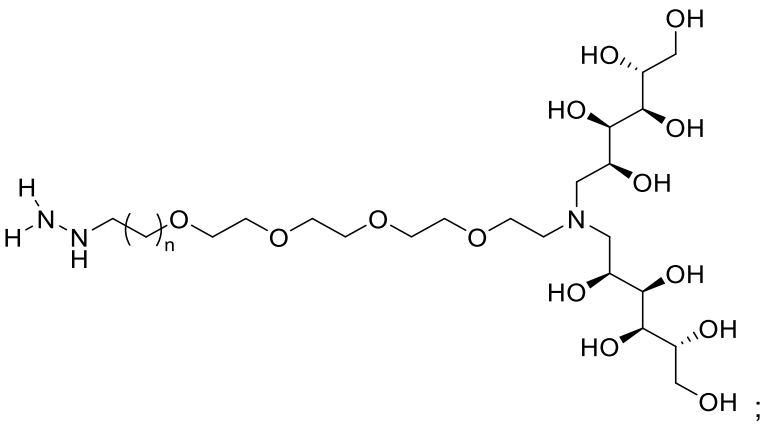


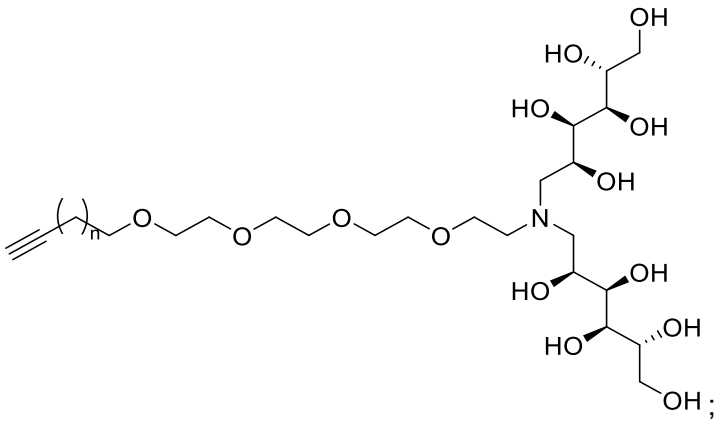


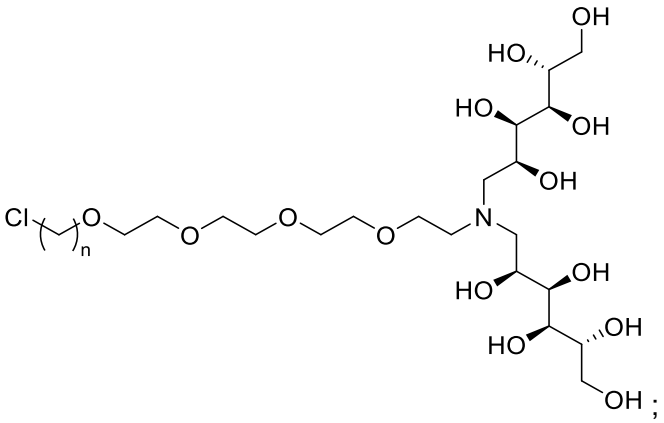


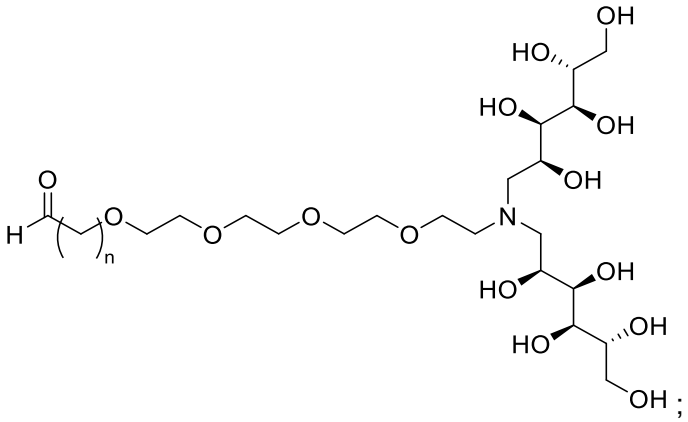


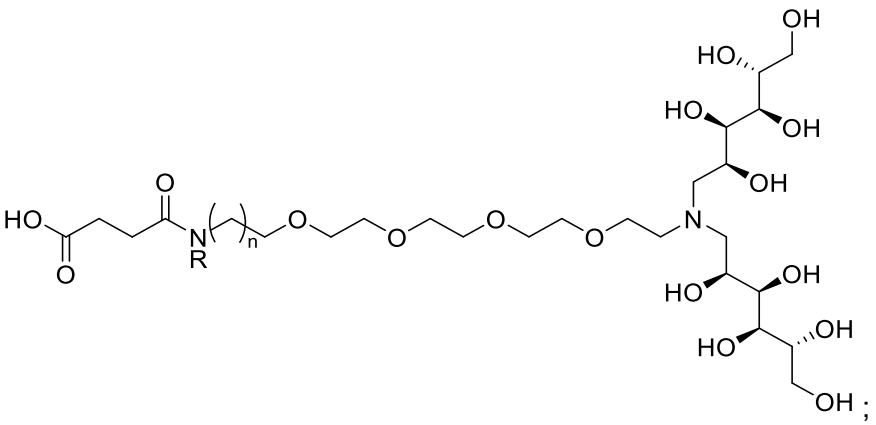


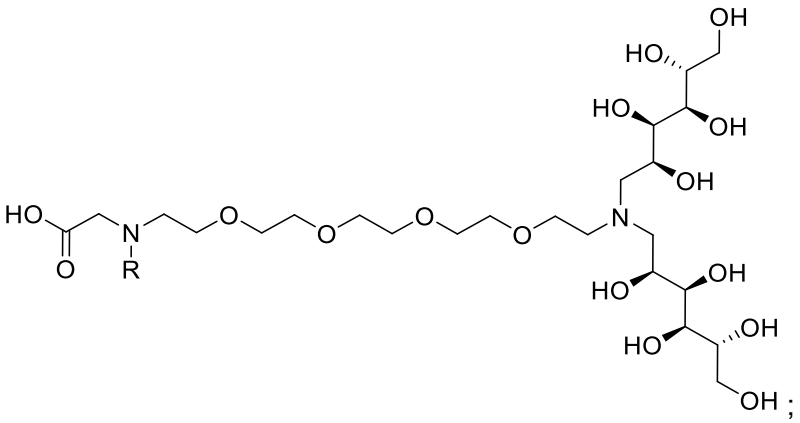


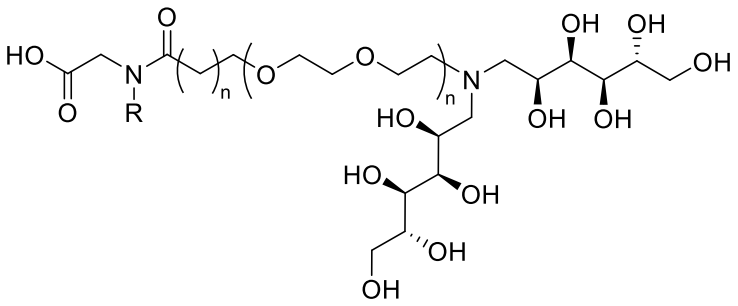




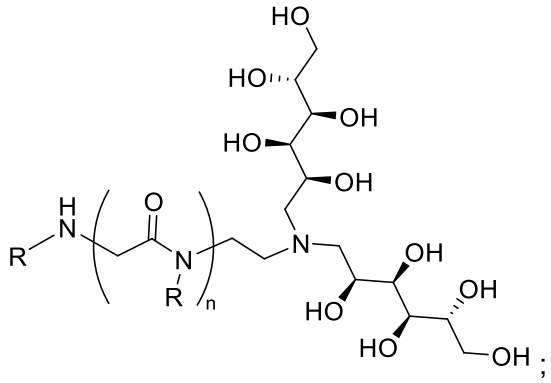




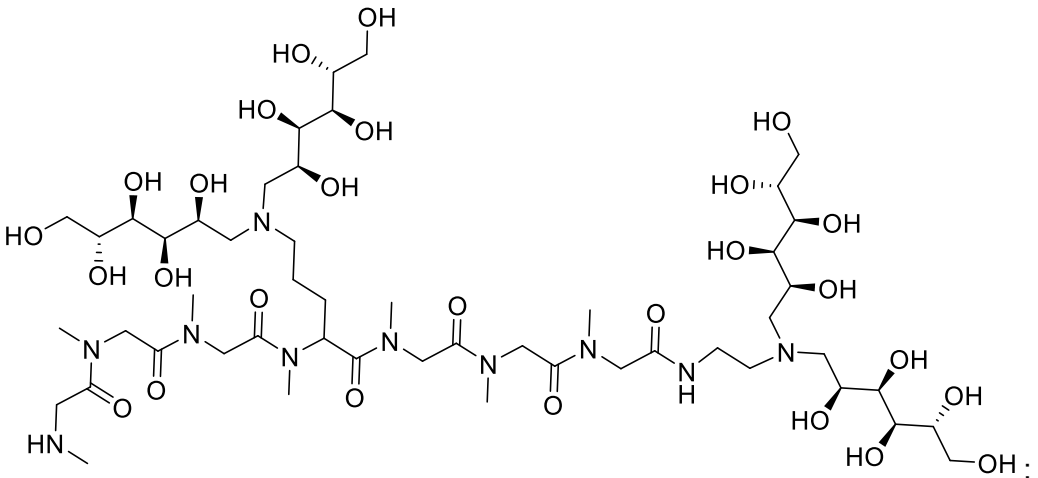




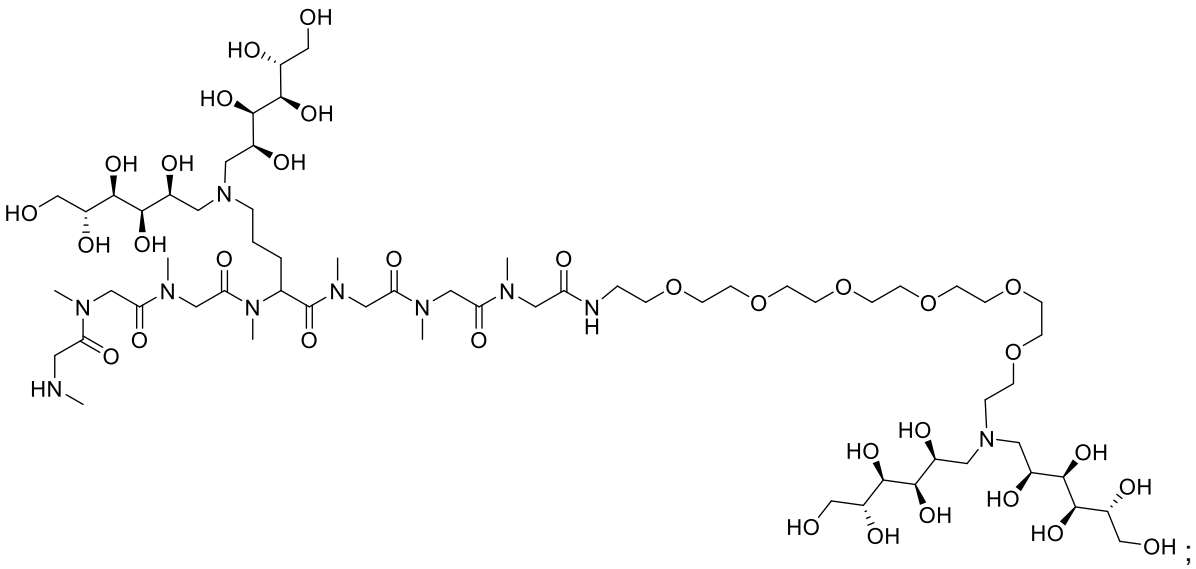
;



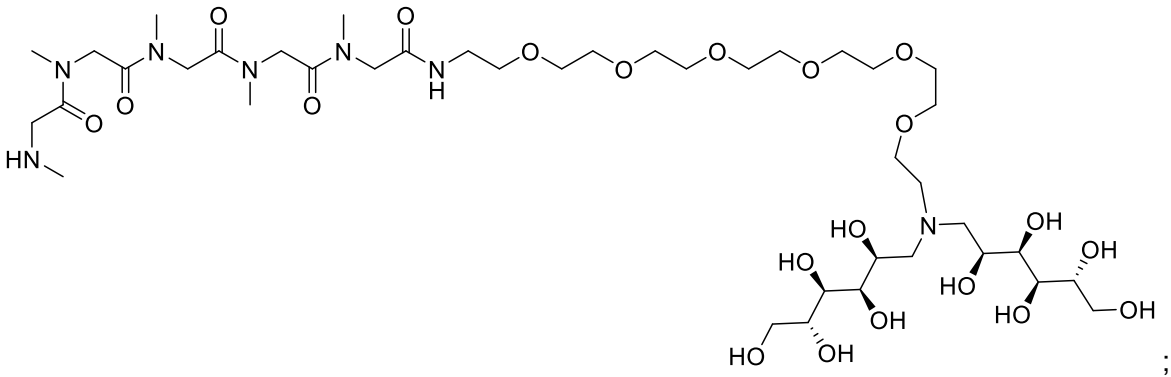
;



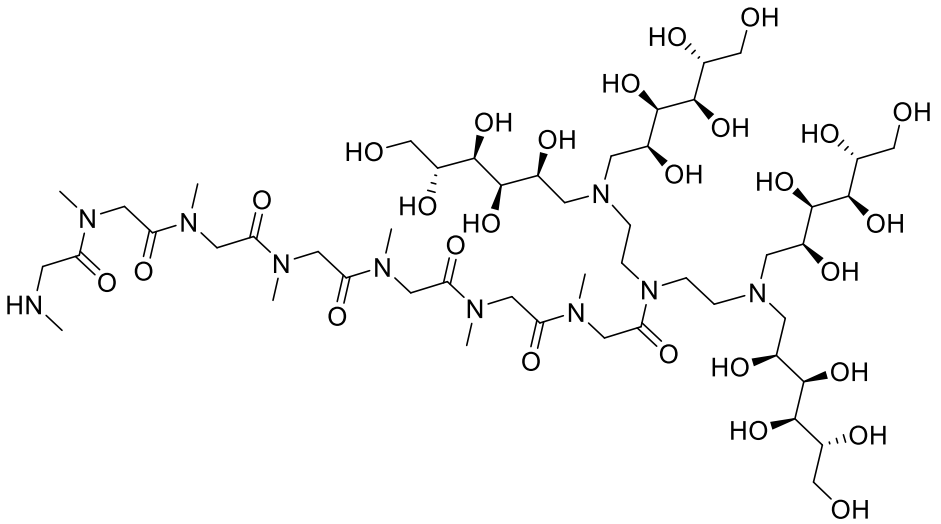
;



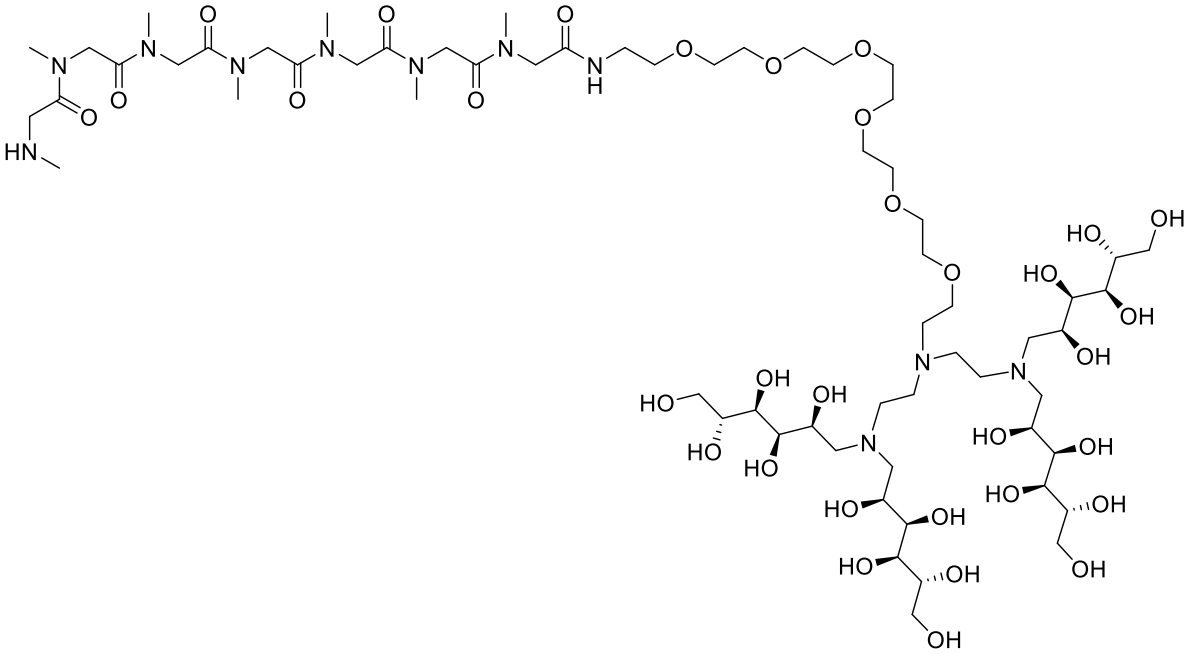
;



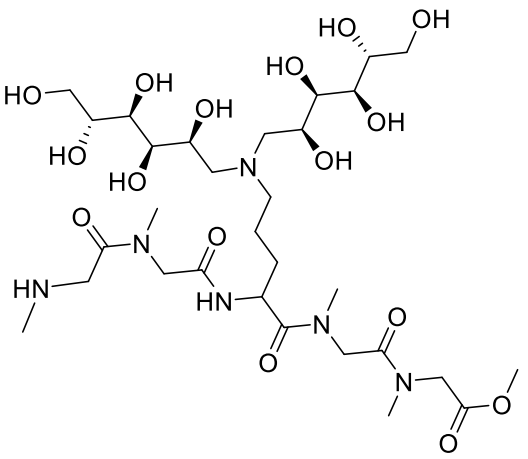
;



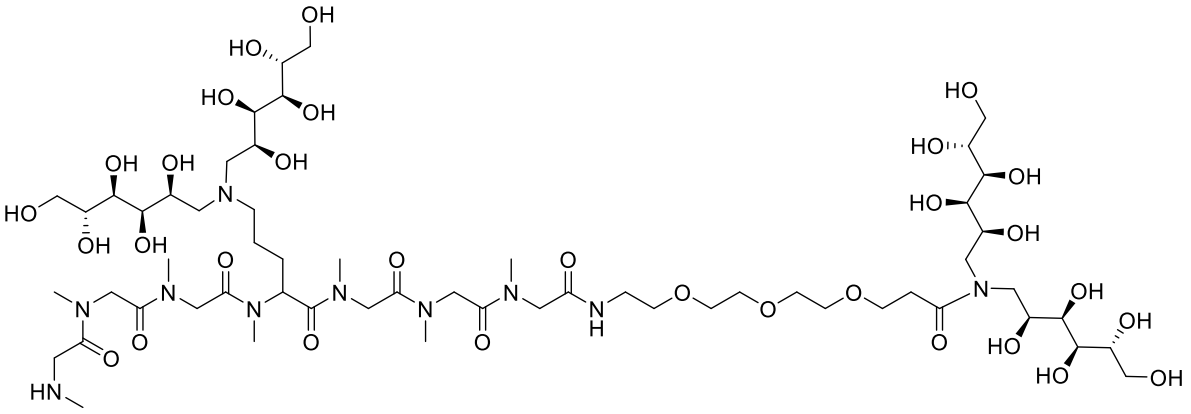
;



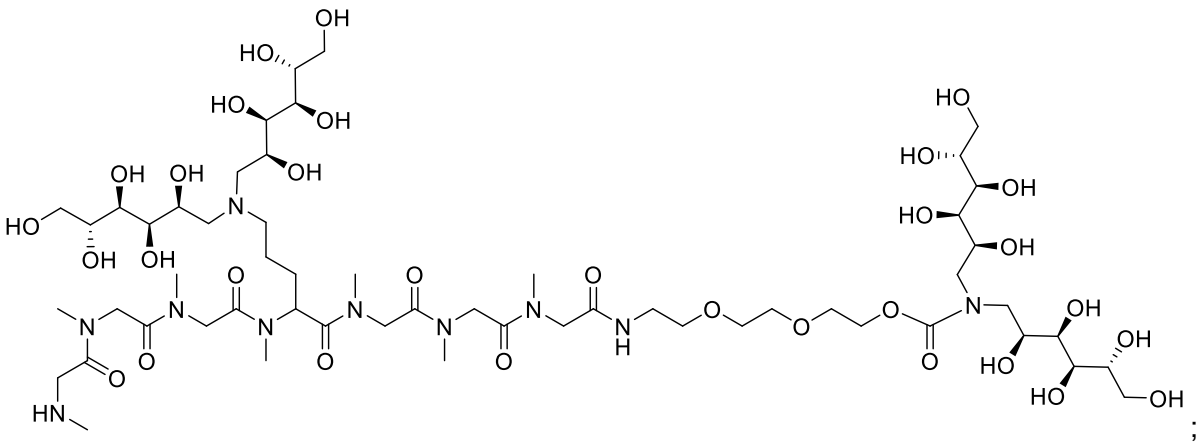
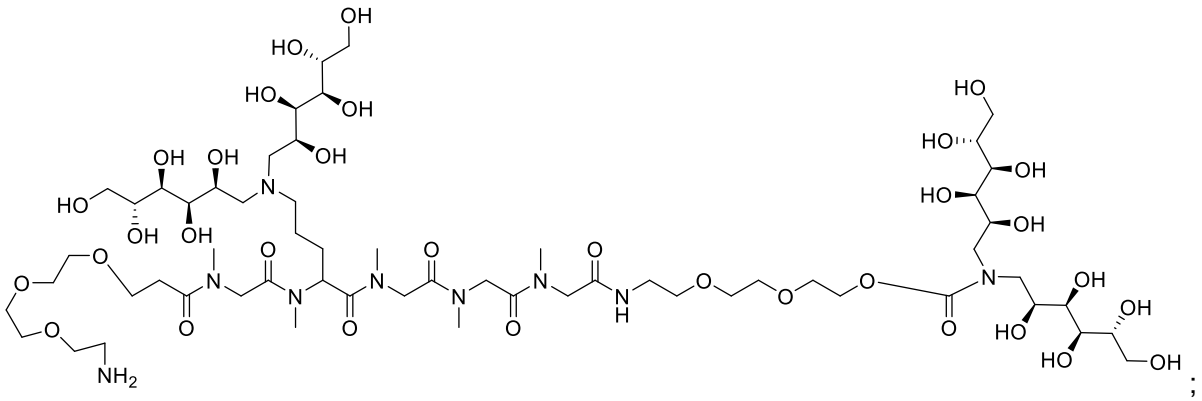
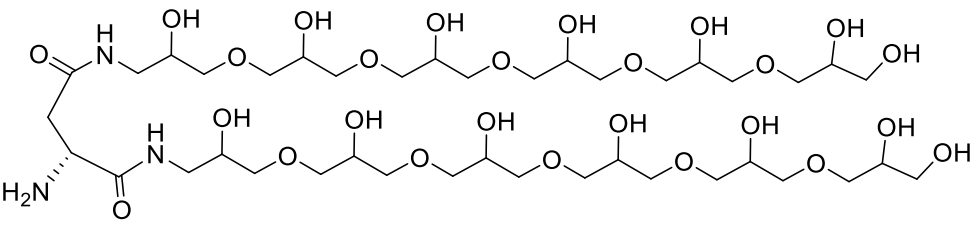
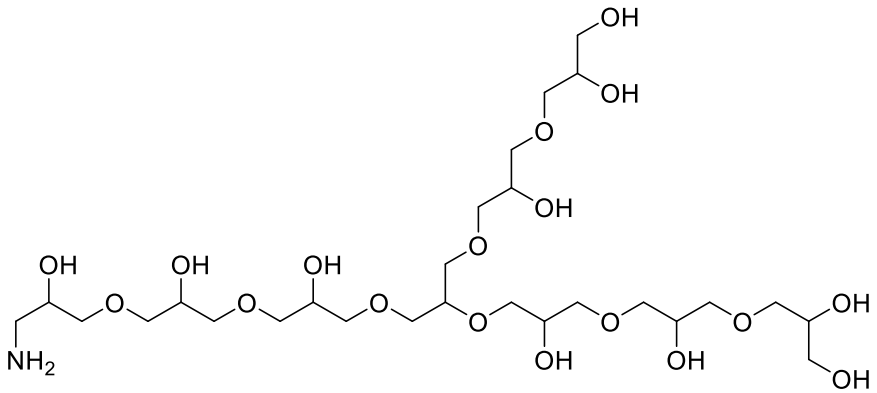
;

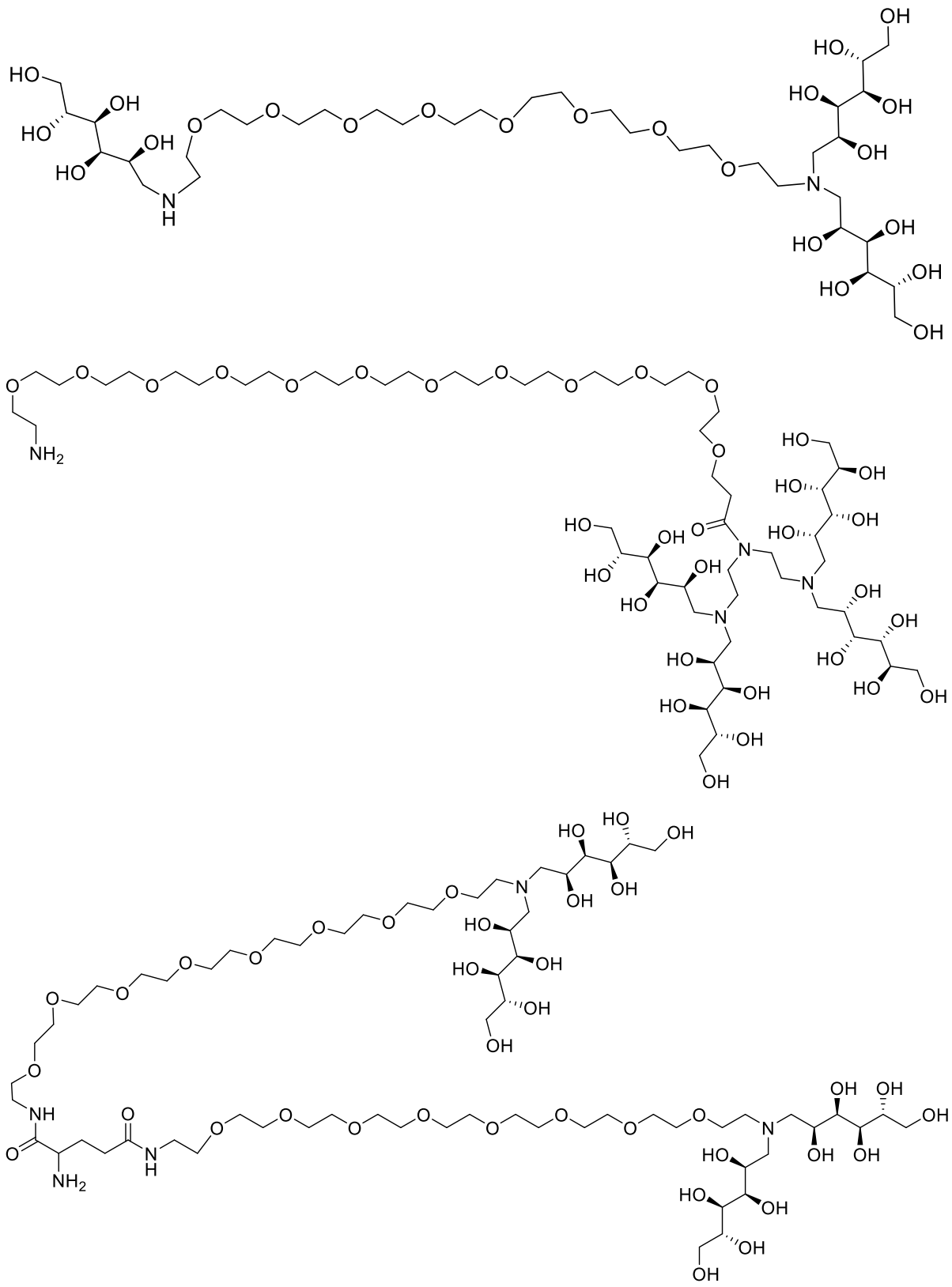


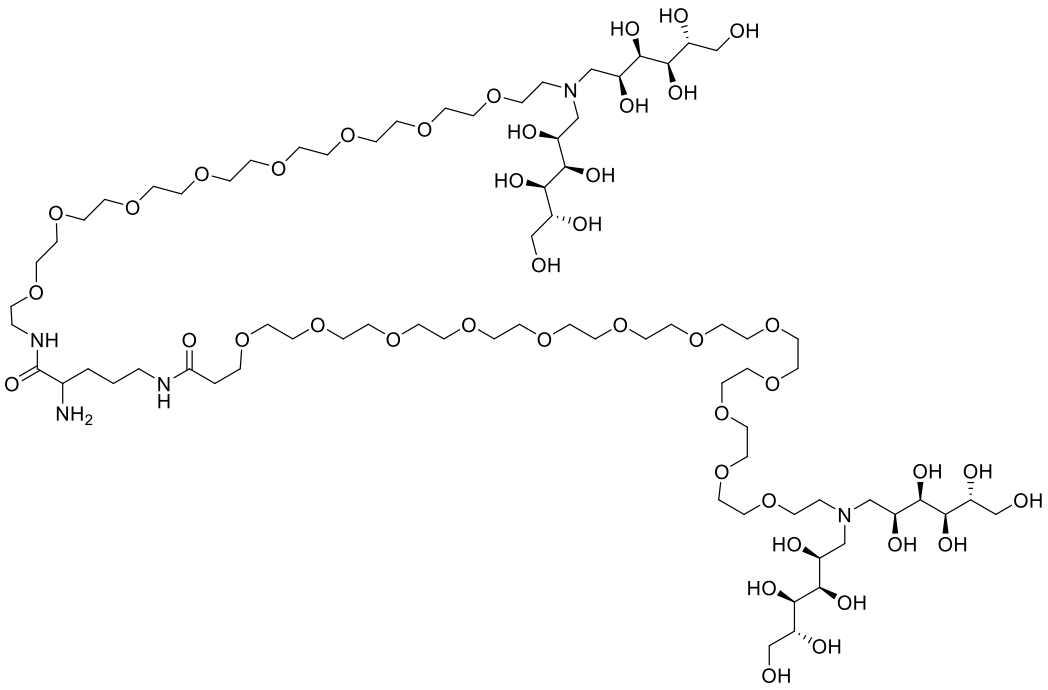
;

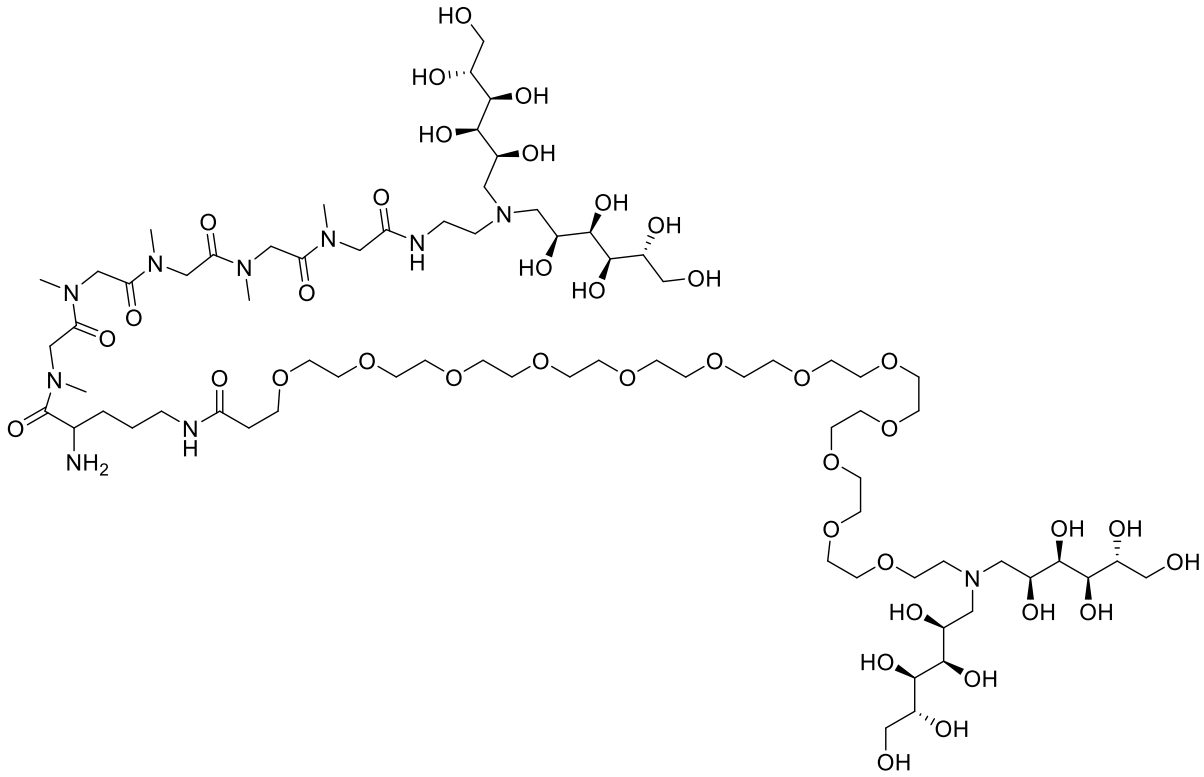


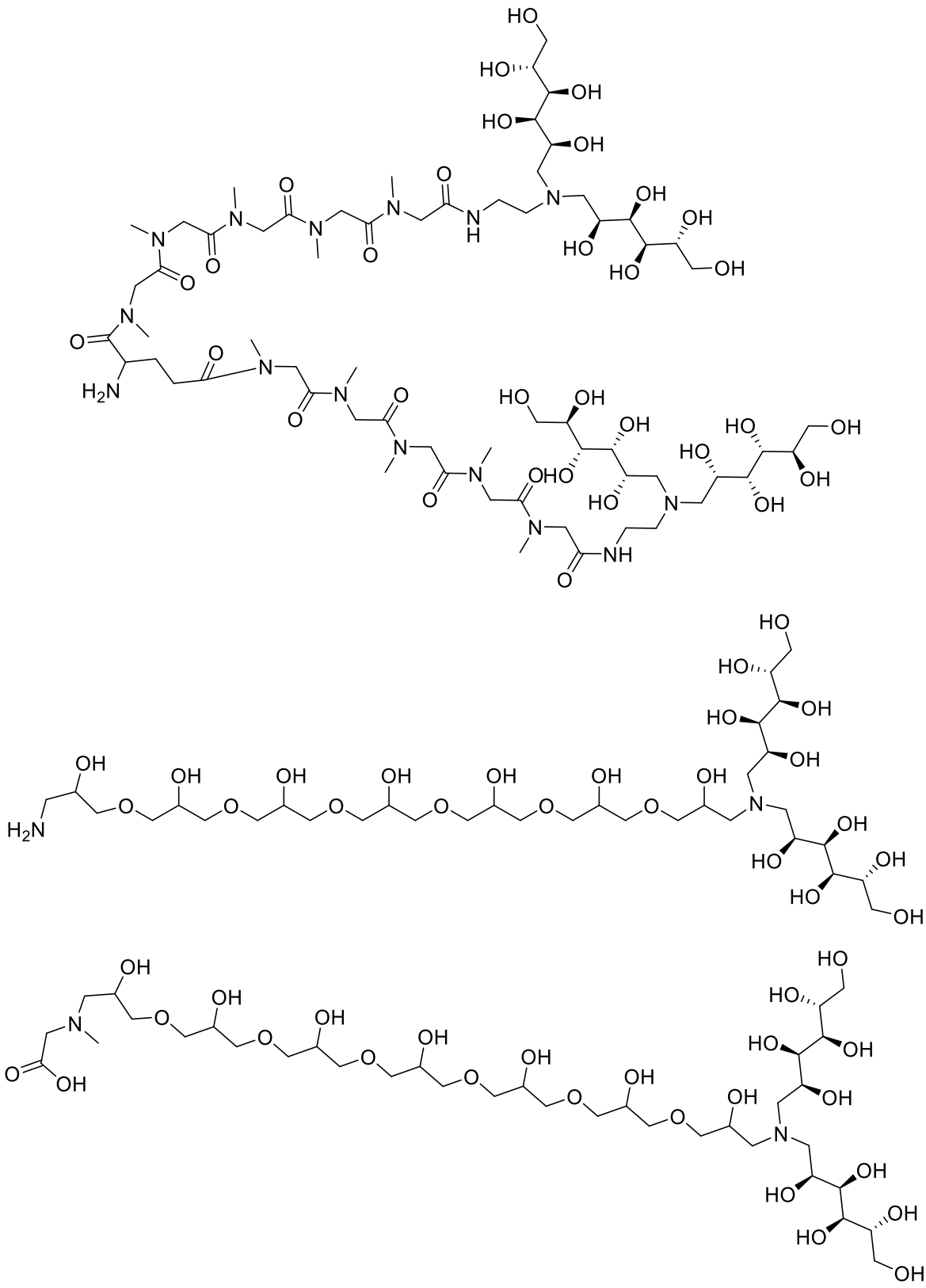
;

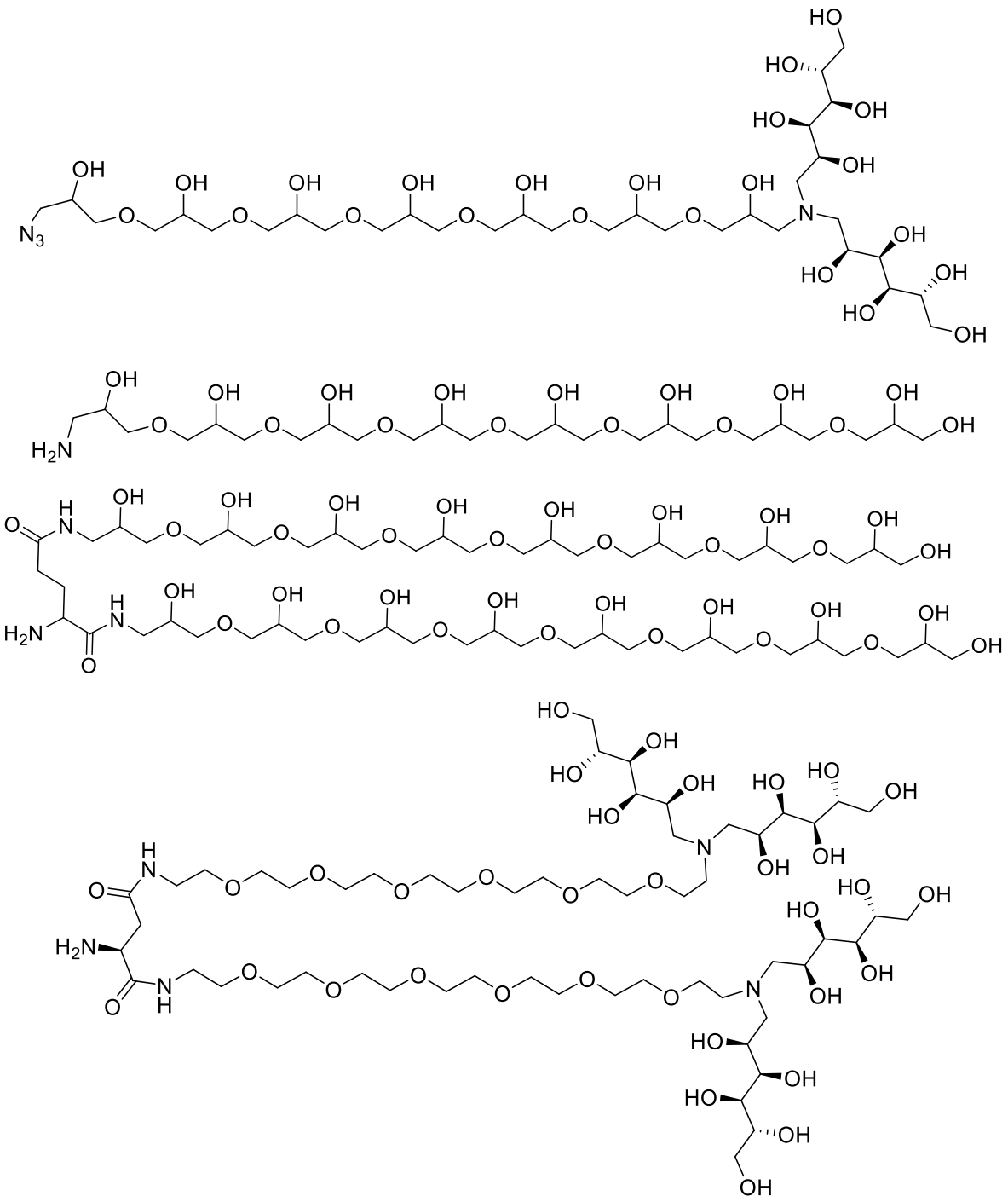

;

;



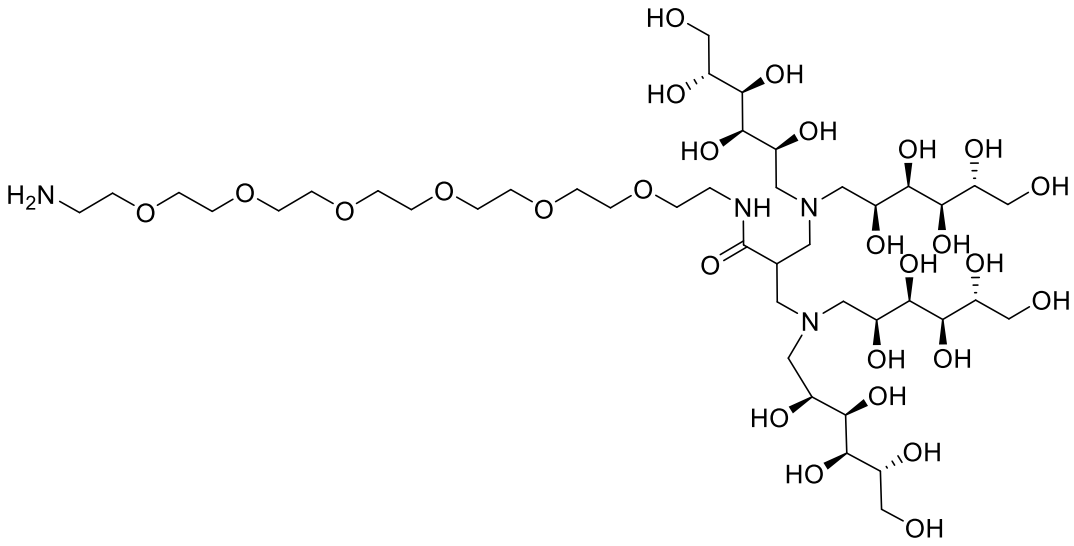


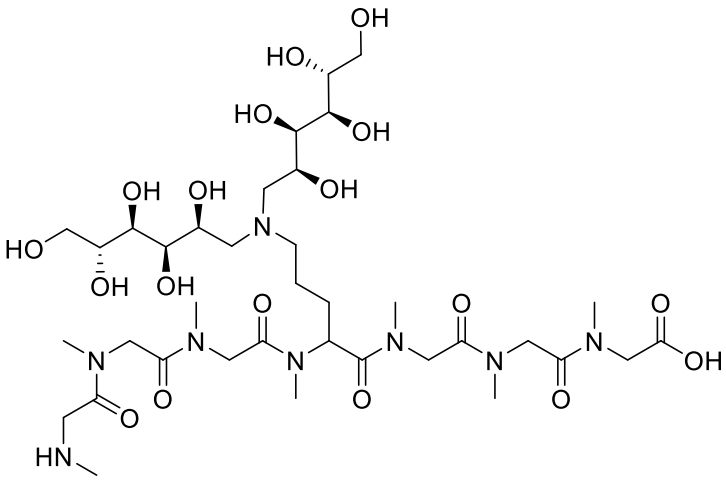


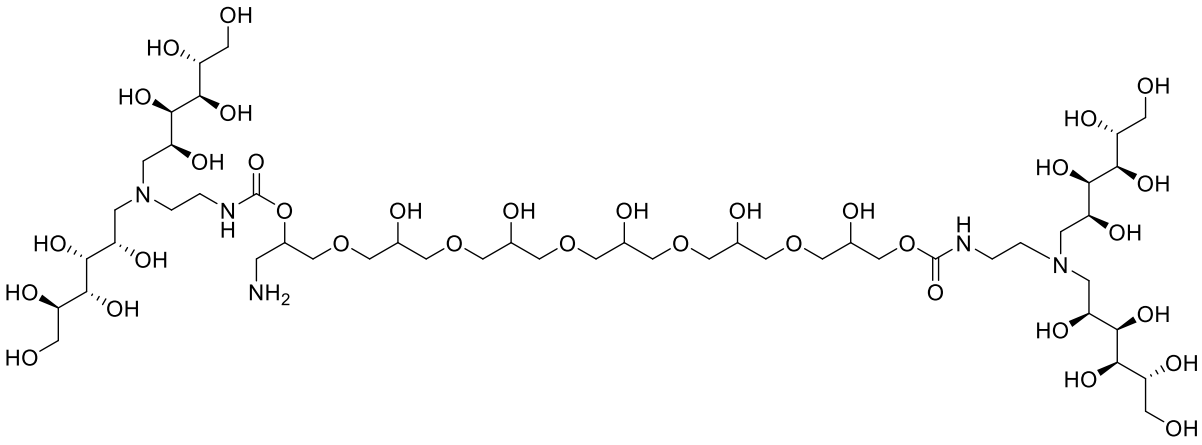


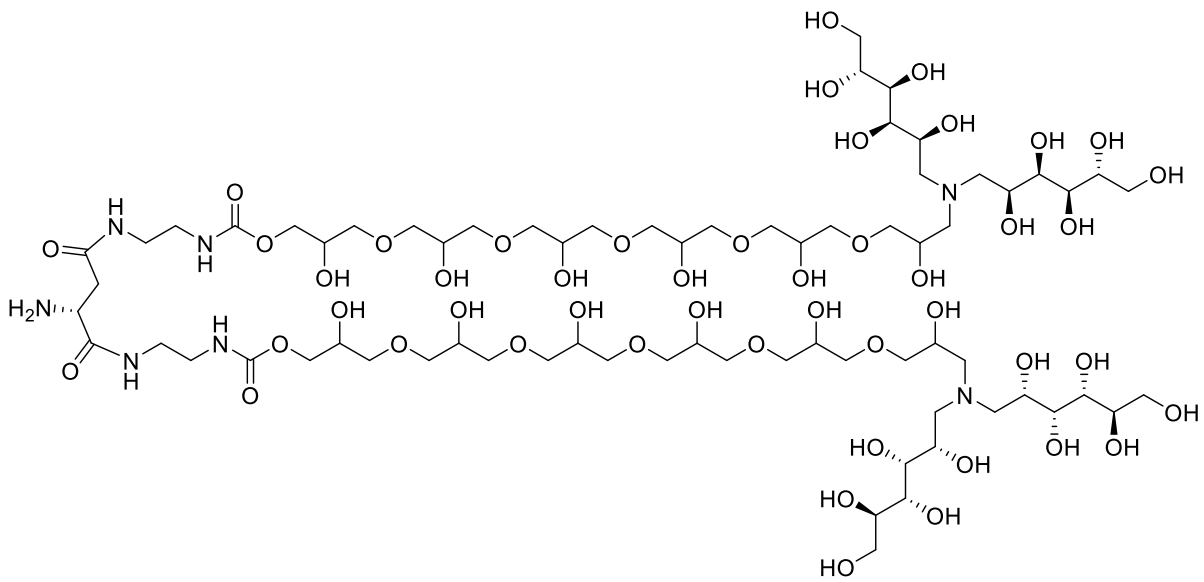


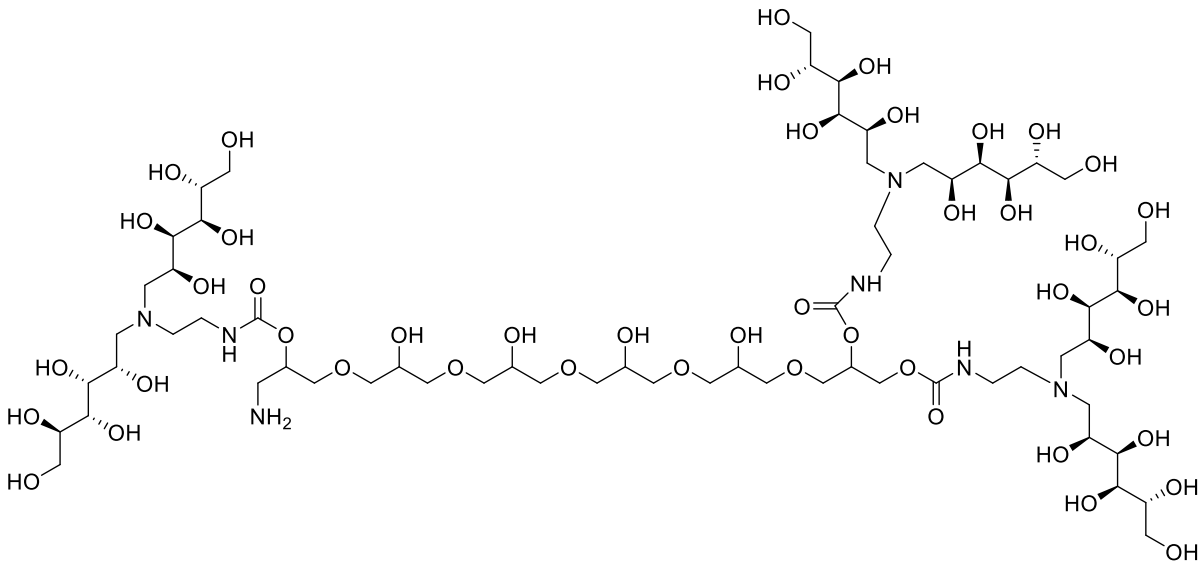


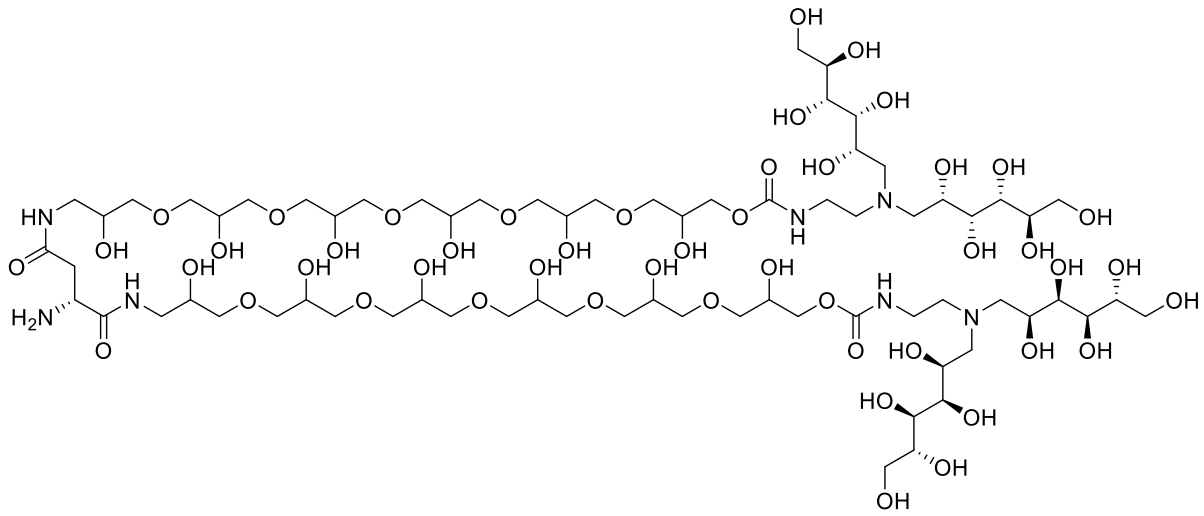


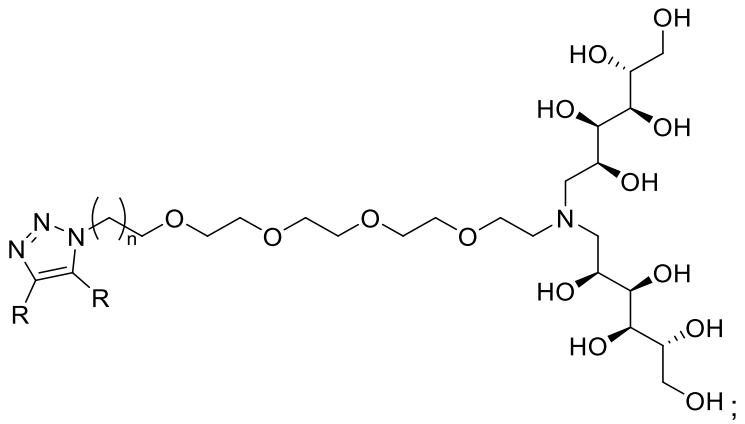




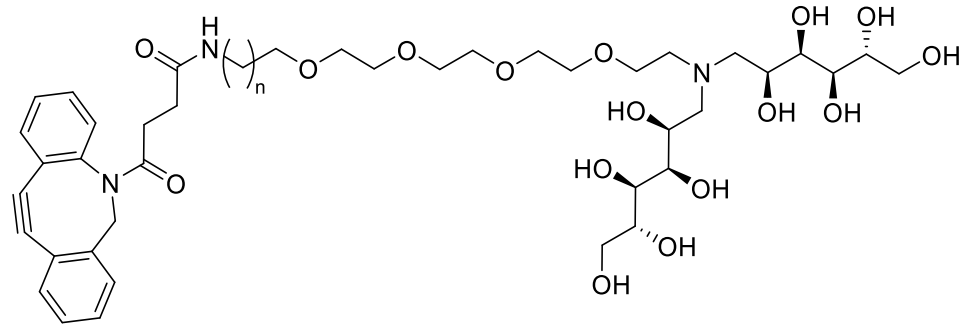




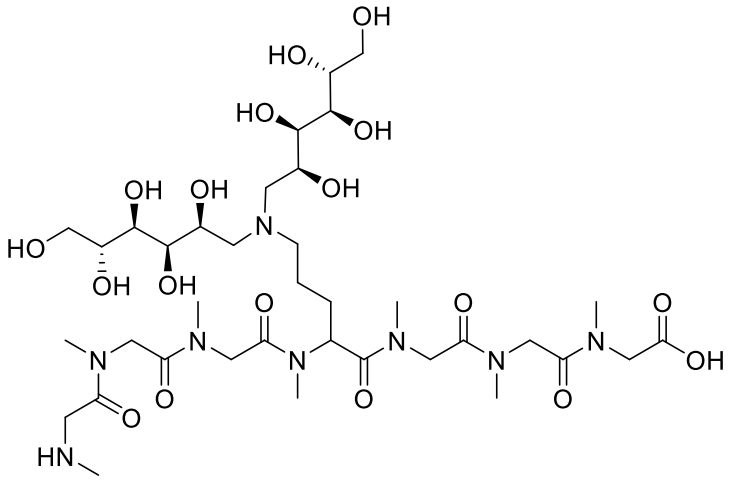




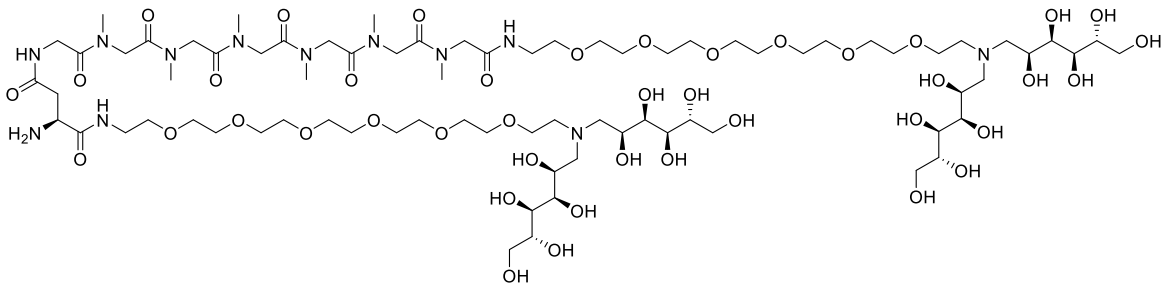
;



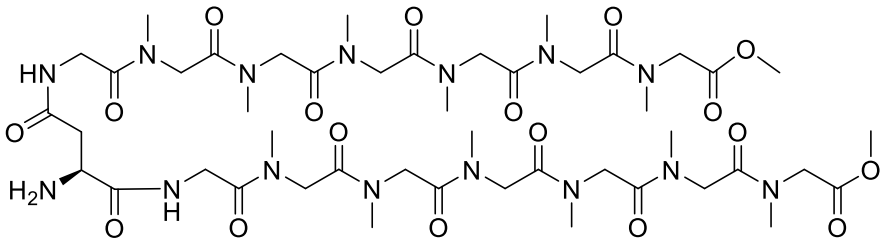
;



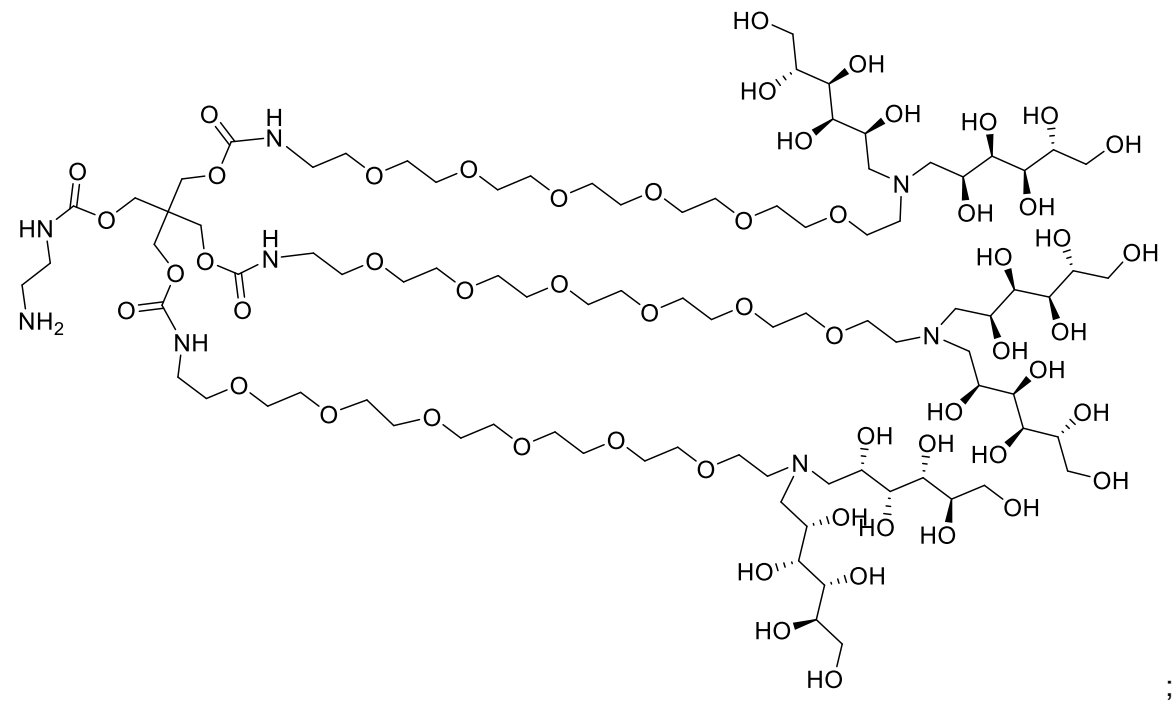
;



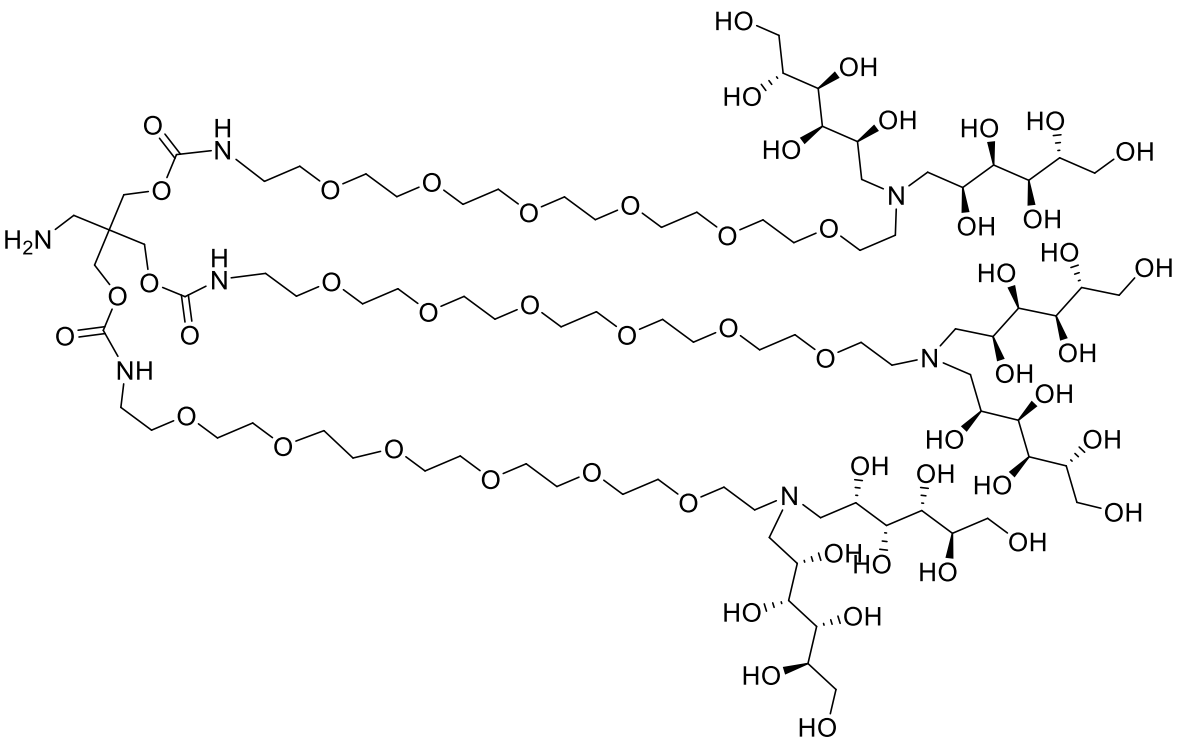
;



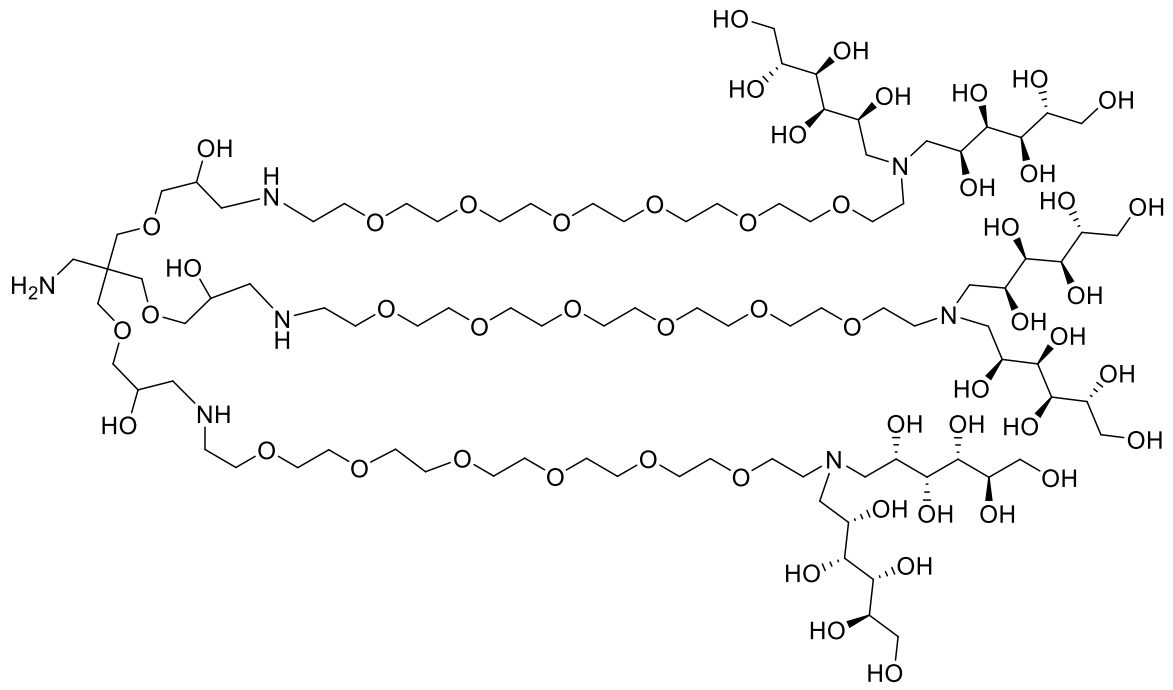
;



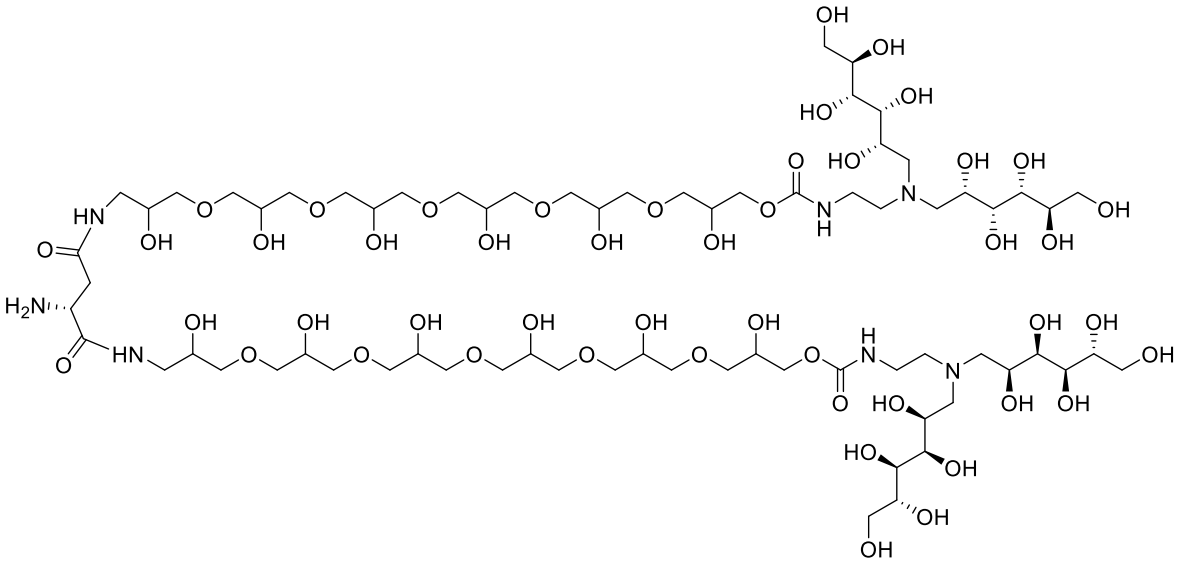
;



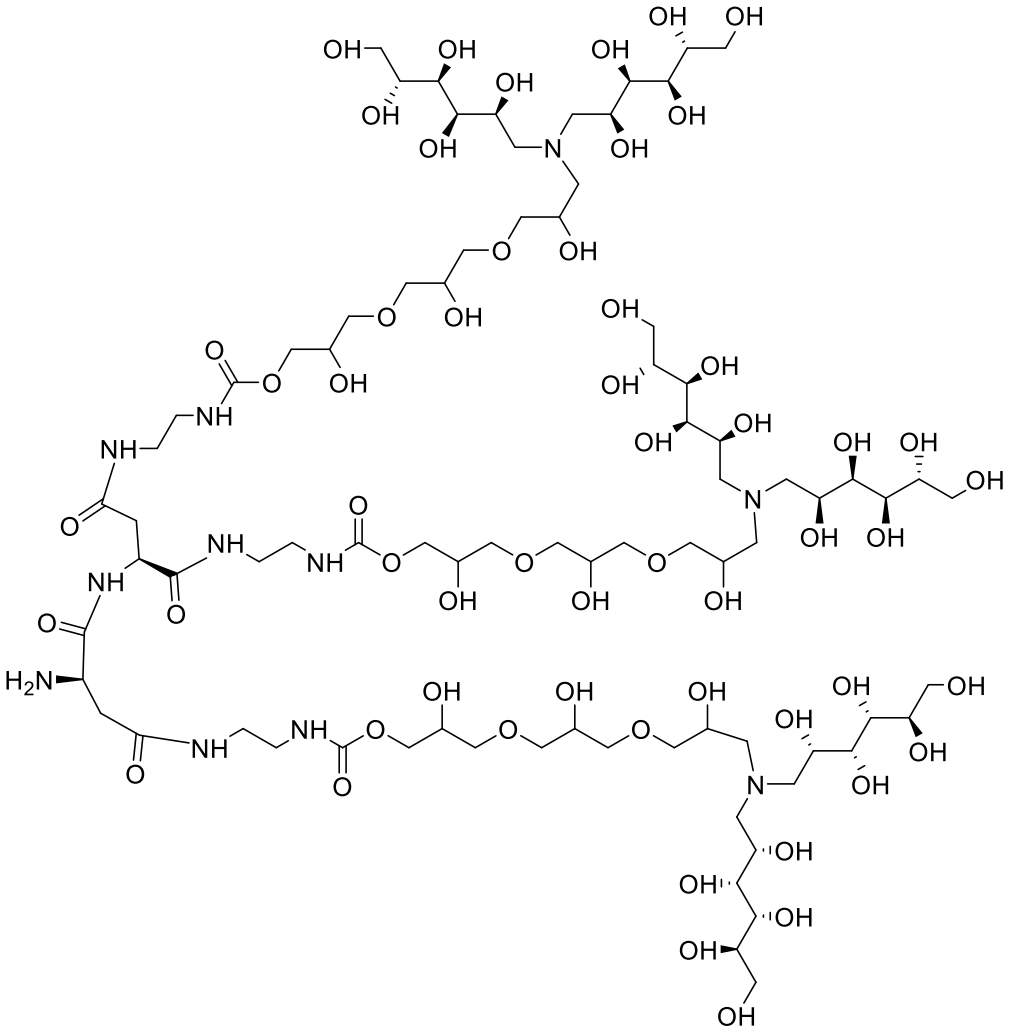
;



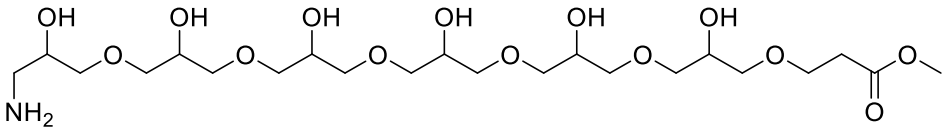
;



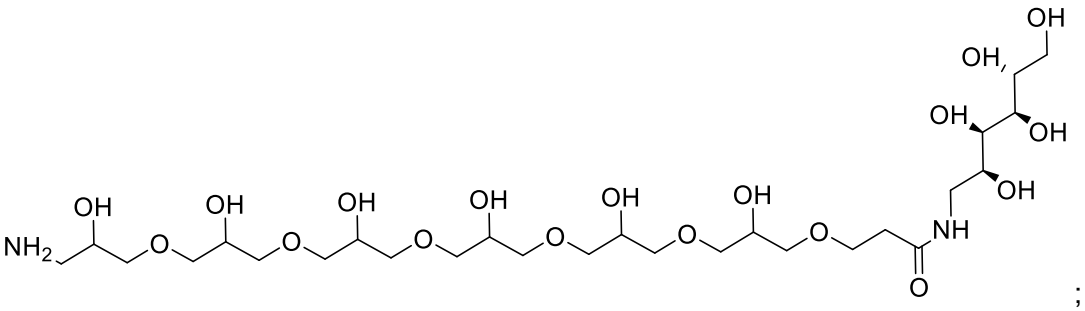
;



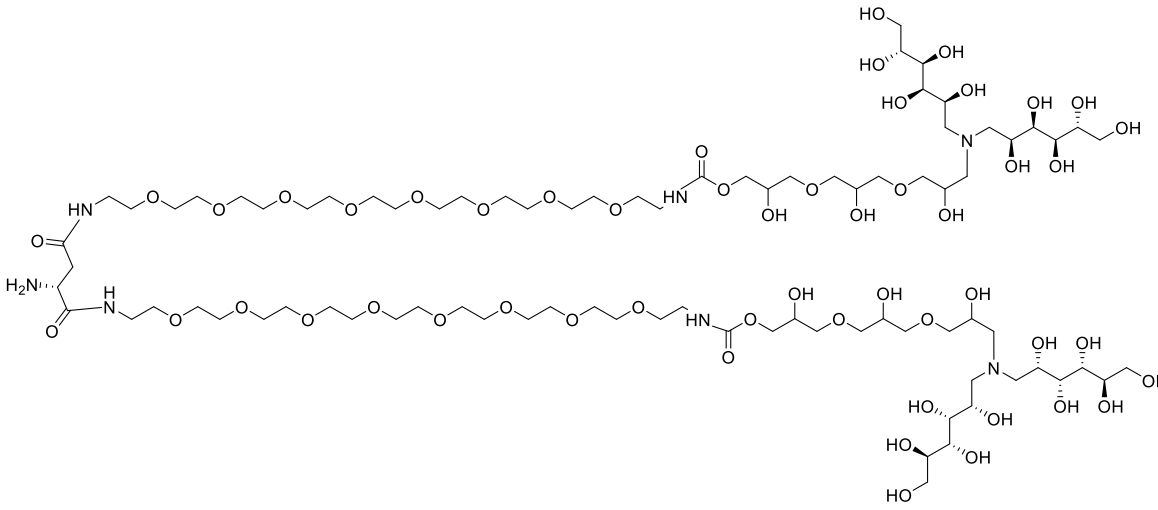
;



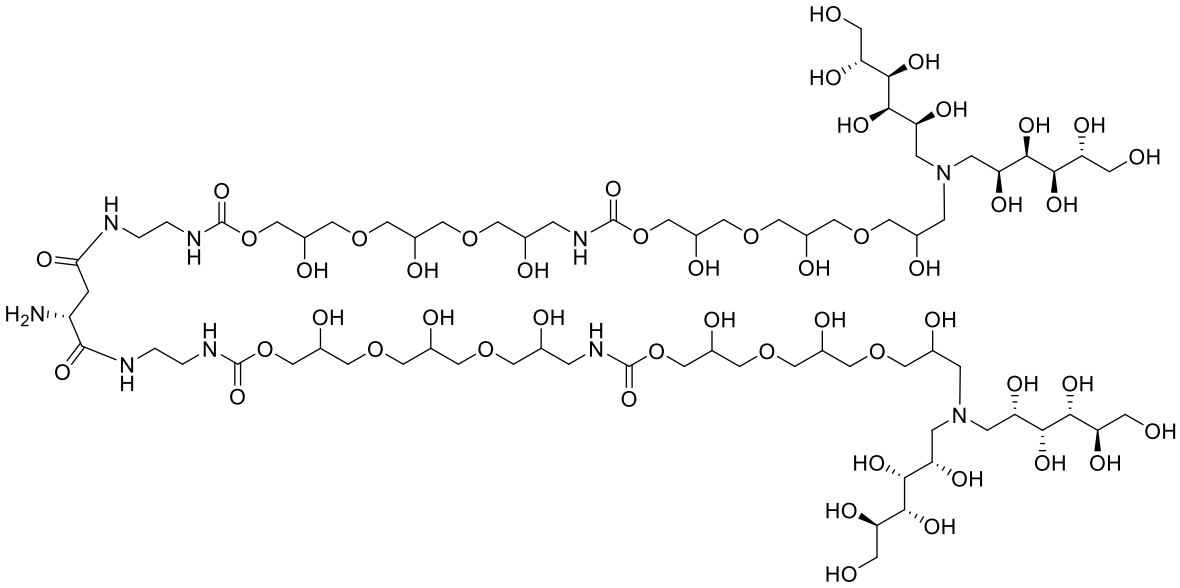
;

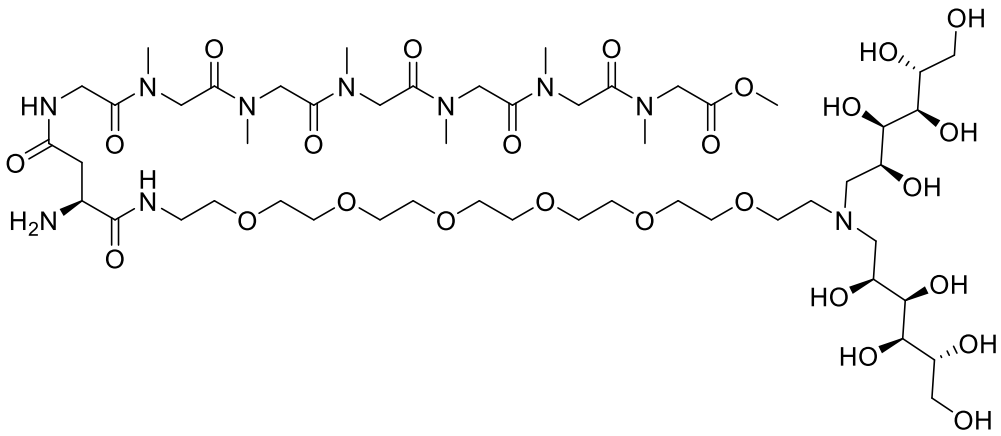


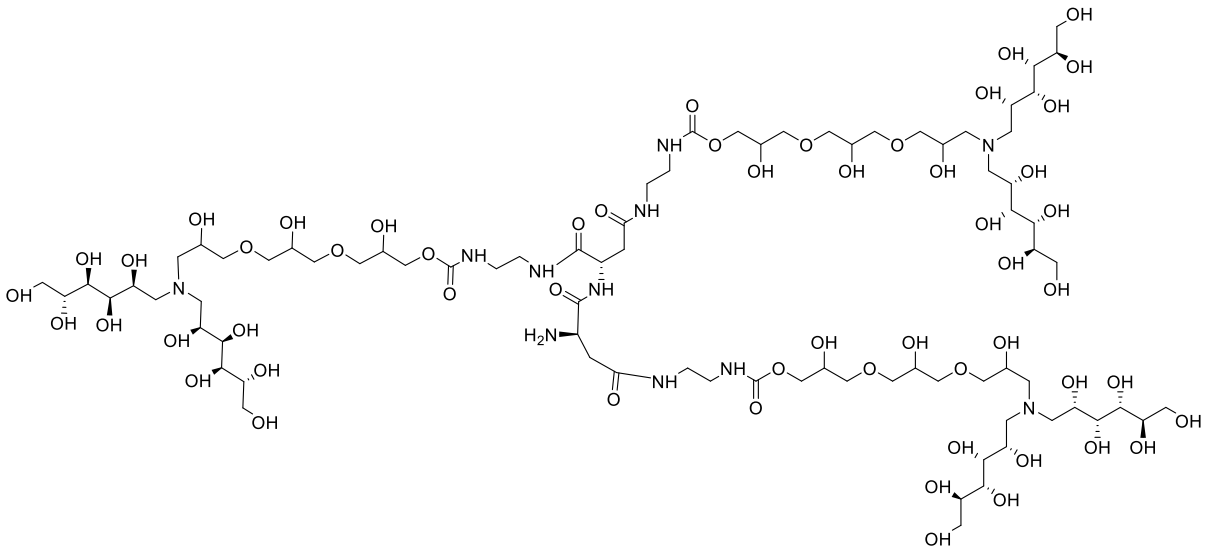
;

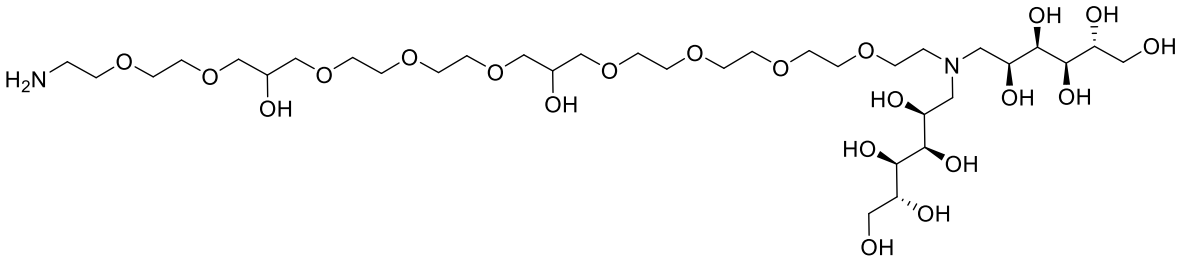


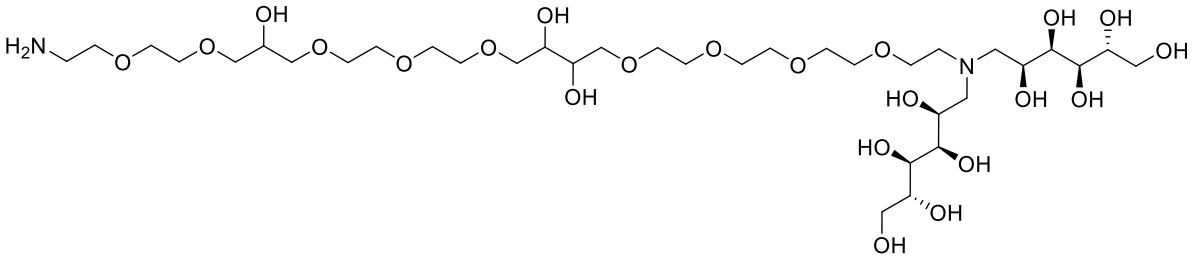
;

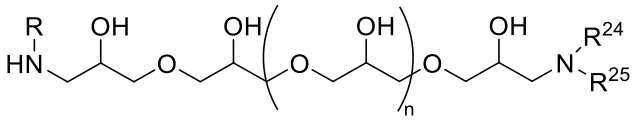


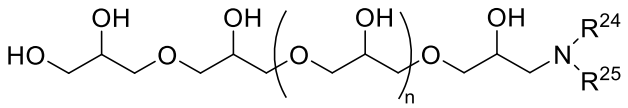


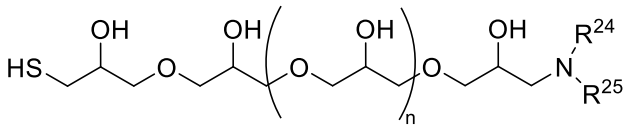


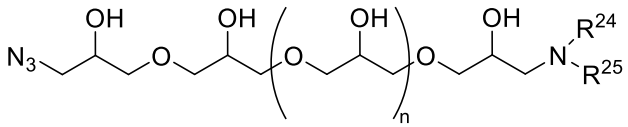


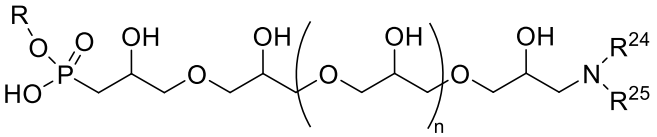


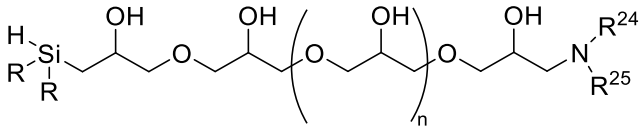


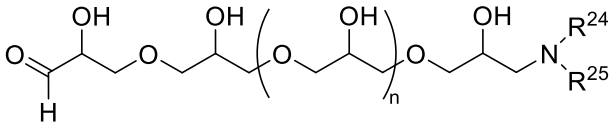


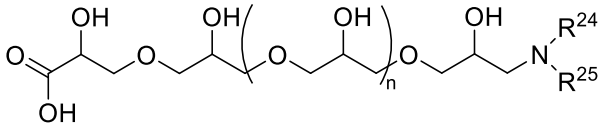


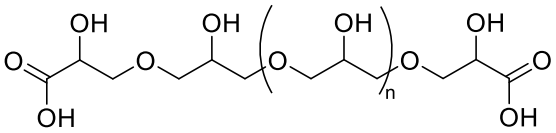


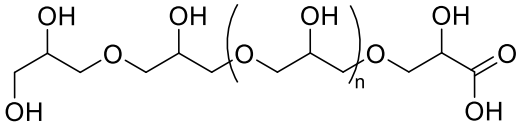


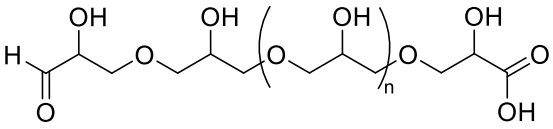


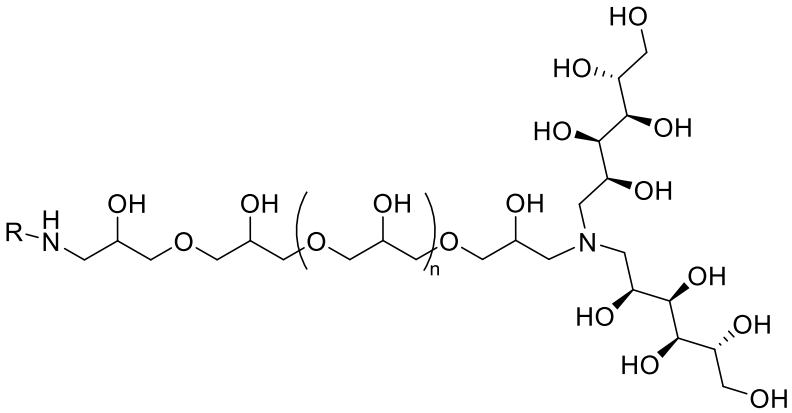


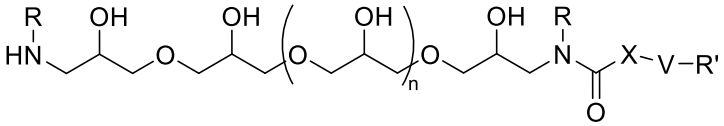


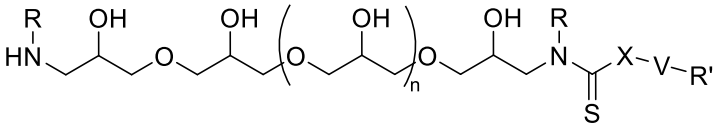


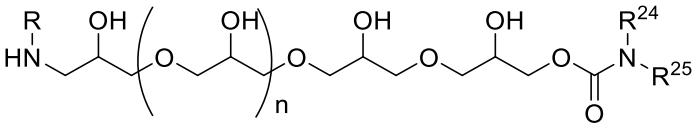


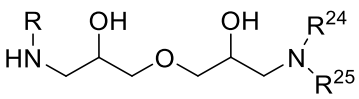


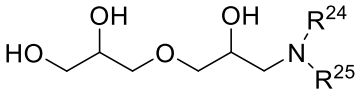


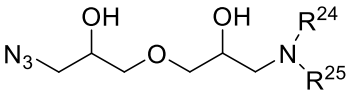


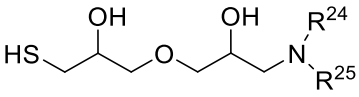


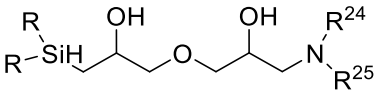


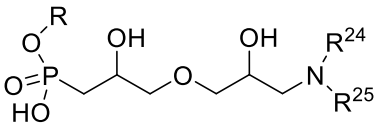


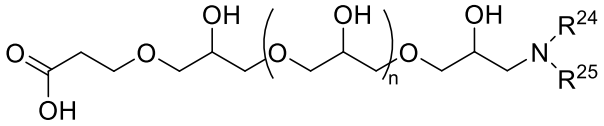


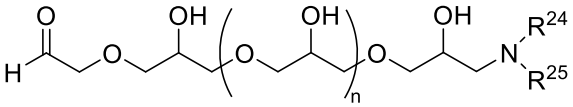


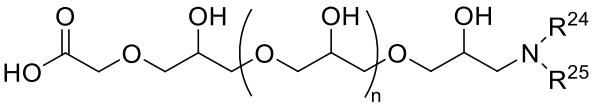


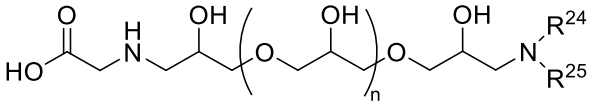


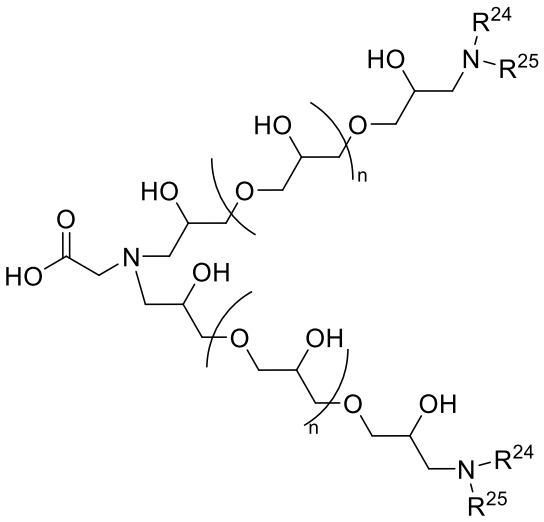


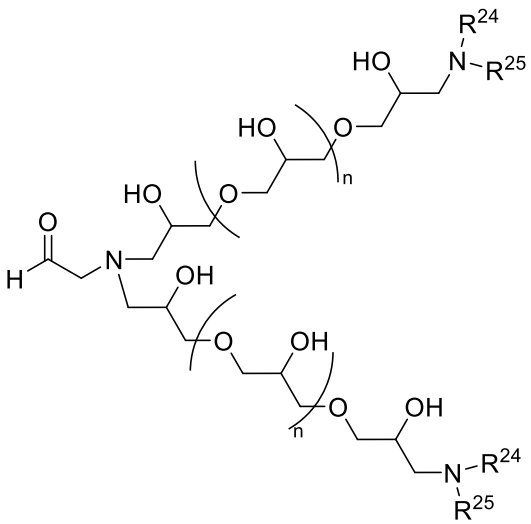


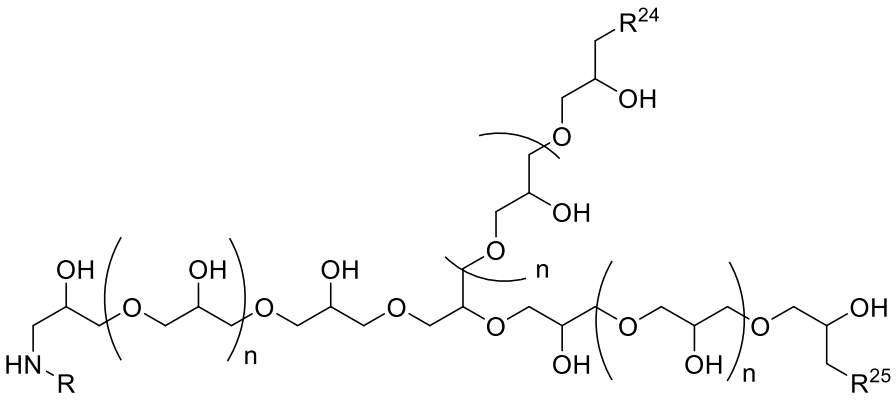


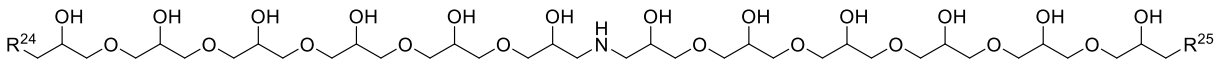


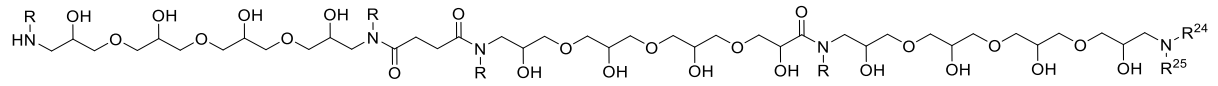


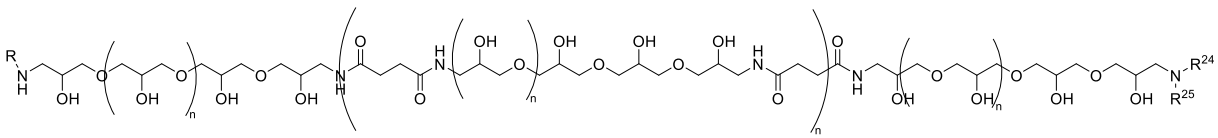


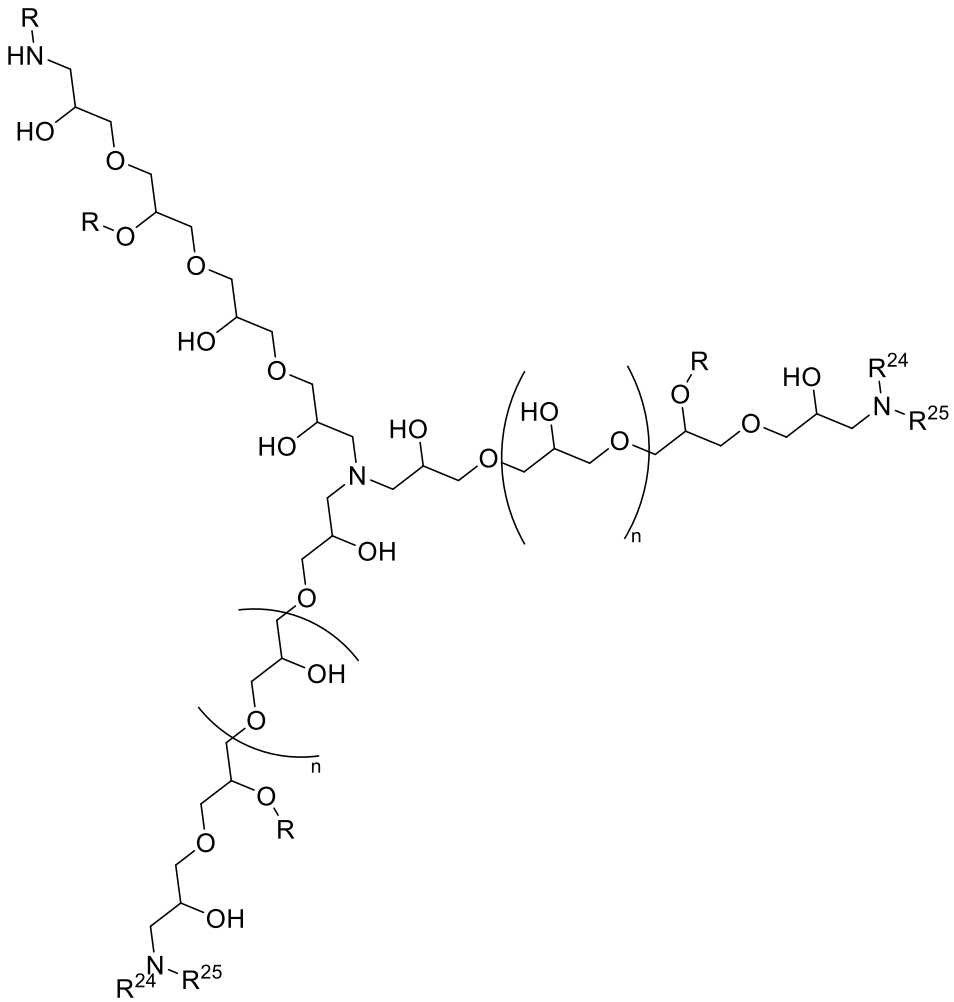


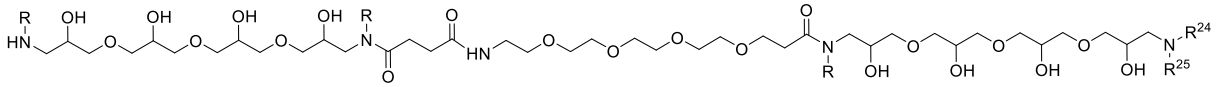


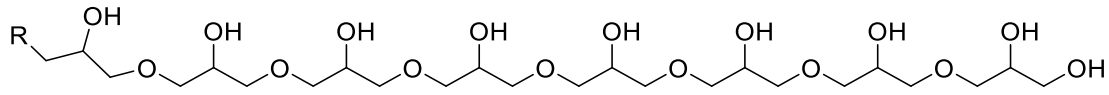


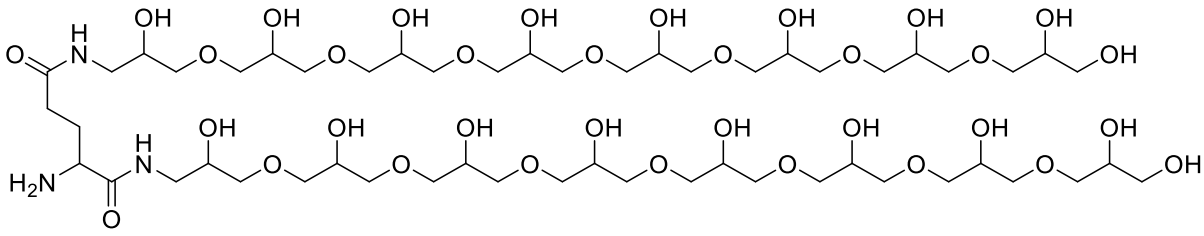


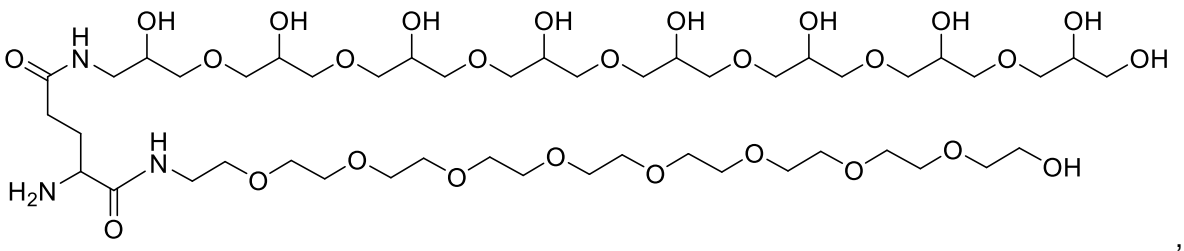




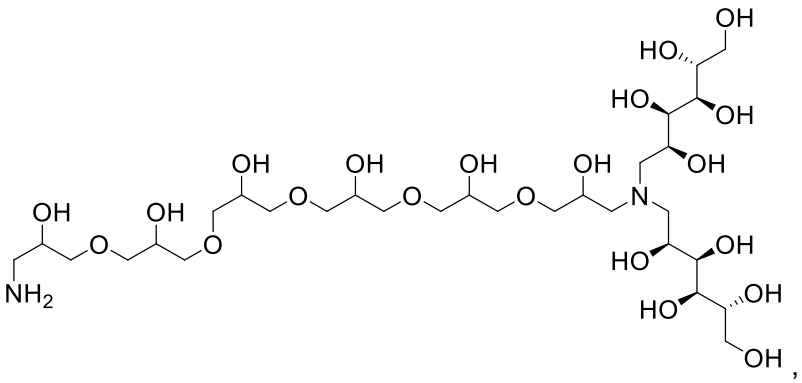




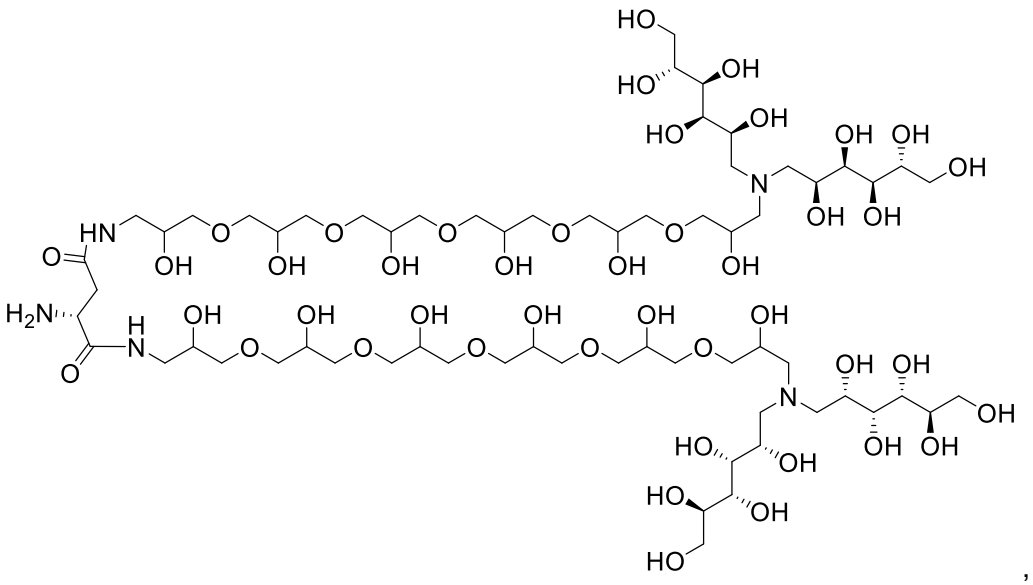




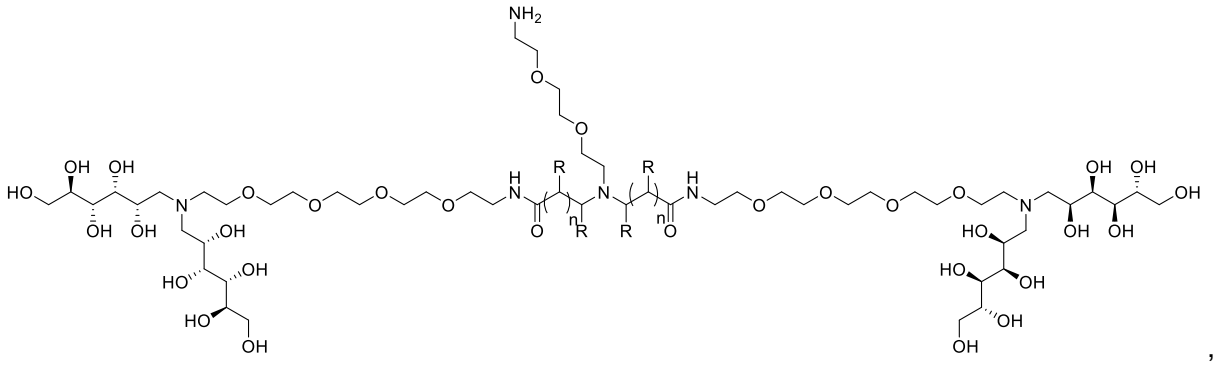
,



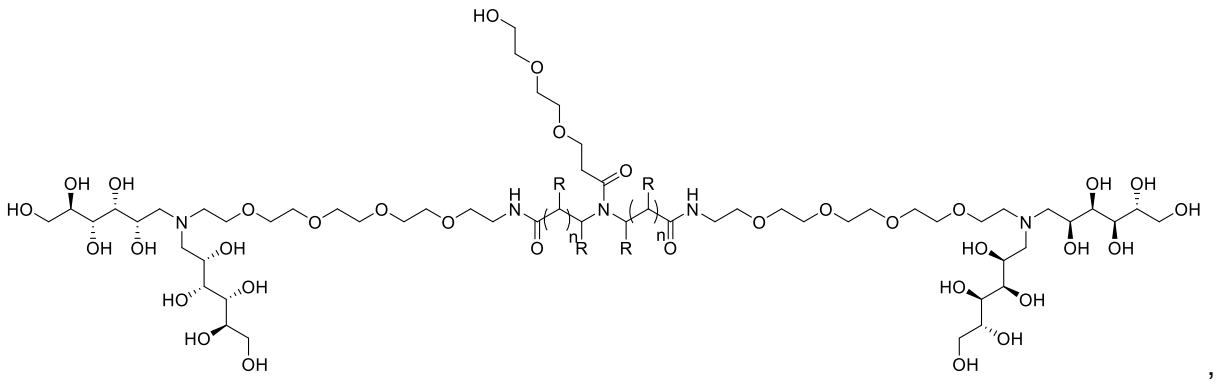
,



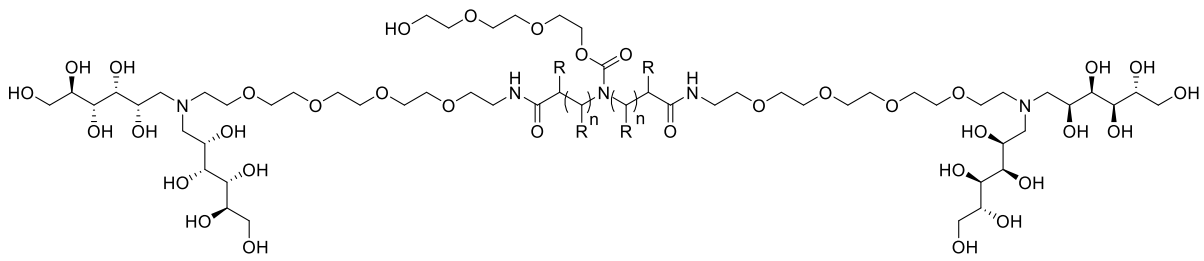
,



,



,



donde:

cada R es independientemente H o C_1-C_6 alquilo;

R' es H, C_1-C_6 alquilo, -N(R^{24})(R^{25}) o -CO_2H;

cada n es independientemente entre 1 y 12;

X es O, NR o -CH_2-;

V es un enlace o C_1-C_6 alquilo;

uno de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y el otro de R^{24} y R^{25} se selecciona entre H; grupo polihidroxilo; grupo polihidroxilo sustituido; grupo -C(O)-polihidroxilo; grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido; C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; C_1-C_3 alquileno C_3-C_{10} carbociclo opcionalmente sustituido; heteroarilo opcionalmente sustituido; carbociclo opcionalmente sustituido; -C_1-C_8 alquilo sustituido; -C(O)-C_1-C_8 alquilo sustituido; un quelante; -C(O)-R^{28}, donde R^{28} es una unidad sacárido de fórmula (XII) o (XIII); y polietilenglicol, que tiene opcionalmente entre 1 y 24 subunidades etilenglicol; o -$NR^{24}R^{25}$ juntos forman un C_3-C_8 heterociclo.

[0402] Forma de realización 50. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-49, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:

(a) ~R^{40}-(R^{43}-R^{41}-[O-CH_2-CH_2]$_{n40}$-R^{46}-[O-CH_2-CH_2]$_{n40}$-R^{42}-R^{43}-($NR^{44}R^{45}$)$_{n41}$)$_{n42}$

(XLIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{40} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{41} y R^{42} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno;

cada R^{43} se selecciona independientemente entre un enlace, C_1-C_{12} alquileno, -NH-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-NH-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -NH-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_{12} alquileno-NH-, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -NH-C(O)-C_1-C_{12} alquileno, -C(O)-NH-C_1-C_{12} alquileno, C_1-C_{12}alquileno-NH-C(O)-, -heteroarileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno, heteroaril-C_1-C_{12} alquileno-C(O)-, o -C(O)$NR^{46}R^{47}$, donde uno de R^{46} y R^{47} es H o C_1-C_{12} alquileno y el otro es C_1-C_{12}

alquileno;

R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato;

cada R^{46} se selecciona independientemente entre $-NR^{50}-$, $-NR^{50}-C_1-C_6$alquileno$-NR^{50}-$, $-NR^{50}-C(O)-NR^{50}-S(O)_2-NR^{50}-$ o $-NR^{50}-C(O)-C_{1-6}$alquileno-;

cada R^{50} se selecciona independientemente entre H, C_1-C_6 alquilo, o grupo polihidroxilo;

n40 es entre 2 y 26;

n41 es entre 1 y 6; y

n42 es entre 1 y 6;

(b) $\sim R^{40}-(R^{51}-[O-CH_2-CH_2]_{n43}-R^{52}-X_1-R^{55}-X_2-R^{53}-[O-CH_2-CH_2]_{n43}-R^{54}-[X_3-R^{56}]_{n44}-R^{57})_{n45}$

(XLIV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{40} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{51}, R^{52}, R^{53} y R^{54} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno;

X_1, X_2 y X_3 son independientemente entre sí $-NR^N-C(O)-$ o $-C(O)-NR^N-$;

cada R^N independientemente representa H, C_1-C_6 alquilo, o grupo polihidroxilo;

R^{55} y R^{56} representan independientemente en cada caso un grupo polihidroxilo bivalente;

R^{57} es H, OH o C_1-C_6 alquilo;

cada n43 es independientemente entre 0 y 26, con la condición de que por lo menos un n43 es entre 1 y 26;

n44 es entre 0 y 10; y

n45 es 1 o 2; o

(c) $\sim R^{40}-R^{51}-[O-CH_2-CH_2]_{n43}-R^{52}-N-(R^{53}-X_1-R^{54}-[O-CH_2-CH_2]_{n43}-(NR^{44}R^{45}))_2$

(XLV)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

R^{40} es un grupo de unión al sitio R^b, o al grupo enzimáticamente escindible;

R^{51}, R^{53} y R^{54} son independientemente entre sí un enlace o C_1-C_6 alquileno opcionalmente sustituido;

R^{52} es un enlace, C_1-C_6 alquileno, -C(O)- o -O-C(O)-;

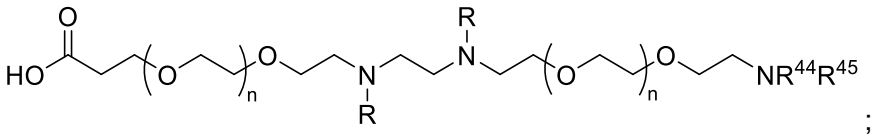
cada X_1 es independientemente $-NR^N-C(O)-$ o $-C(O)-NR^N-$;

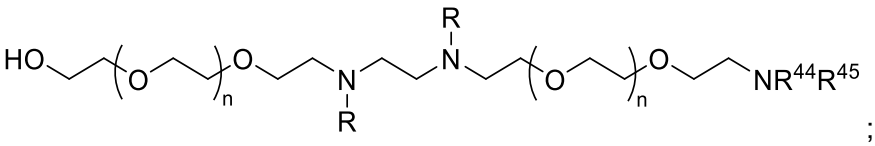
cada R^N independientemente representa H, C_1-C_6 alquilo, o grupo polihidroxilo;

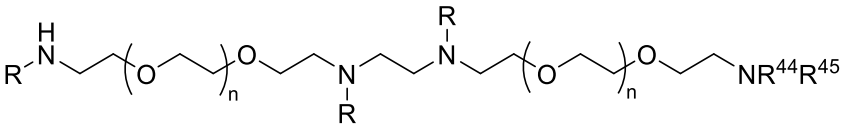
R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato; y

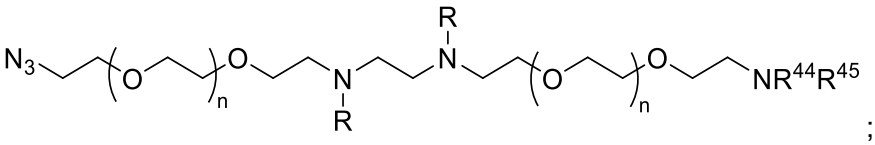
cada n43 es independientemente entre 2 y 26.

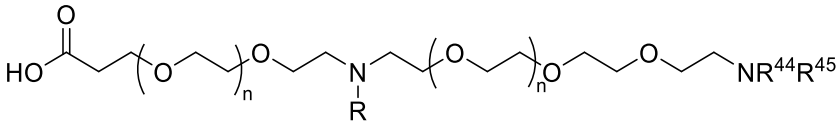
[0403] Forma de realización 51. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-50, que comprende un grupo polar que tiene una de las siguientes estructuras antes de unirse al grupo enzimáticamente escindible y/o a la unidad conectora:

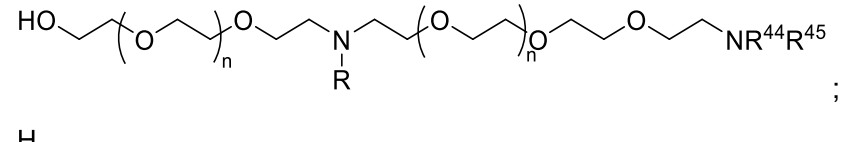

;

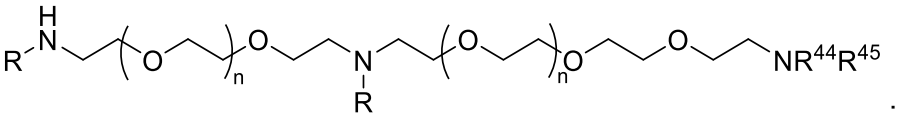

;

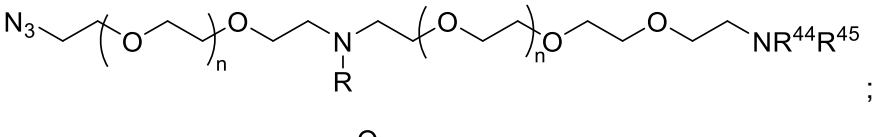

;

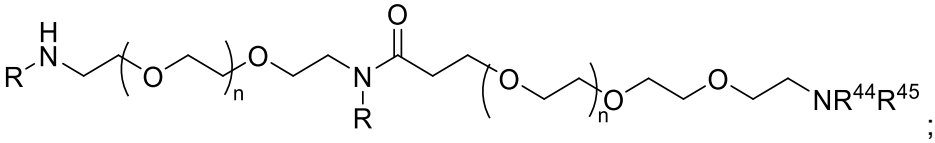

;

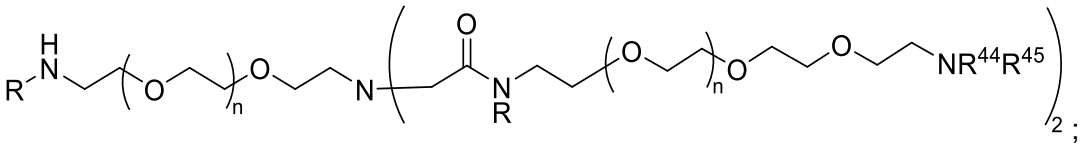

;

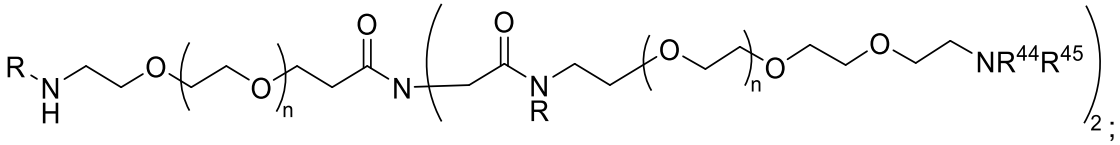

;

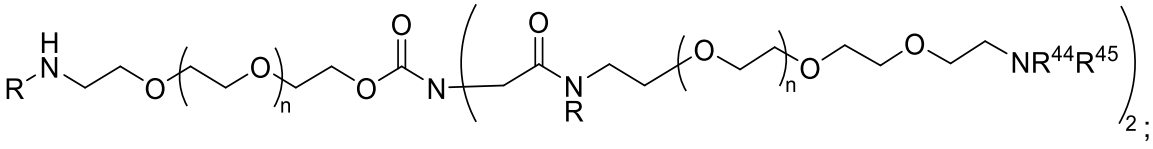

;

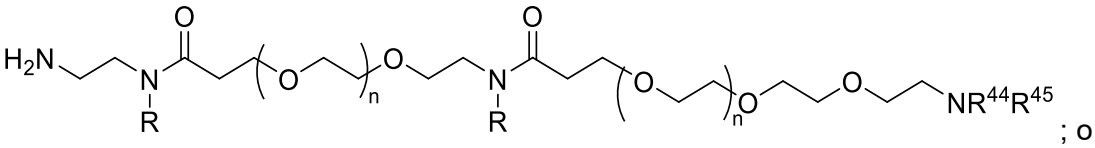

;

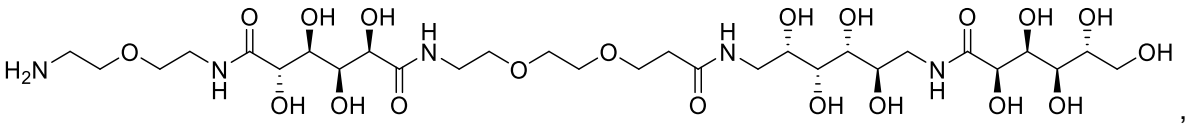

;


;


;







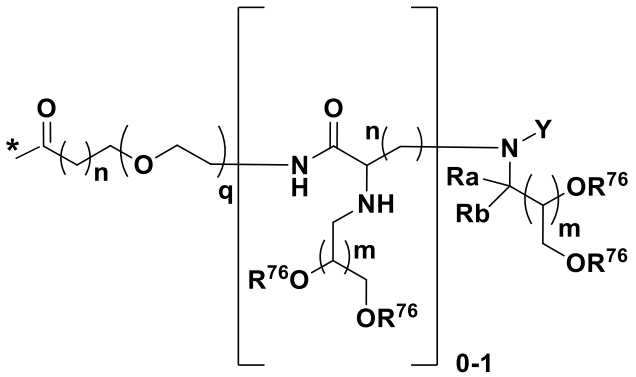
donde:

cada R es independientemente H, alquilo o grupo polihidroxilo;

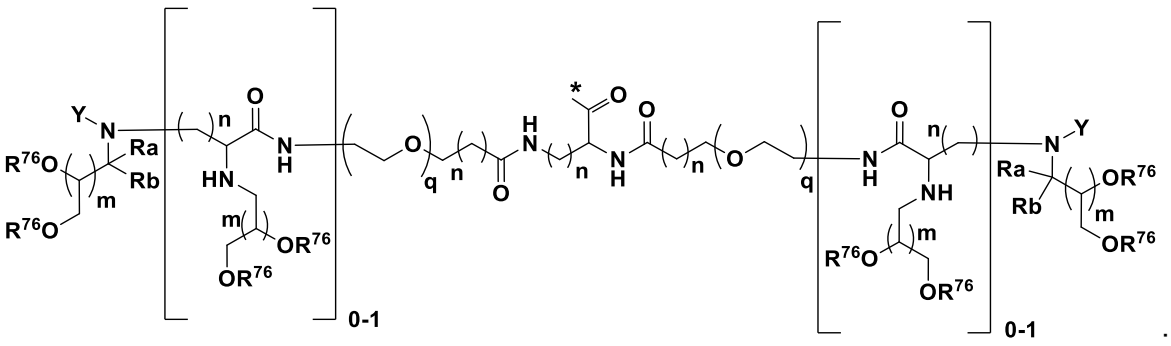
R^{44} y R^{45} son independientemente entre sí H, grupo polihidroxilo, grupo polihidroxilo sustituido, grupo -C(O)-polihidroxilo, o grupo -C(O)-polihidroxilo sustituido, donde los sustituyentes opcionales se seleccionan entre sulfato, fosfato, alquilsulfato, y alquilfosfato; y

cada n es independientemente entre 1 y 12.

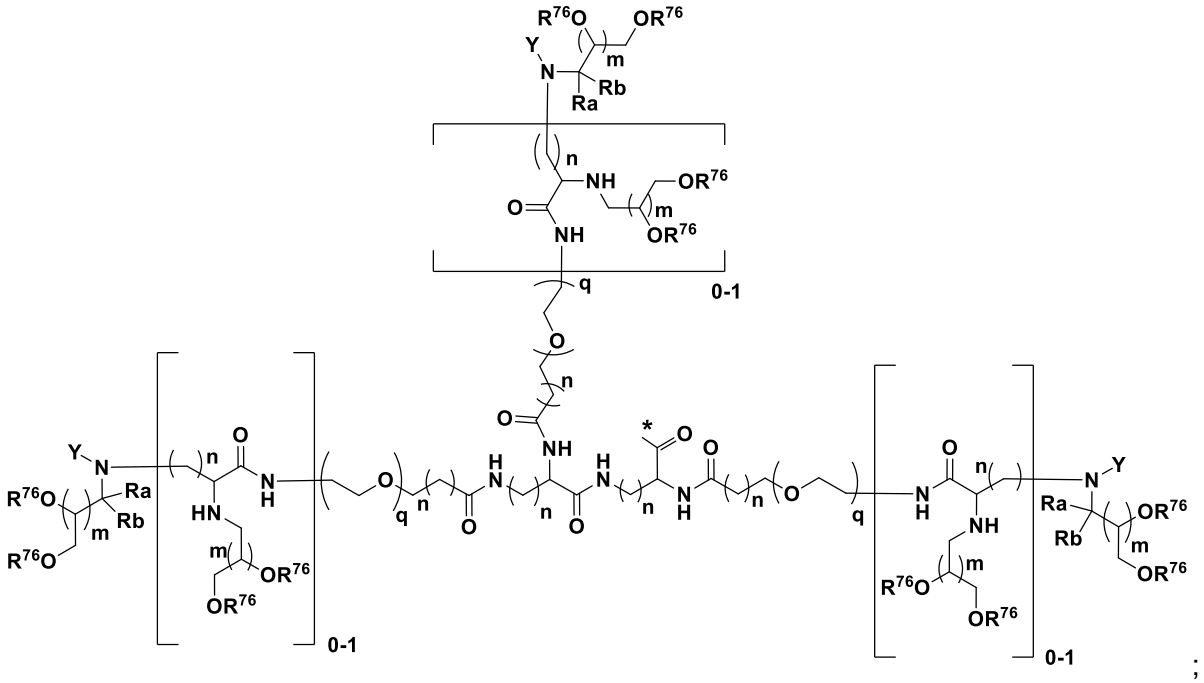
[0404] Forma de realización 52. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-51, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:



(XVI)

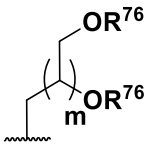


(XVII) o



(XVIII)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

cada Y es independientemente R^{76} o  ;

cada R^{76} es independientemente H, acetilo, $-P(=O)(OH)_2$, o $-(CH_2)_v-O-S(=O)_2(OH)$;

cada uno de R_a y R_b es independientemente H o R_a y R_b se toman junto con el carbono al que están unidos para formar un grupo oxo;

cada q es independientemente 2-26;

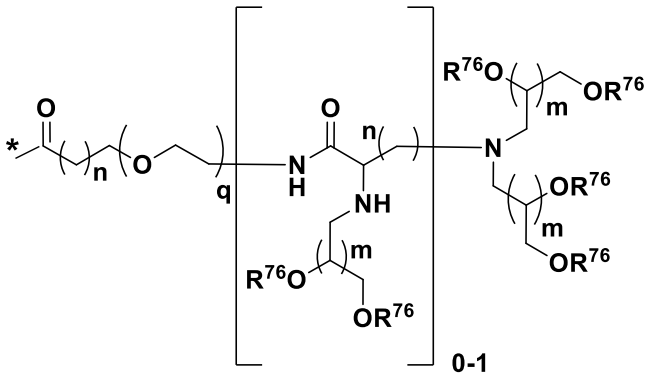
cada m es independientemente entre 1 y 4;

cada n es independientemente entre 1 y 4;

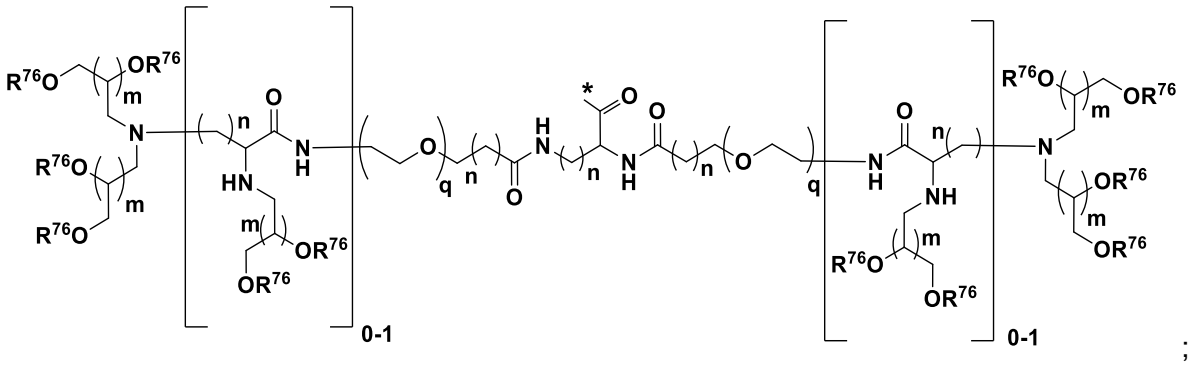
cada v es independientemente entre 1 y 6; y

cada * es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0405] Forma de realización 53. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-51, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:

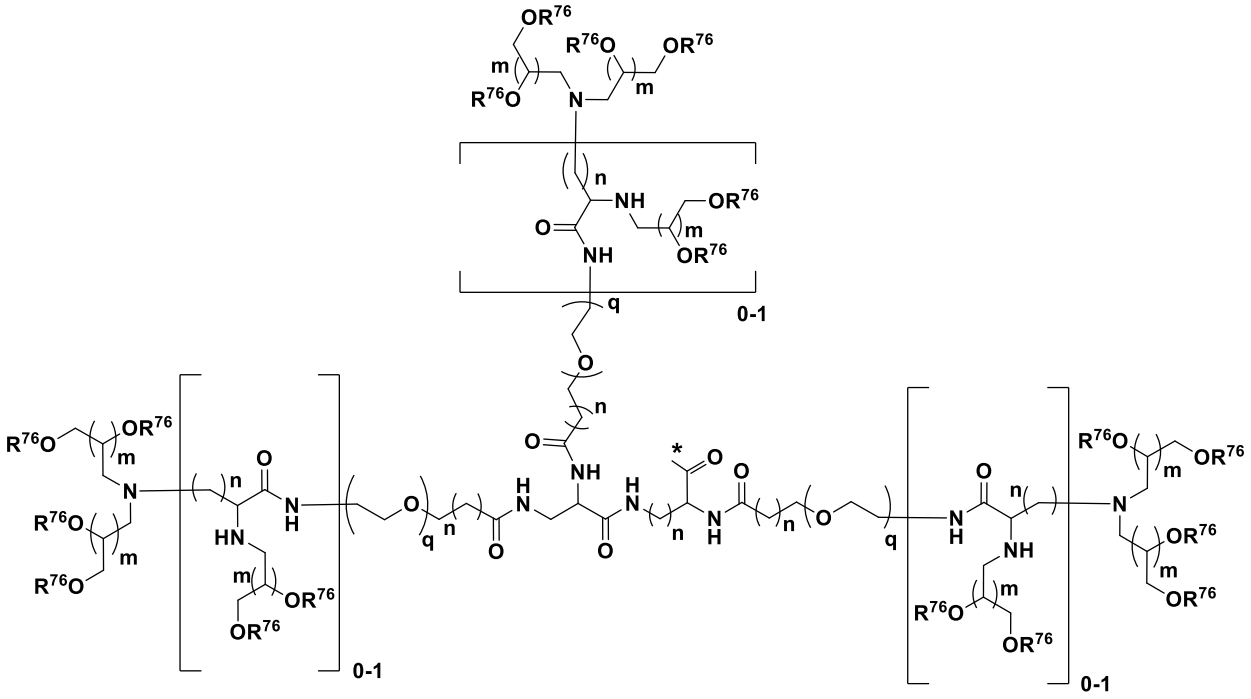


(XVIa)



(XVIIa)

o



(XVIIIa)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

cada R^{76} es independientemente H, acetilo, $-P(=O)(OH)_2$, o $-(CH_2)_vS(=O)_2(OH)$;

cada q es independientemente 2-26;

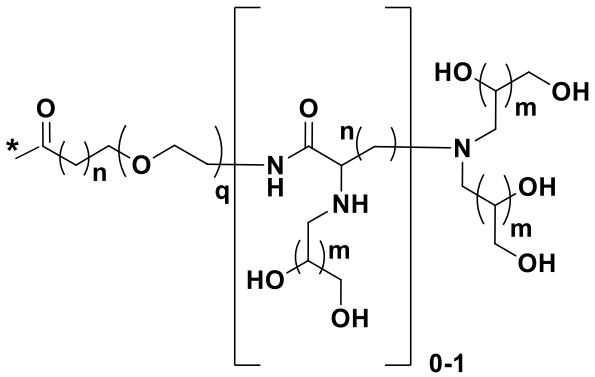
cada m es independientemente entre 1 y 4;

cada n es independientemente entre 1 y 4;

cada v es independientemente entre 1 y 6; y

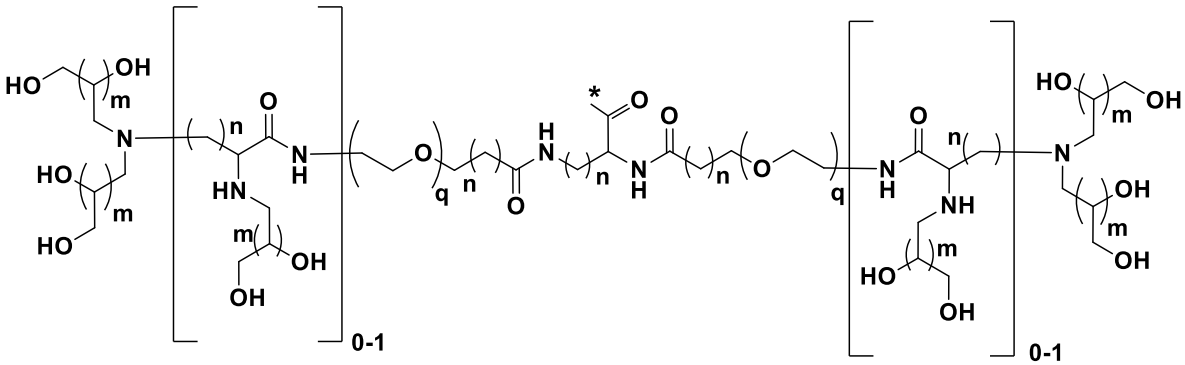
cada * es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0406] Forma de realización 54. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-51, que comprende un grupo polar que tiene una fórmula seleccionada entre:



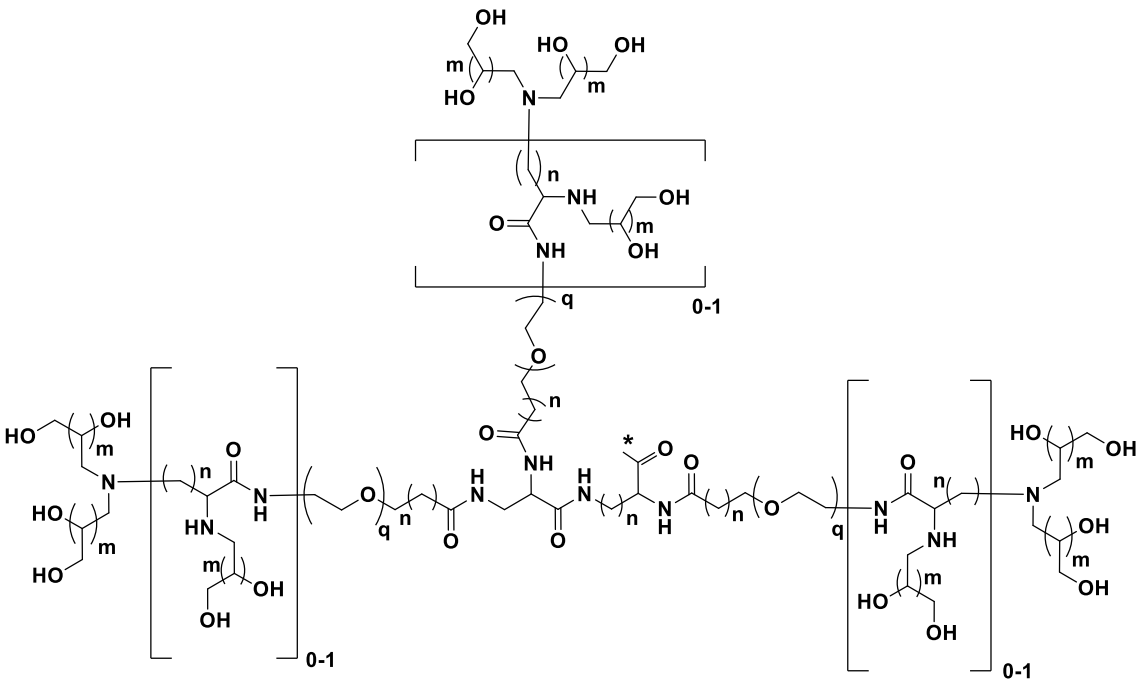
;

(XVIb)



;

(XVIIb) o



;

(XVIIIb)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

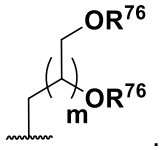
cada q es independientemente 2-26;

cada m es independientemente entre 1 y 4;

cada n es independientemente entre 1 y 4; y

cada * es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0407] Forma de realización 55. El compuesto conector de la forma de realización 52, donde Y es R^{76}.

[0408] Forma de realización 56. El compuesto conector de la forma de realización 52, donde Y es 

.

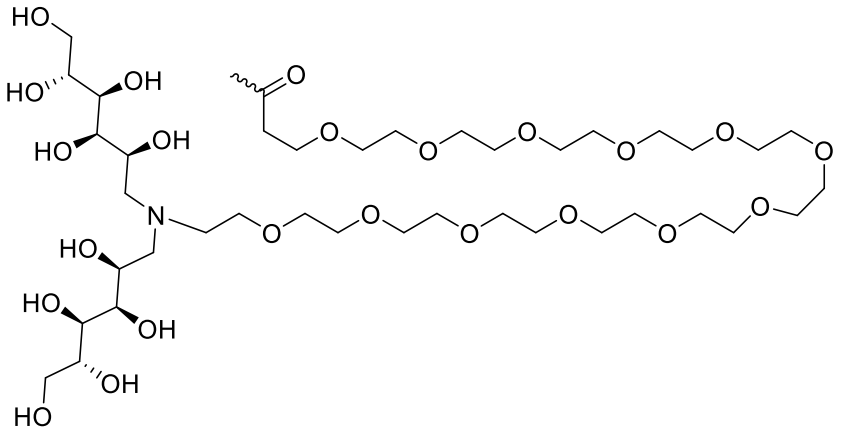
[0409] Forma de realización 57. El compuesto conector de la forma de realización 52, donde cada uno de R_a y R_b es independientemente H.

[0410] Forma de realización 58. El compuesto conector de la forma de realización 52, donde R_a y R_b se toman junto con el carbono al que están unidos para formar un grupo oxo.

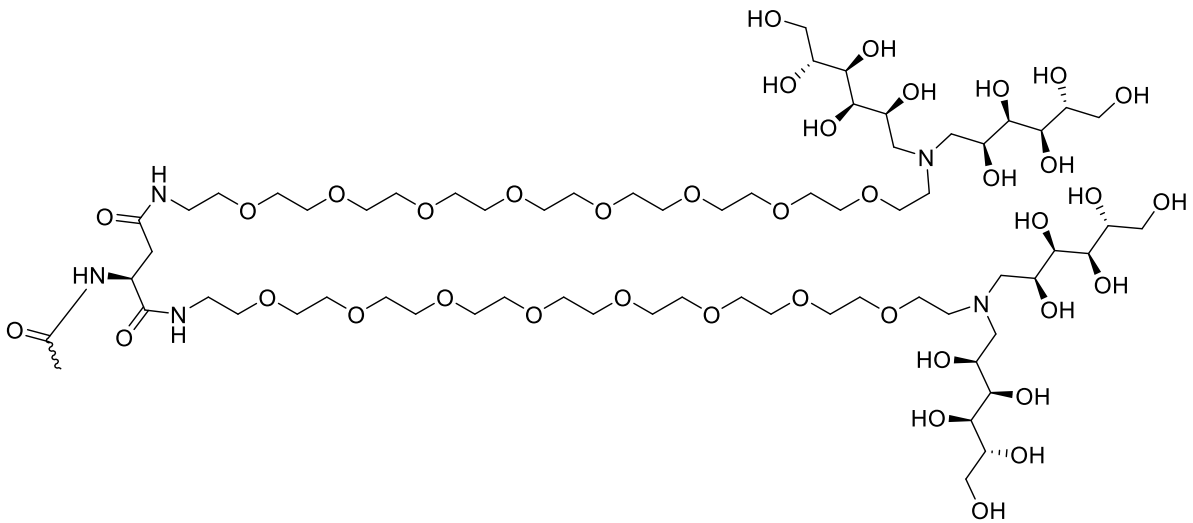
[0411] Forma de realización 59. El compuesto conector de una de las Formas de realización 50-52, donde q es 10-20.

[0412] Forma de realización 60. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 52-54, donde q es 12.

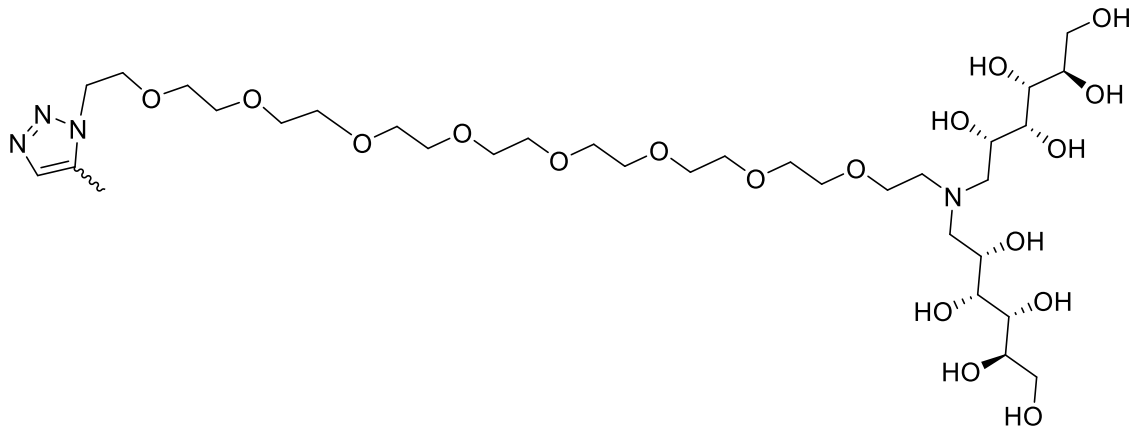
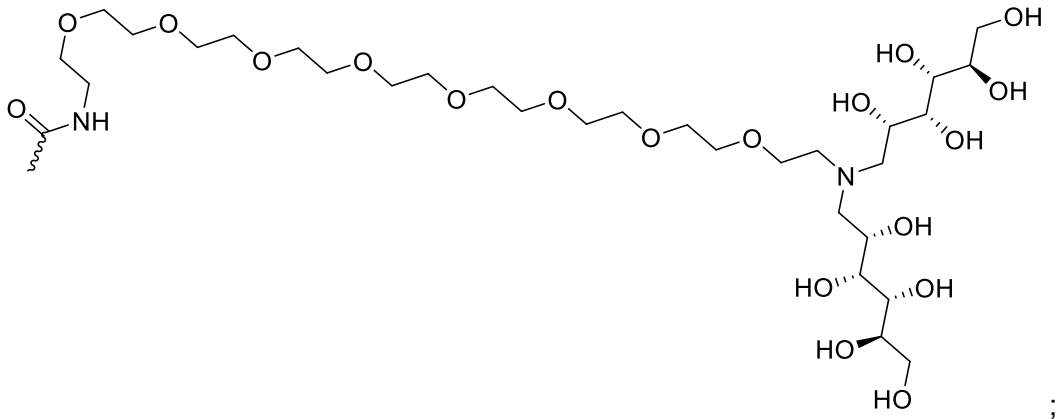
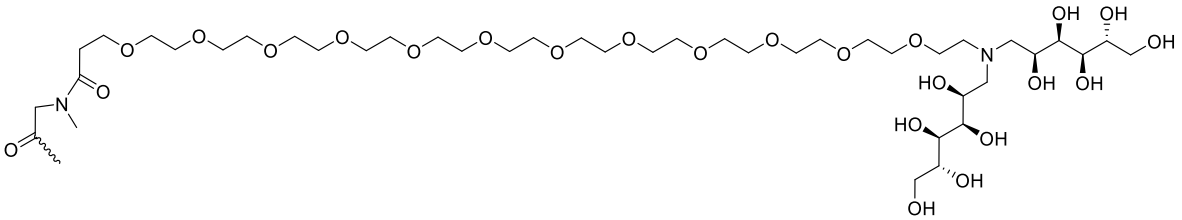
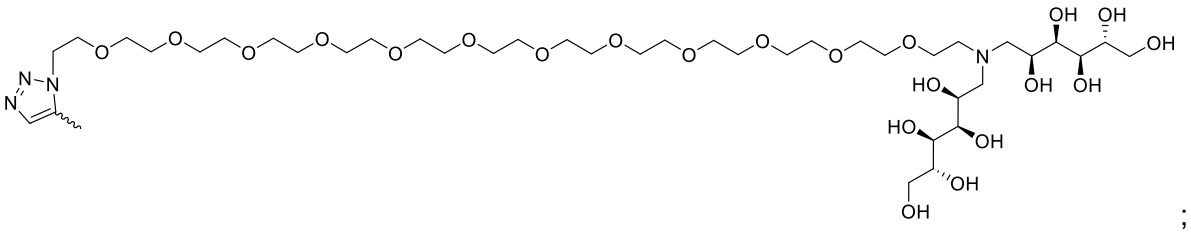
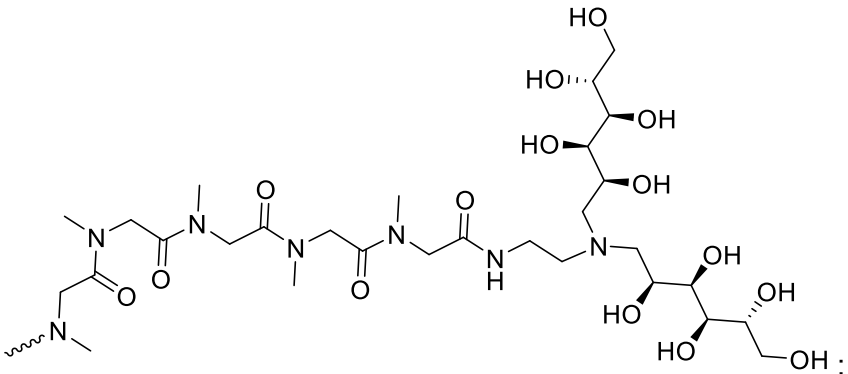
[0413] Forma de realización 61. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-60, que comprende un grupo polar seleccionado entre los siguientes, o un estereoisómero o sal de los mismos:

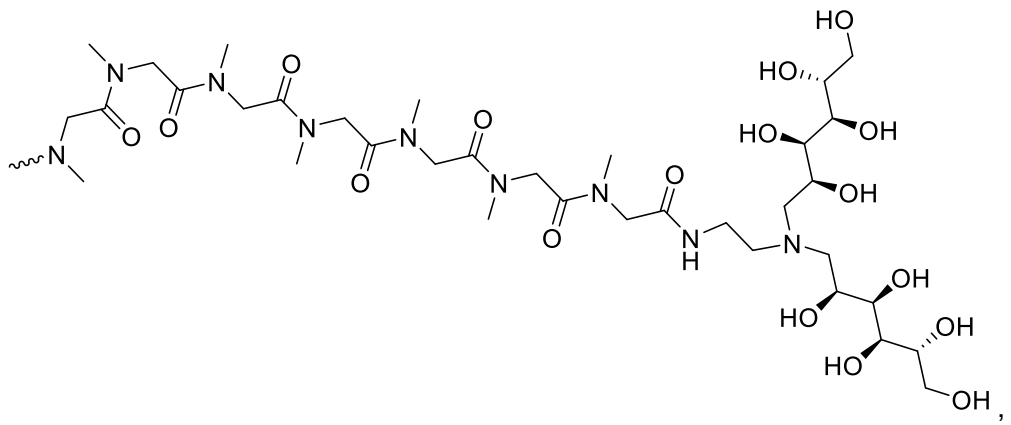


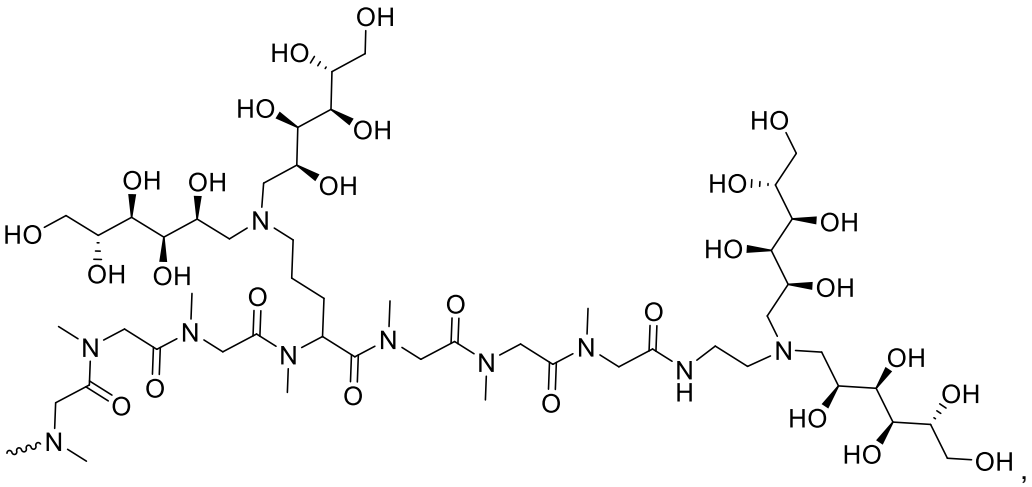
;

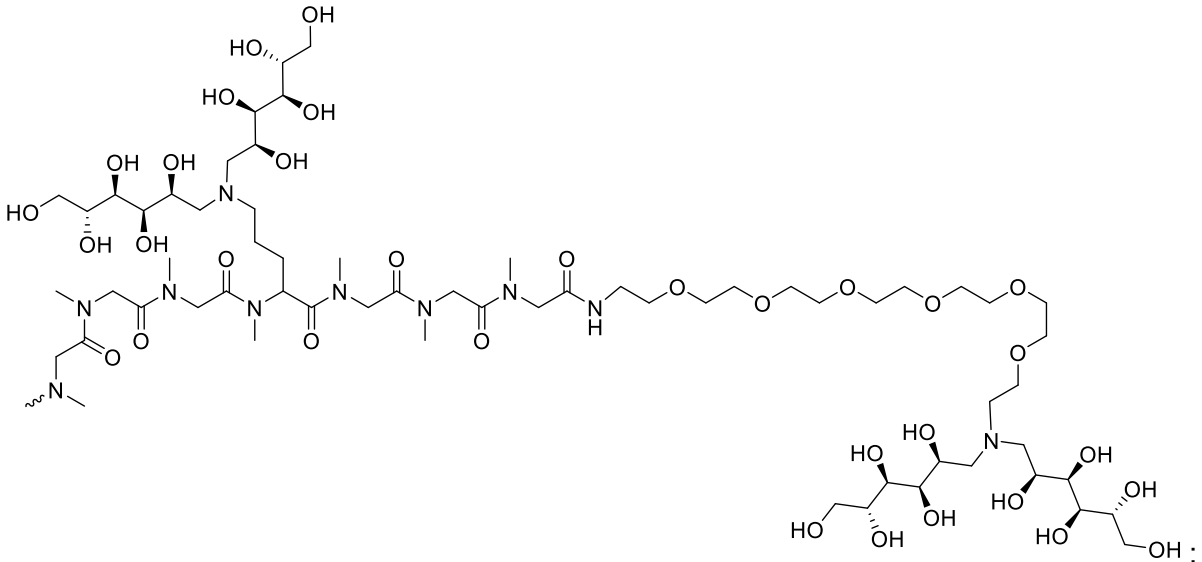


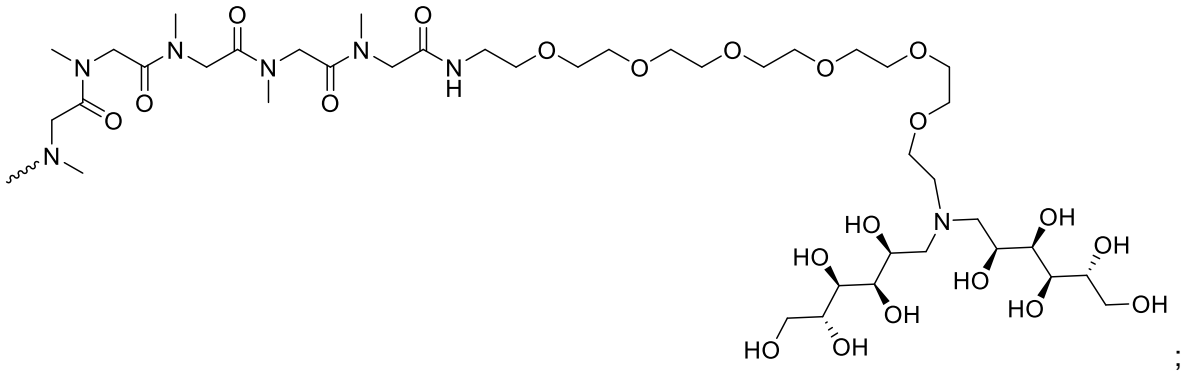
;

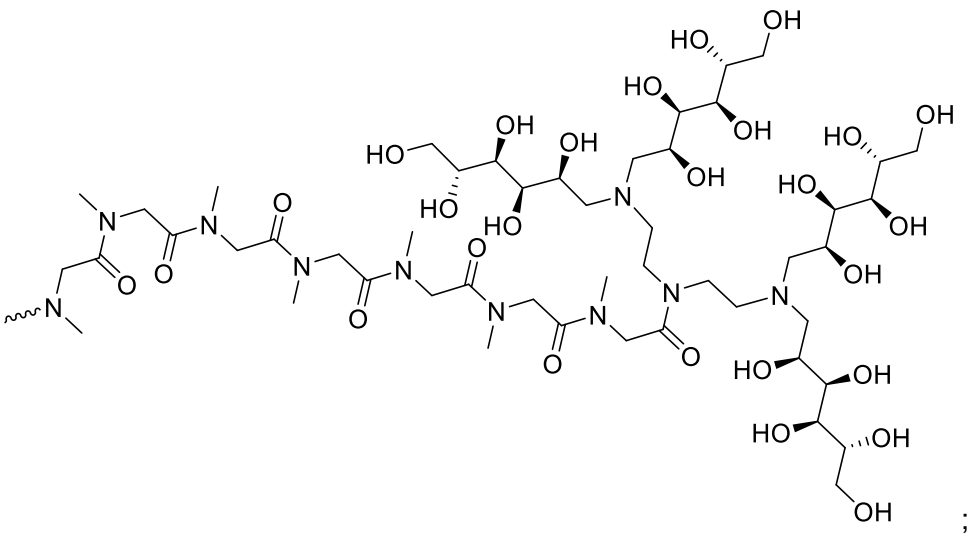

;

;

;

;

;



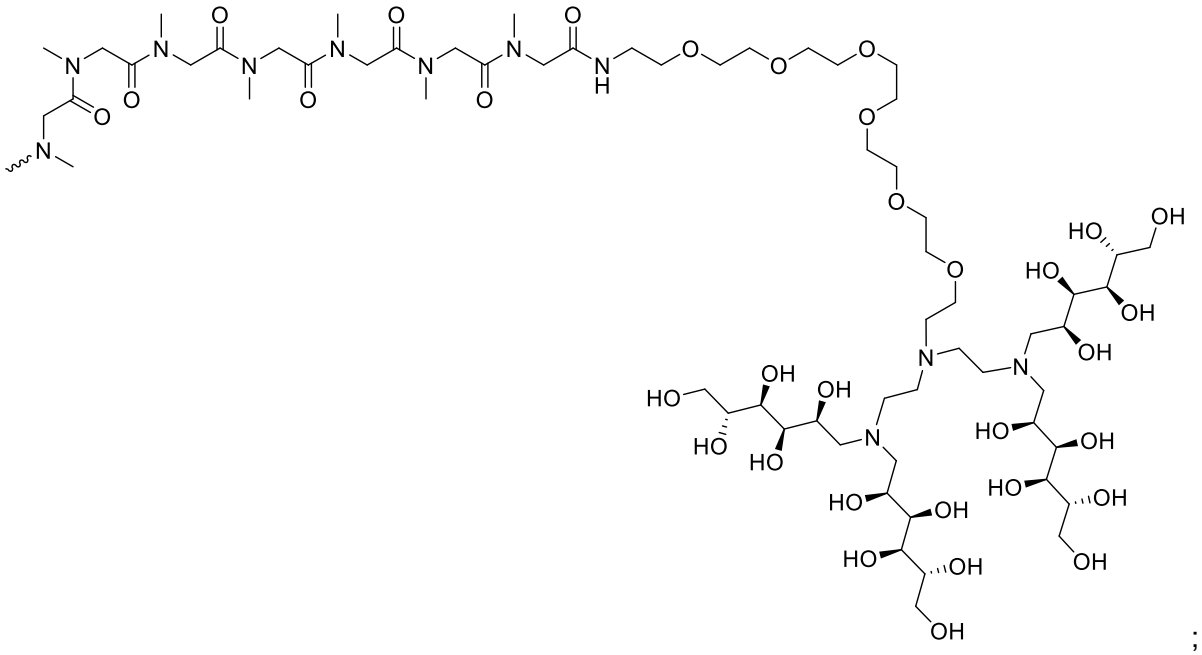




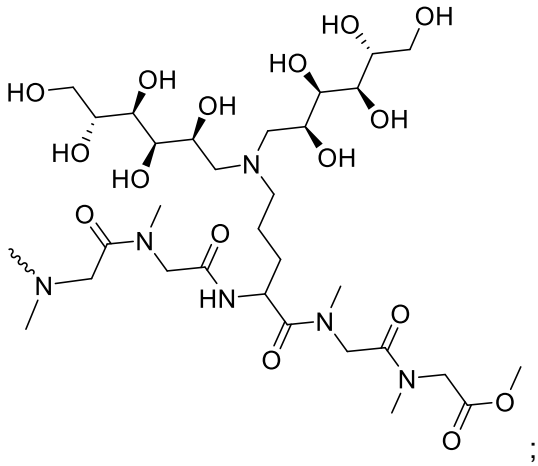




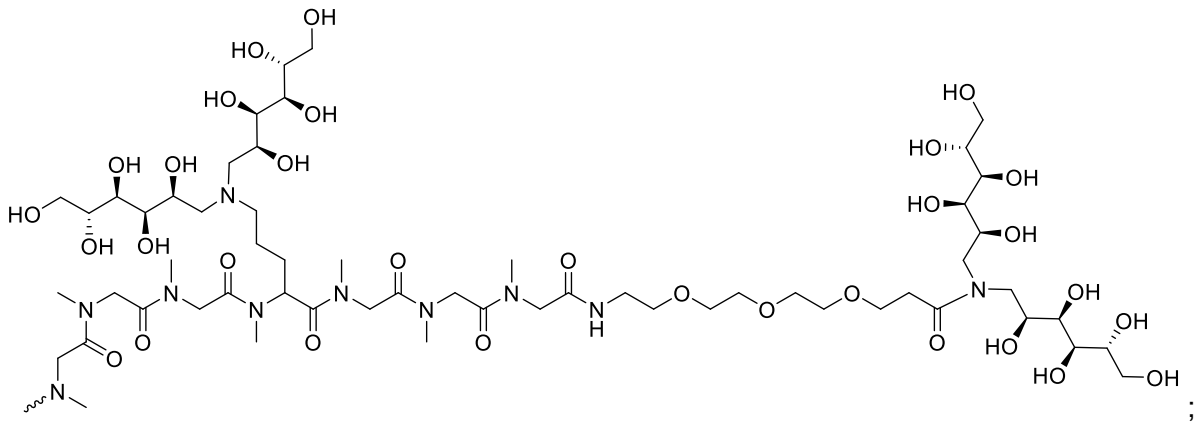
;

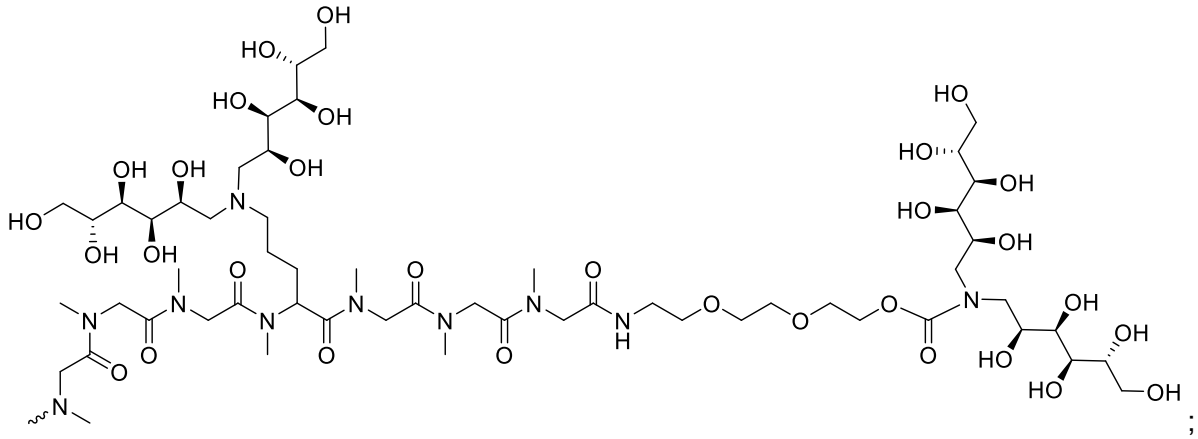


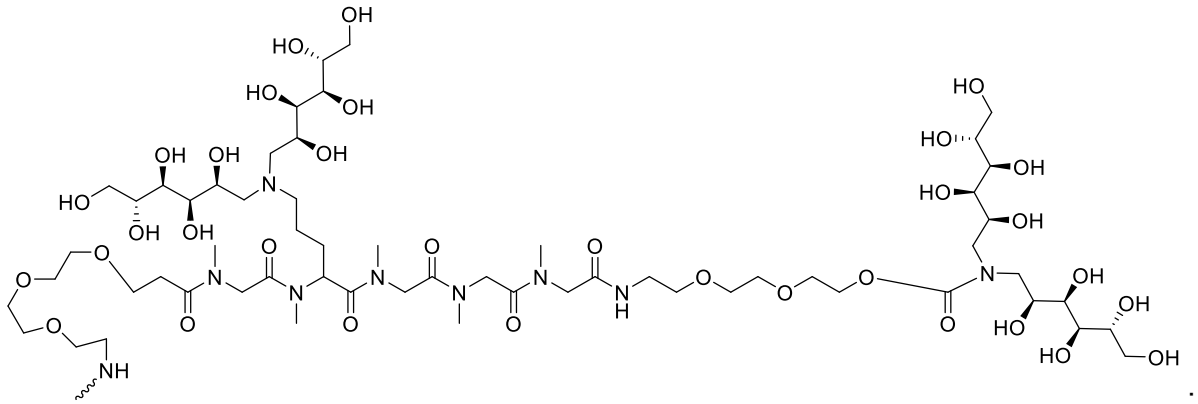
;

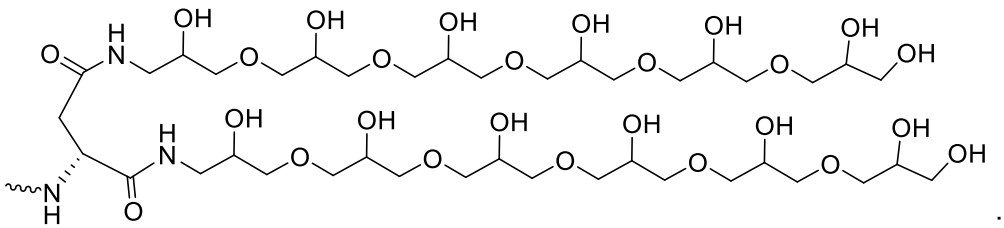


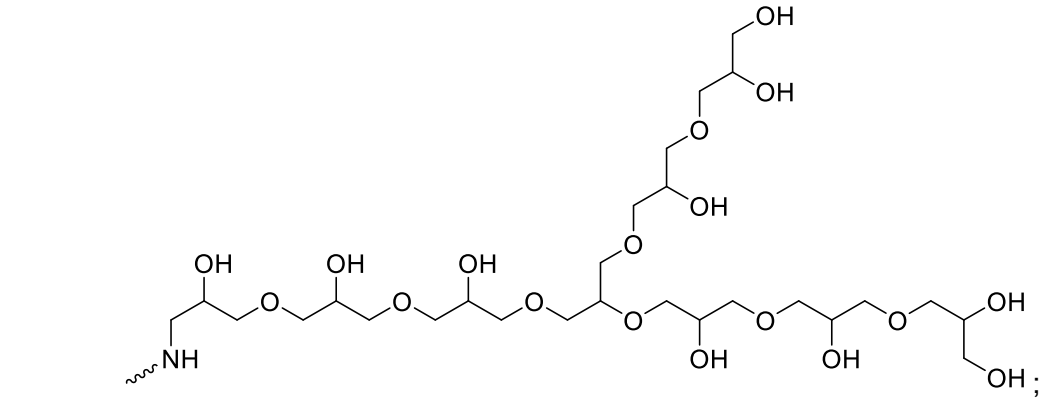
;


;

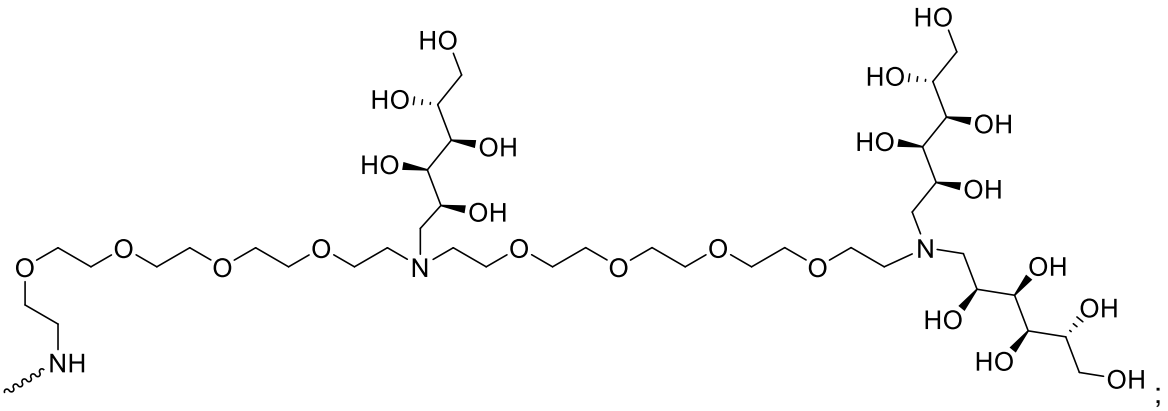

;


;

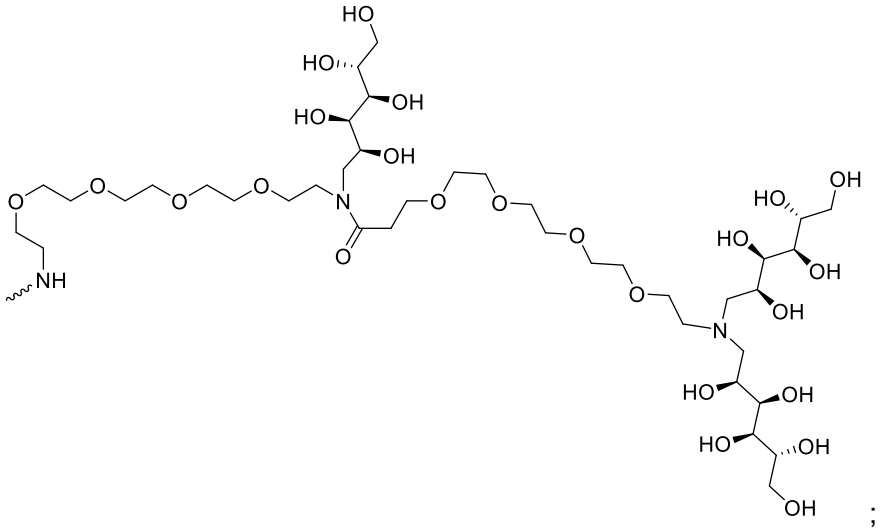

;



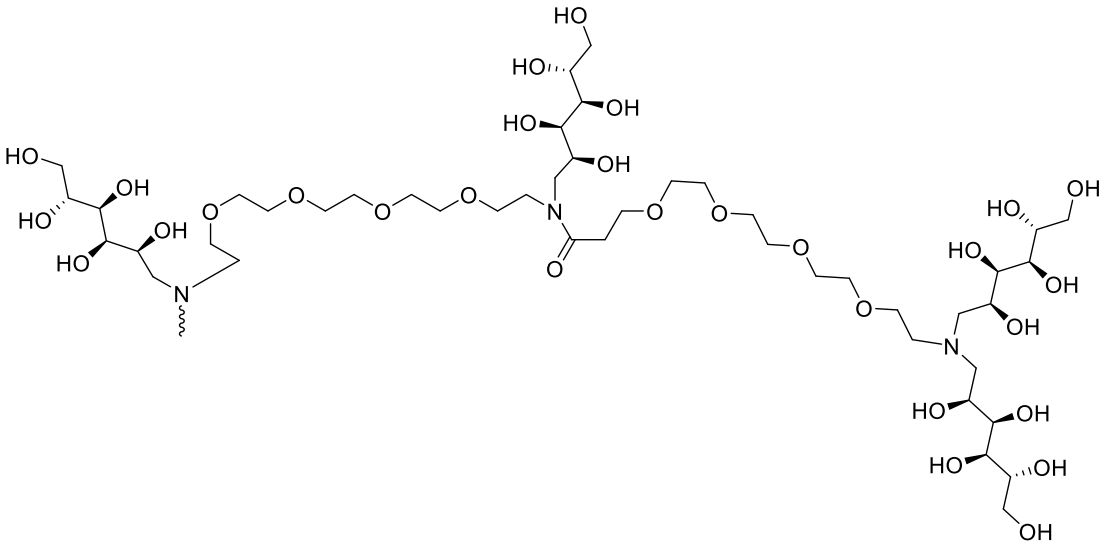
;



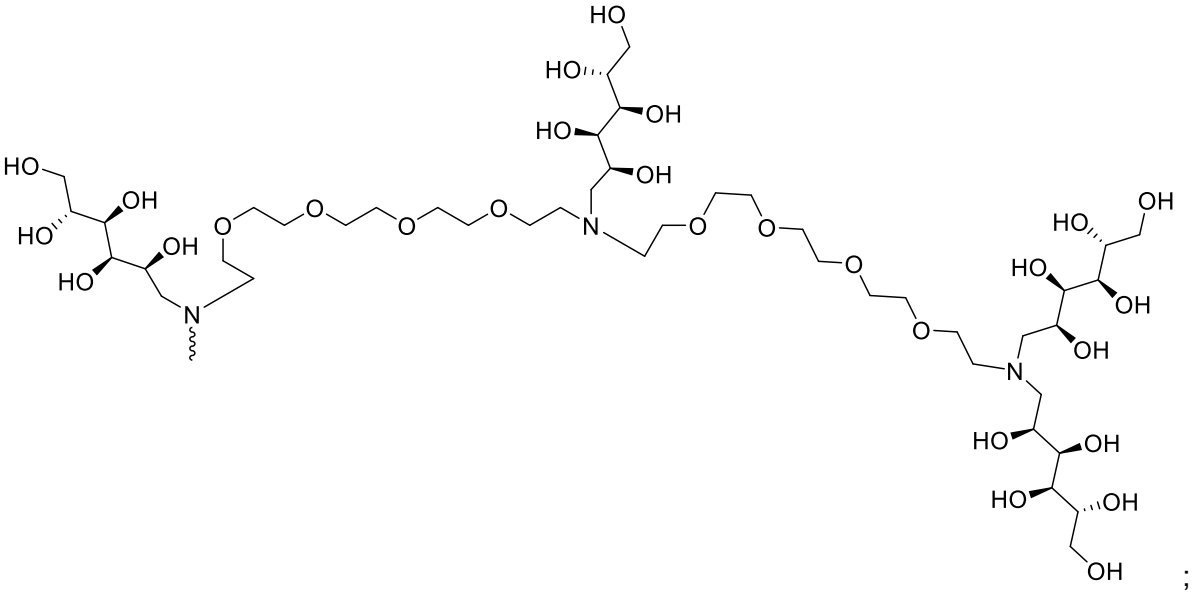
;



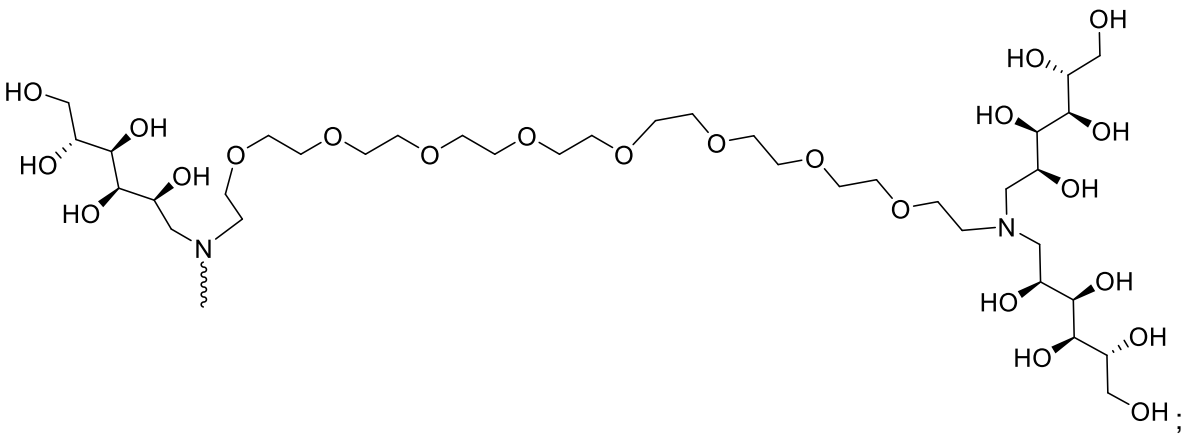
;



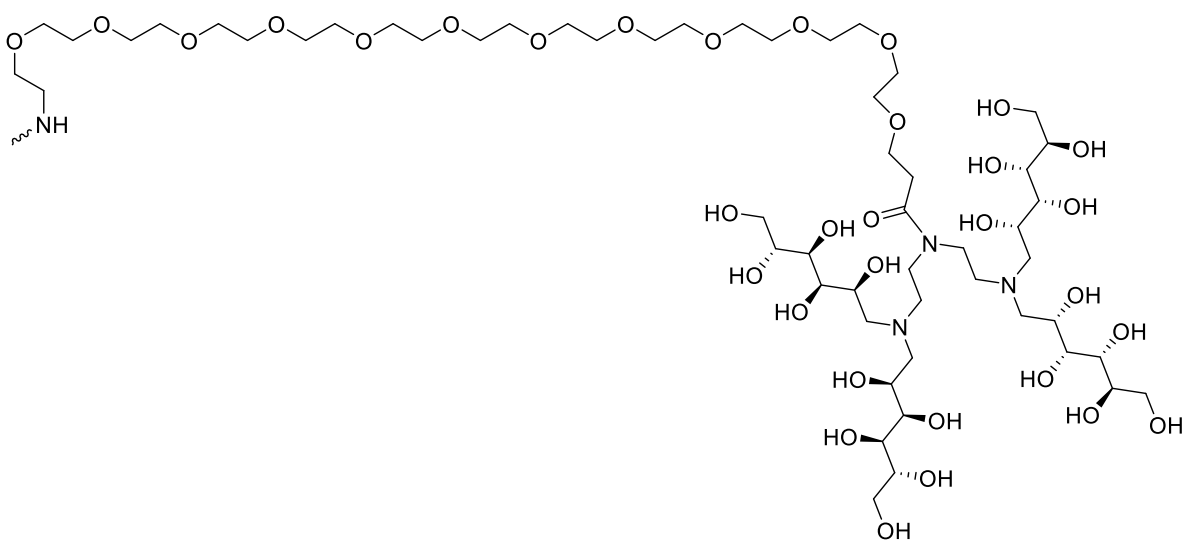
;



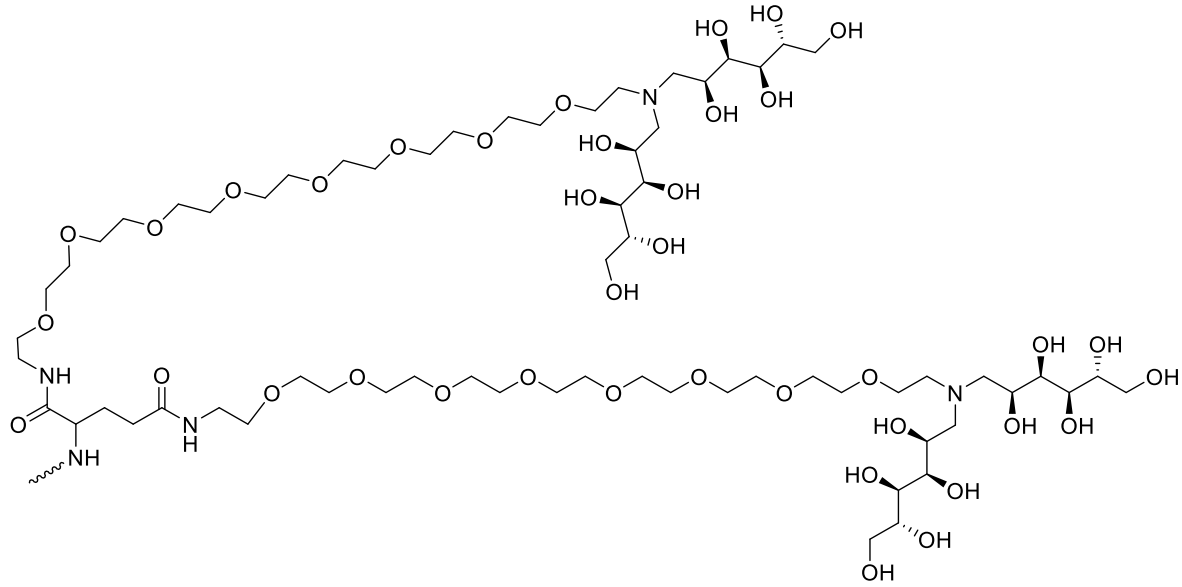
;



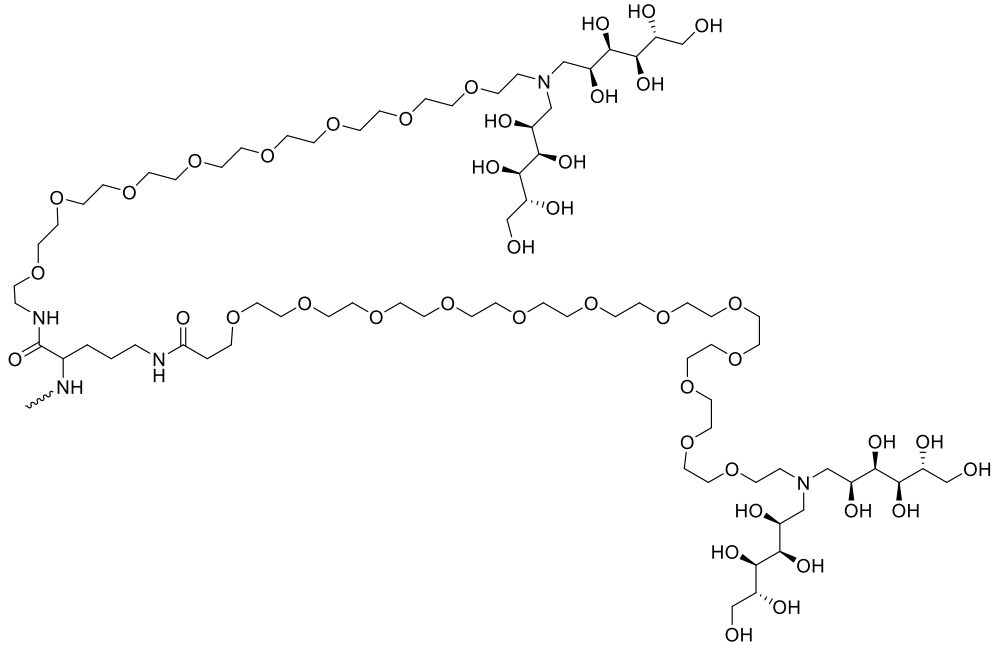
;



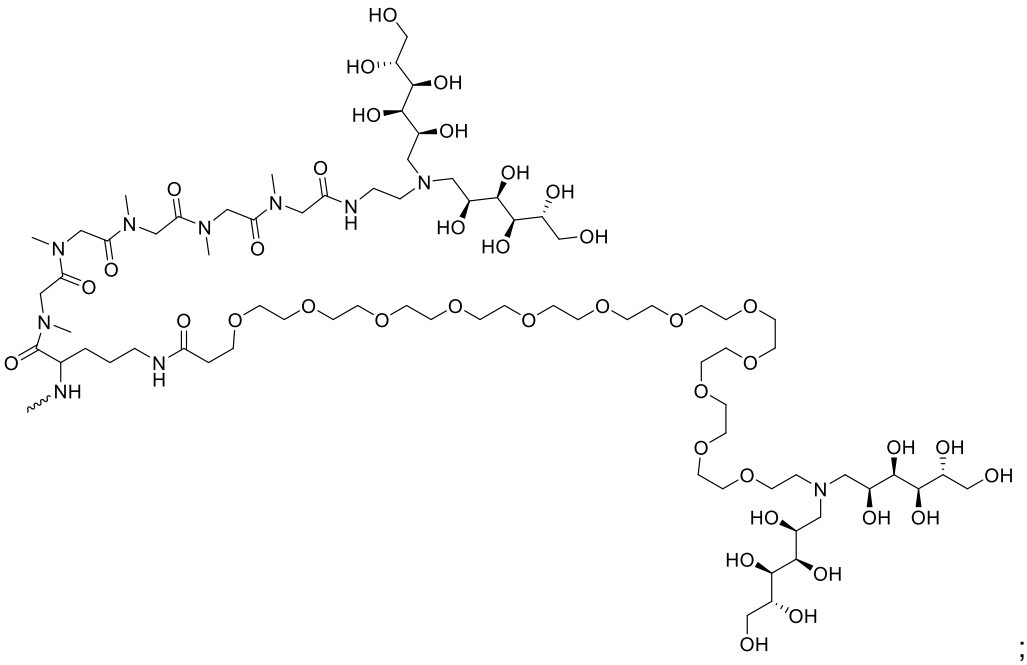
;



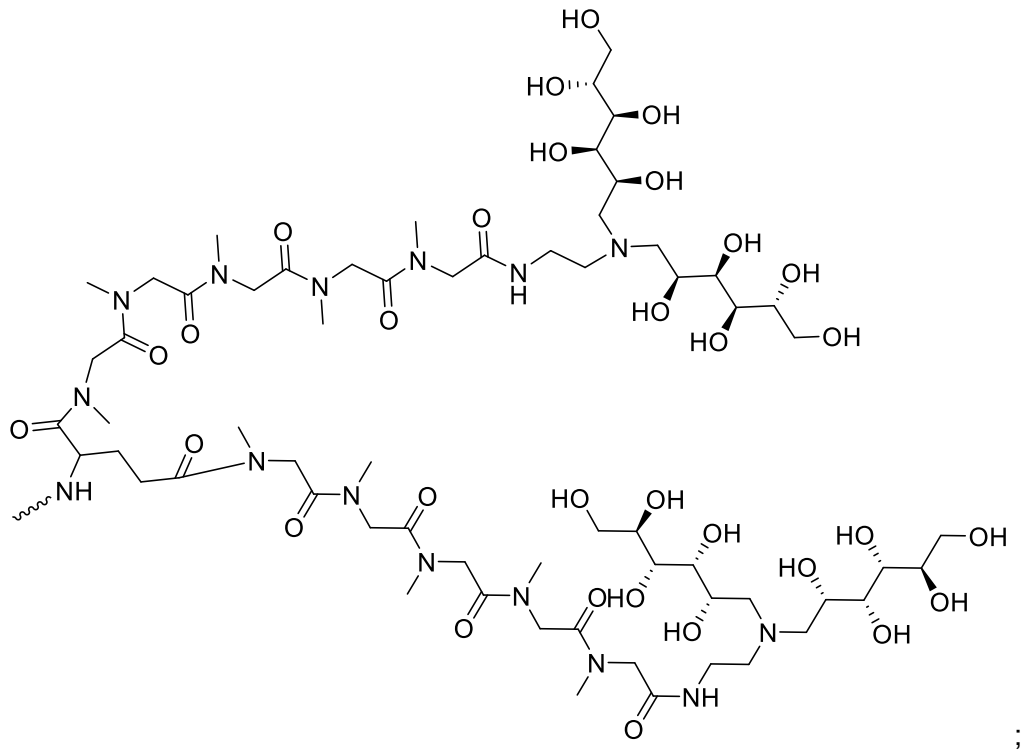
;



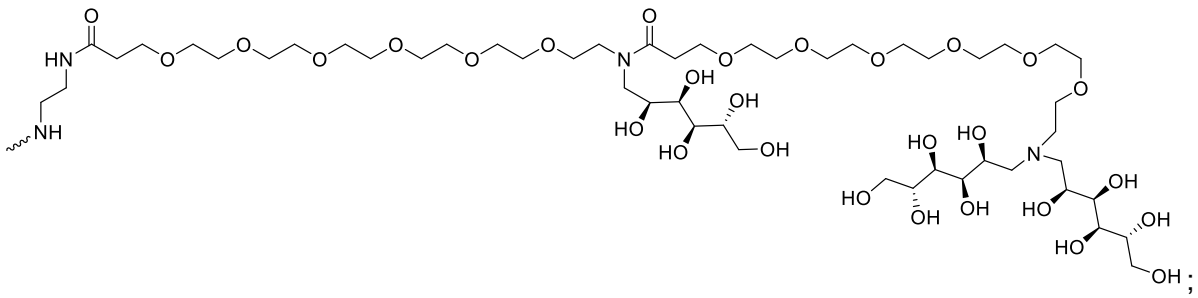
;



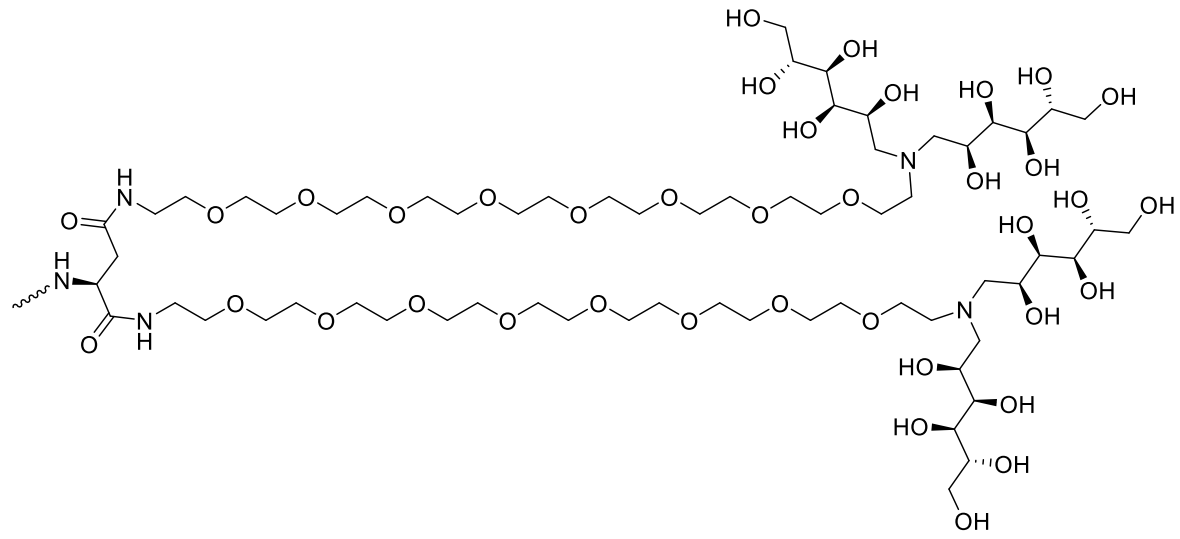
;



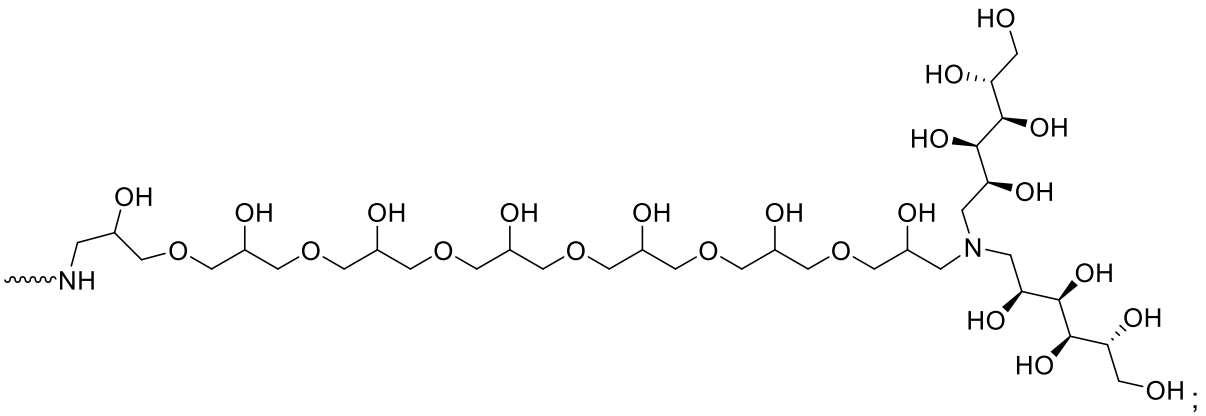
;



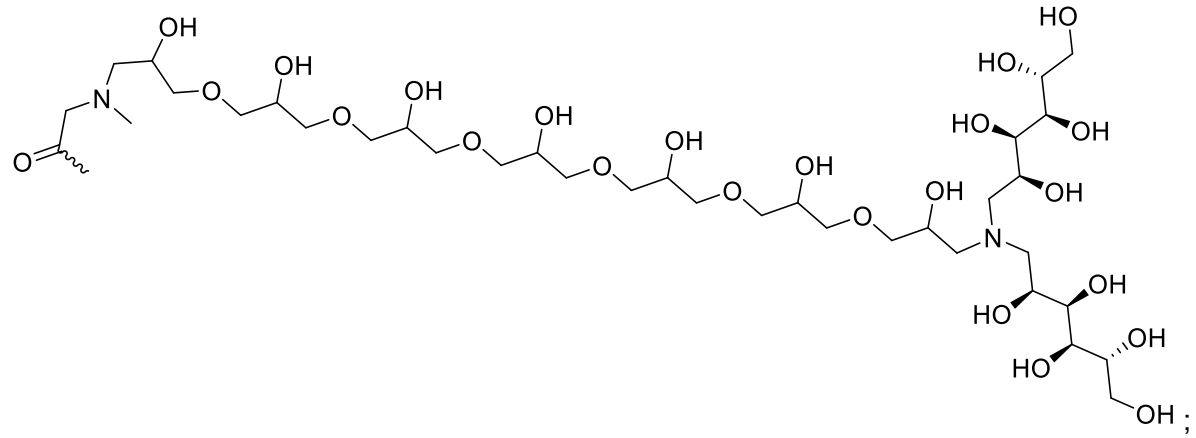
;



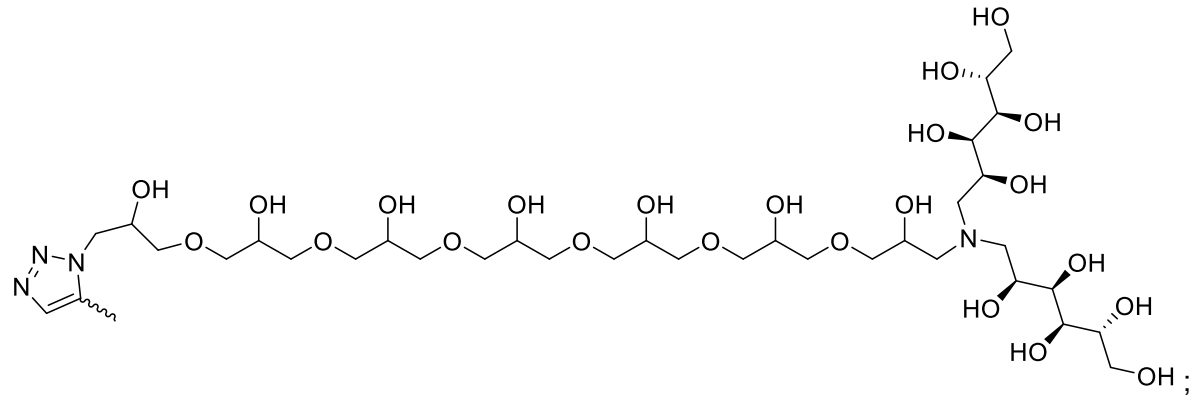
;



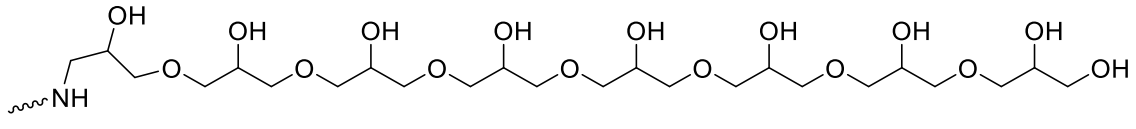
;

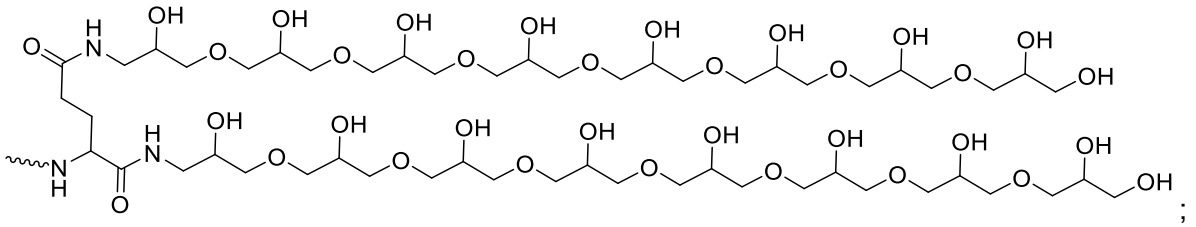


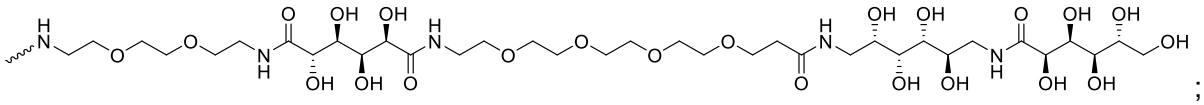
;

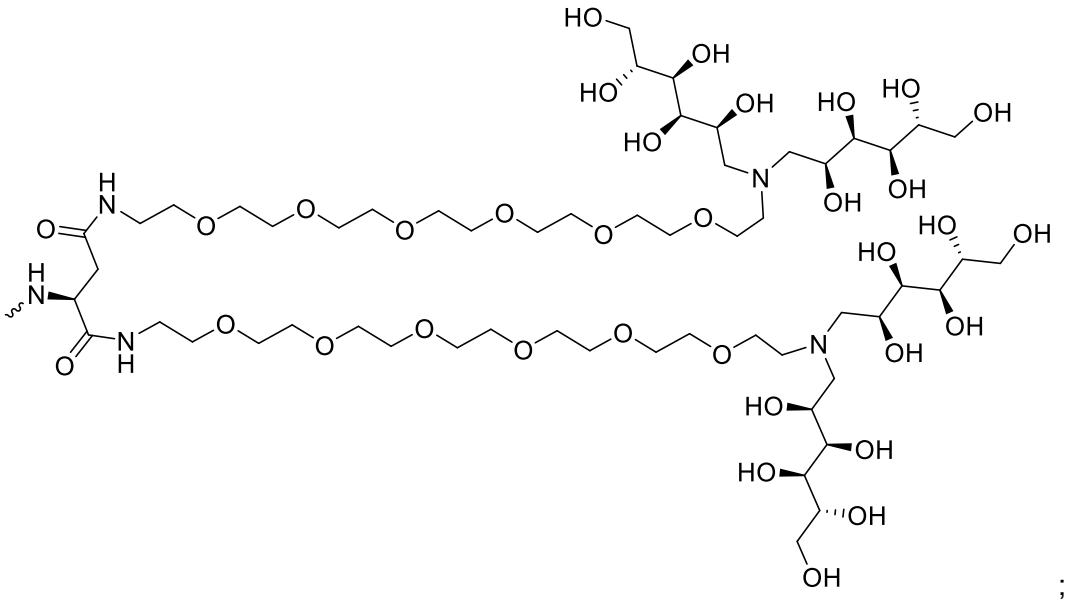


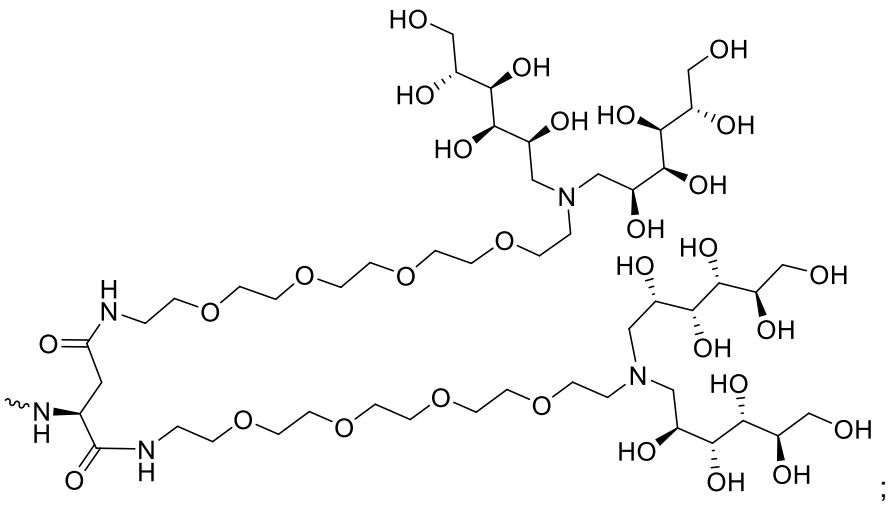
;

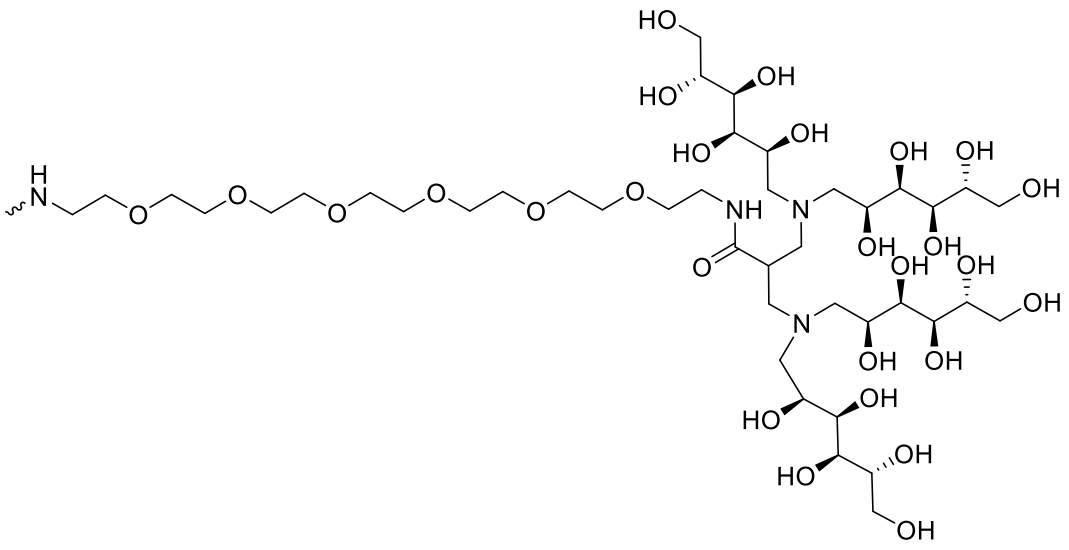

;


;

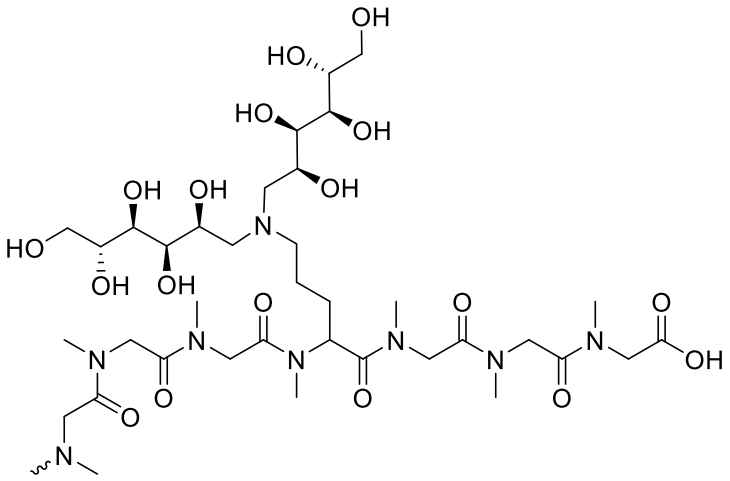

;


;

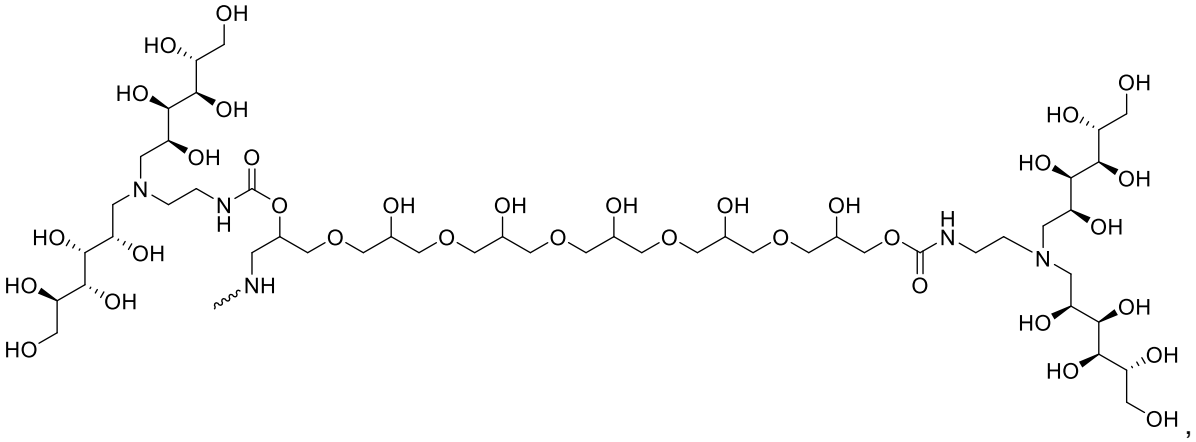

;



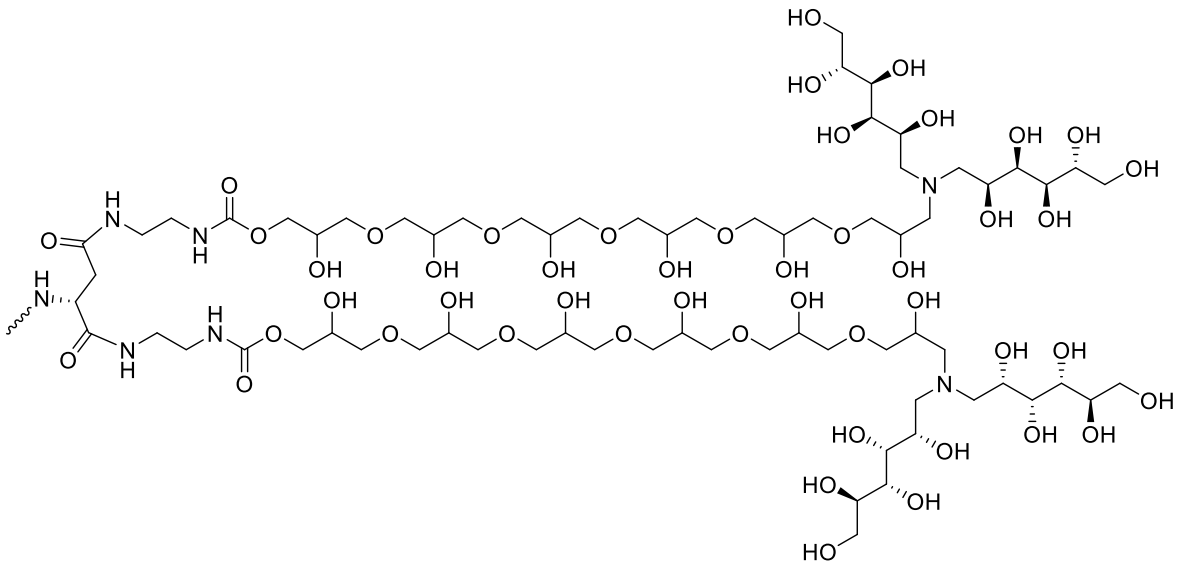
;



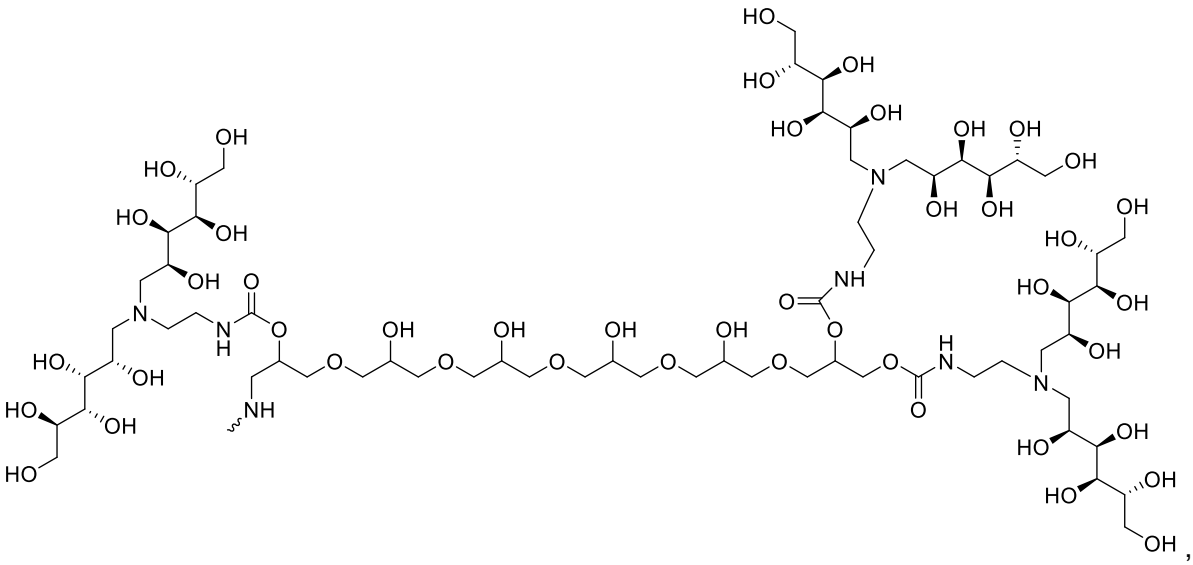
;



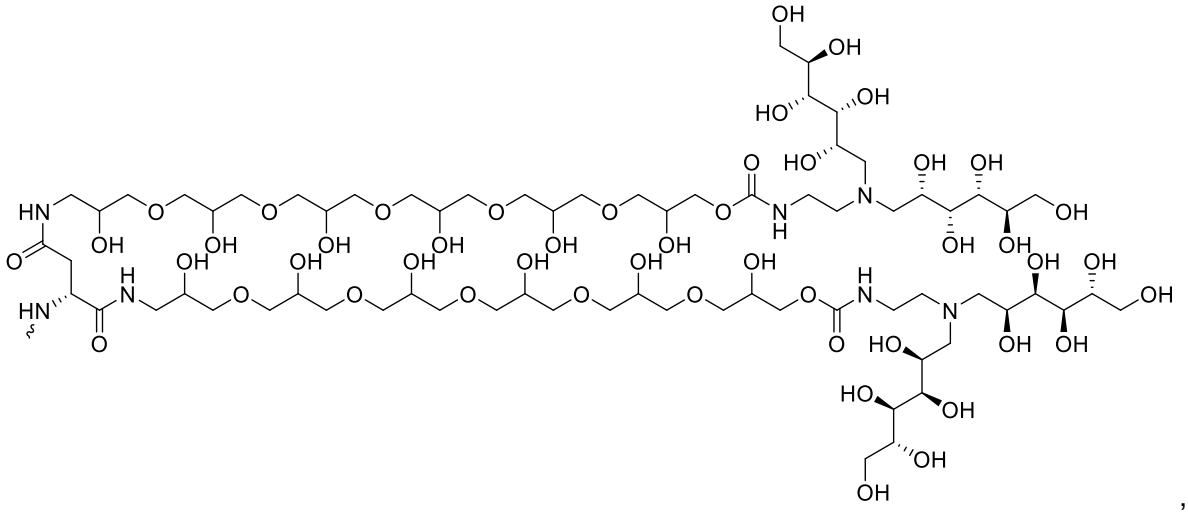
,



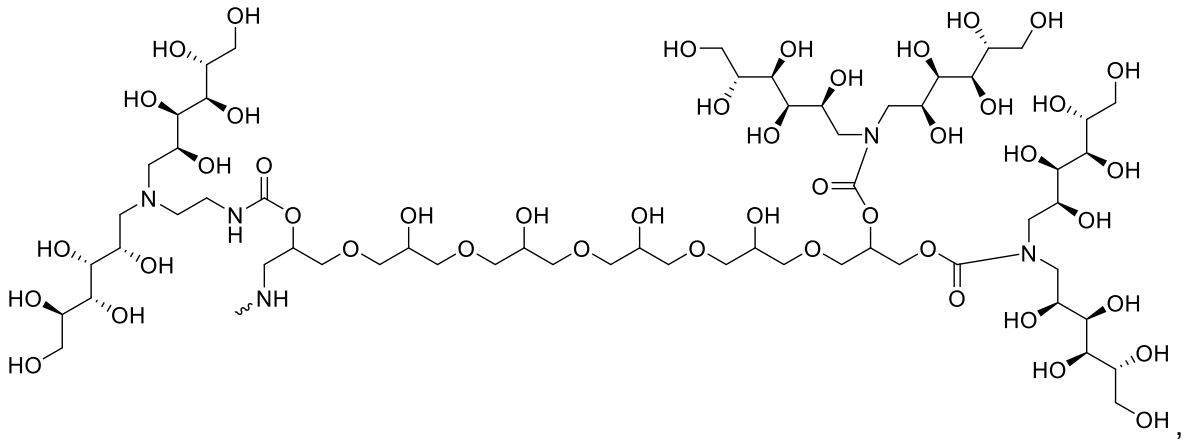
,



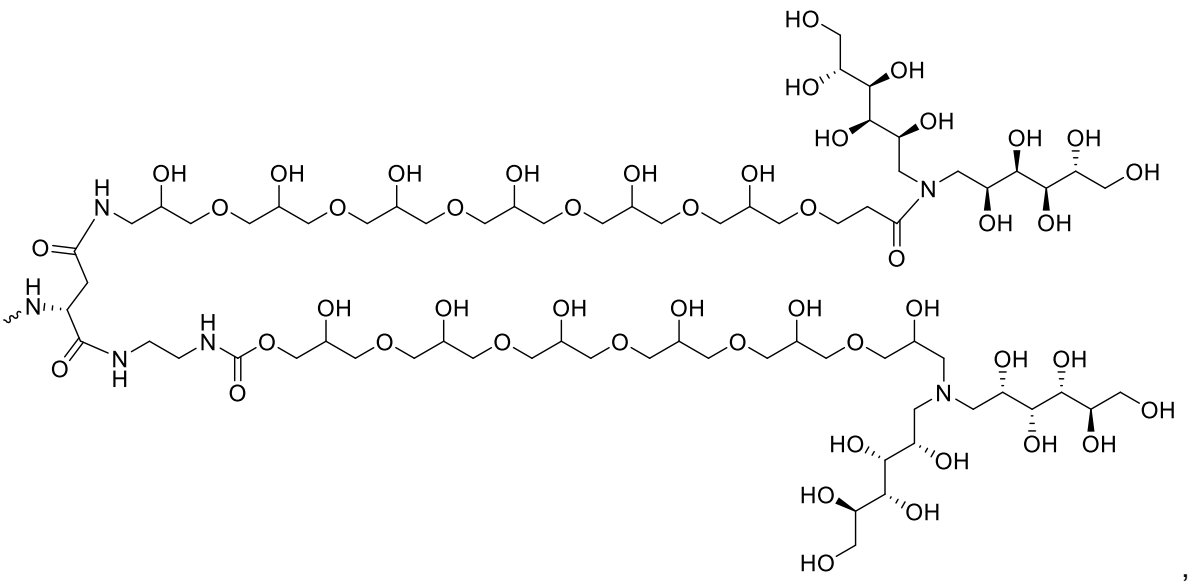
,



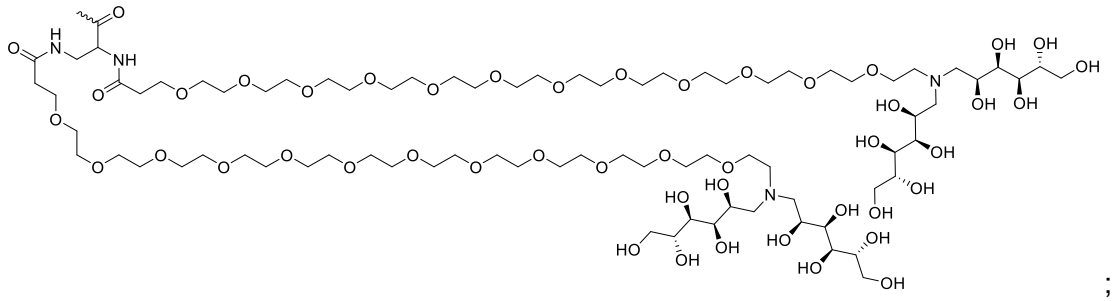
,



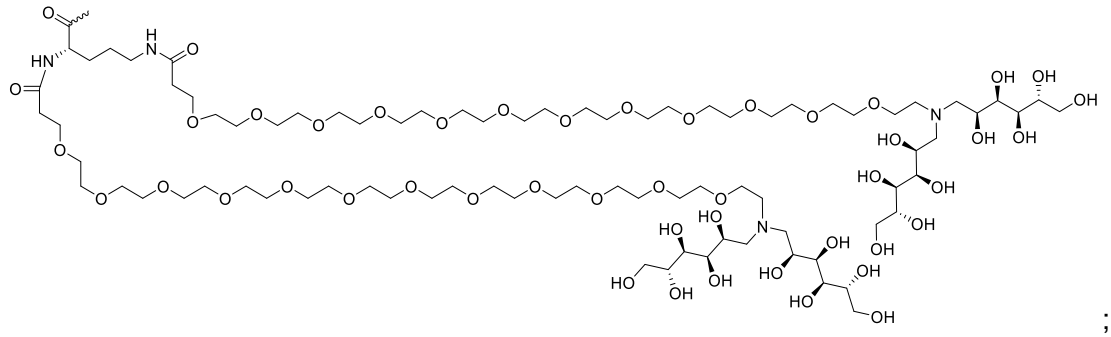
,



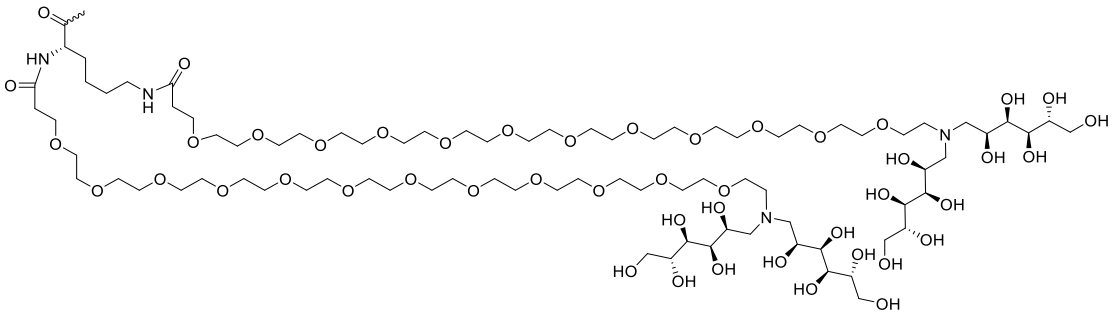
,



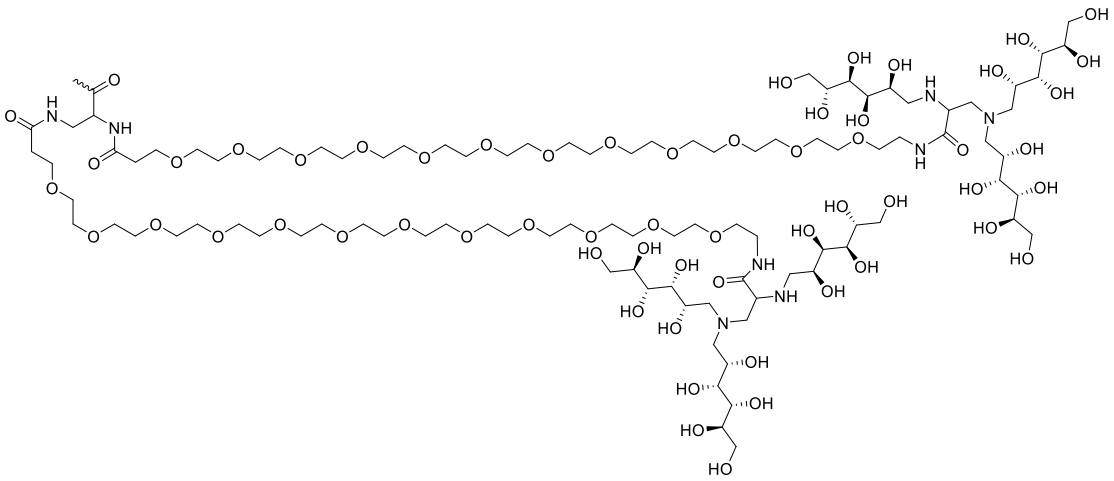
;



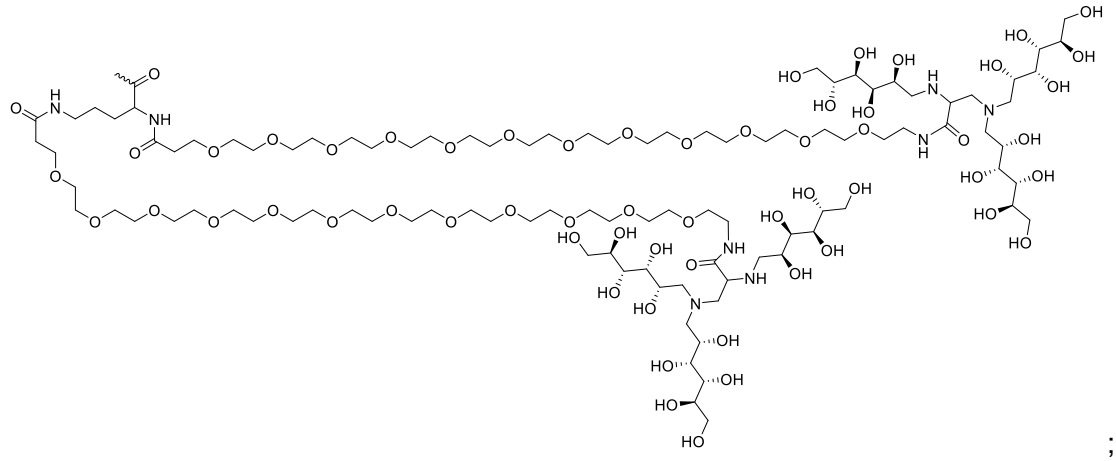
;



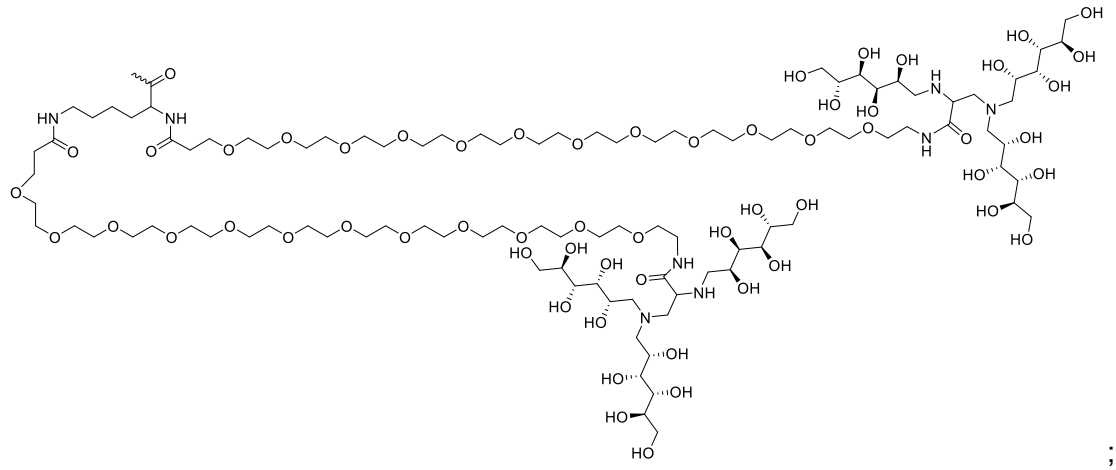
;



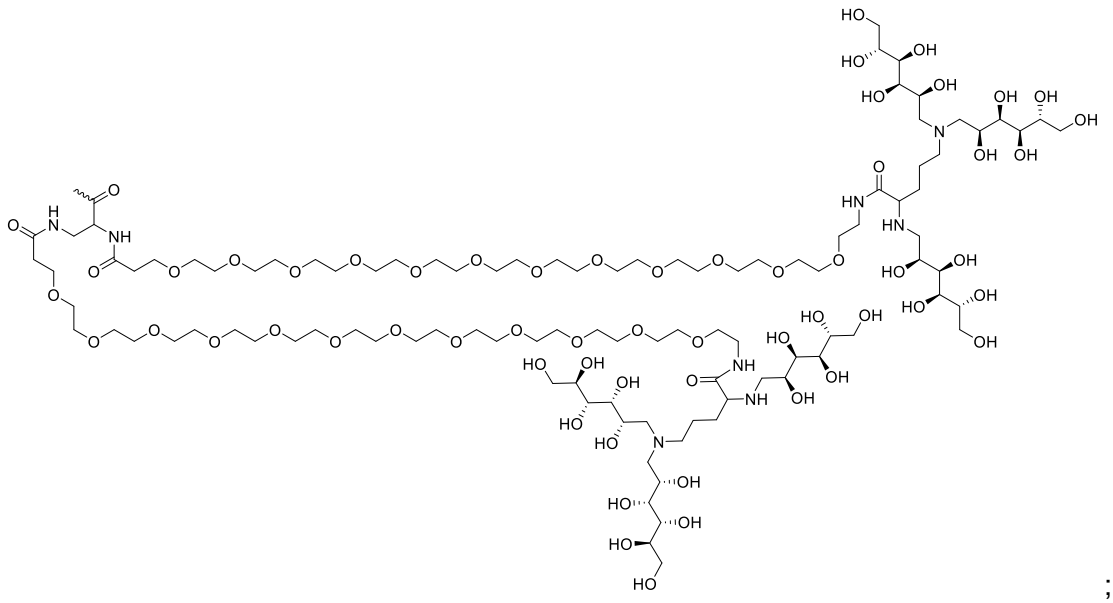
;



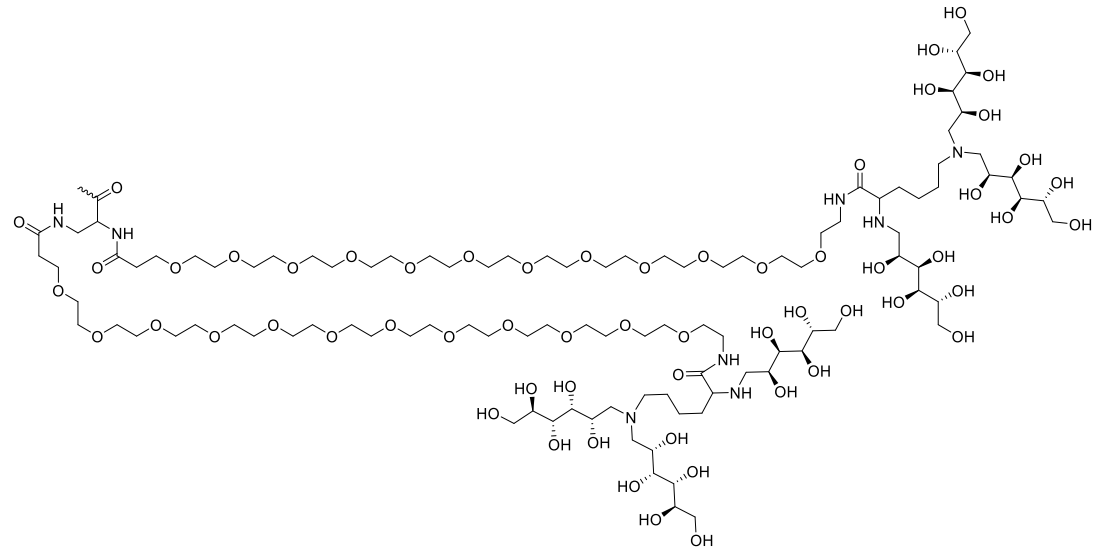
;



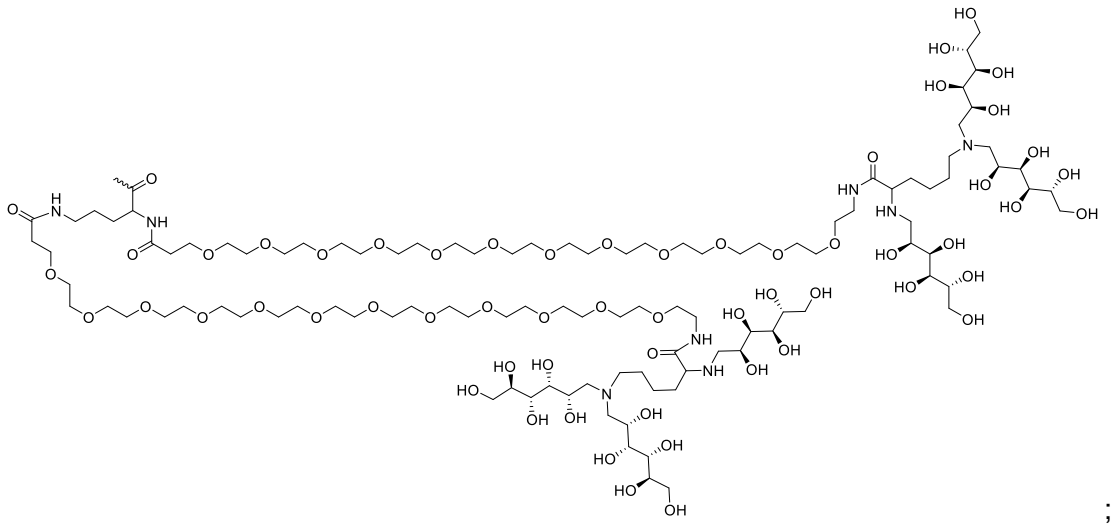
;



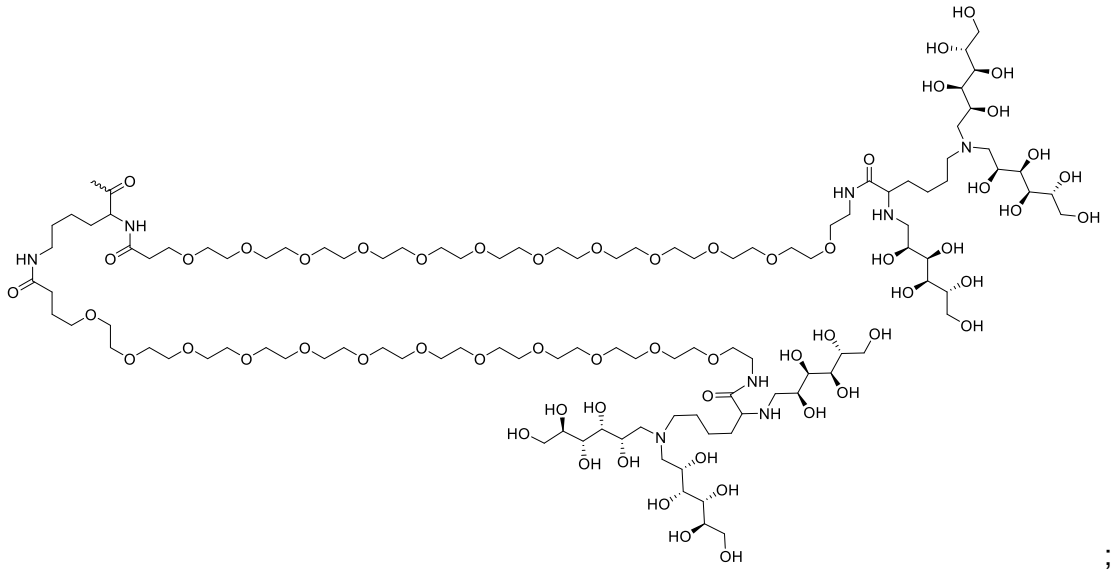
;



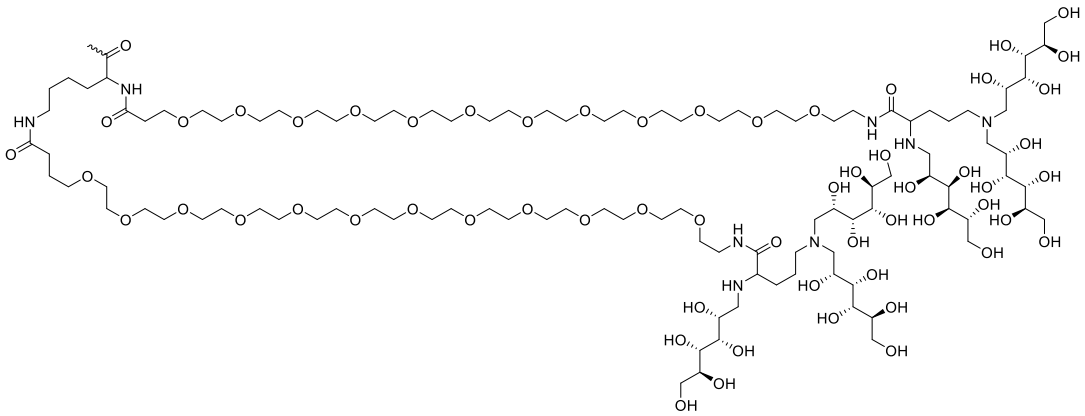
;



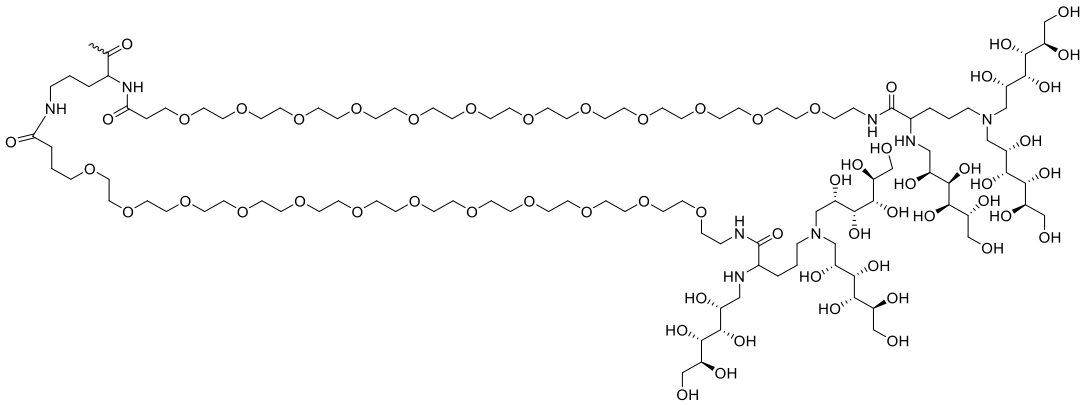
;



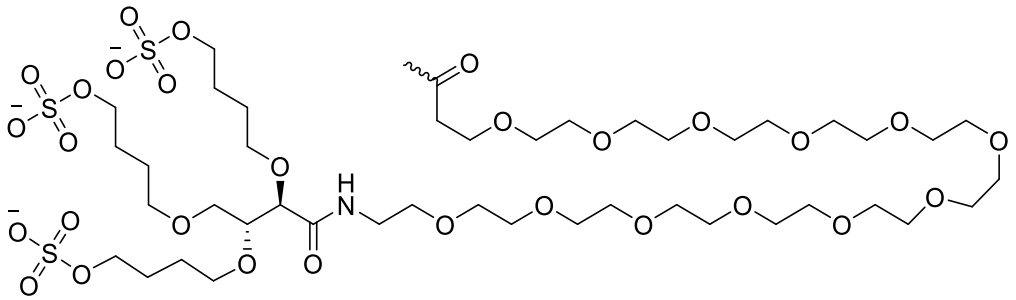
;



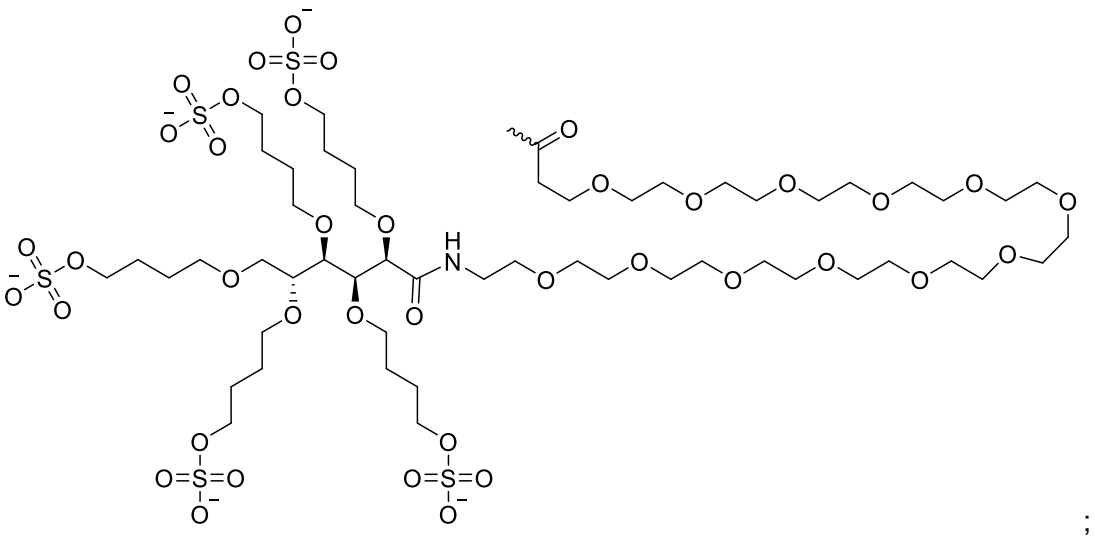
;



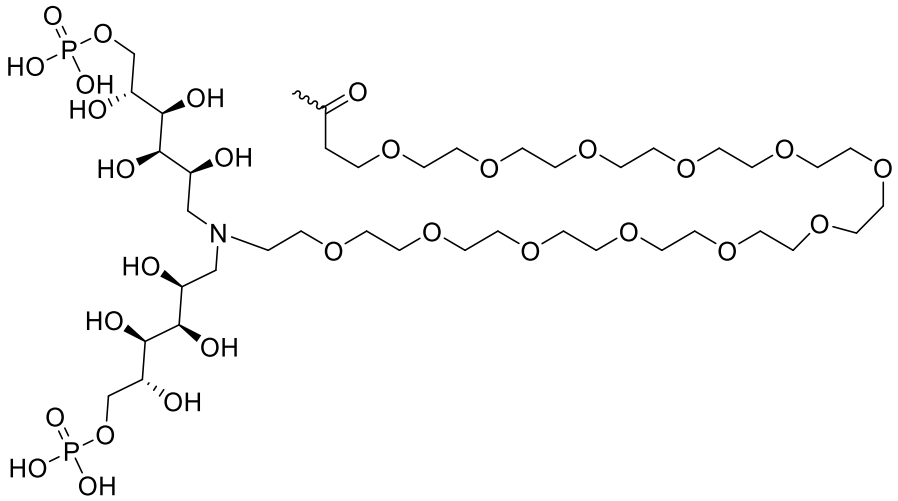
;



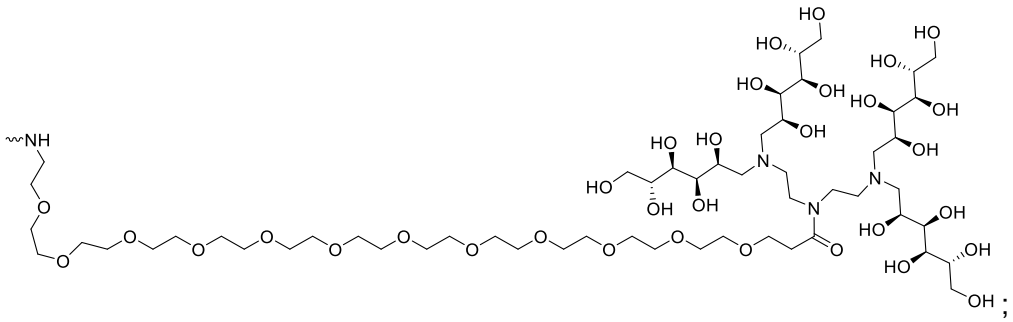
;



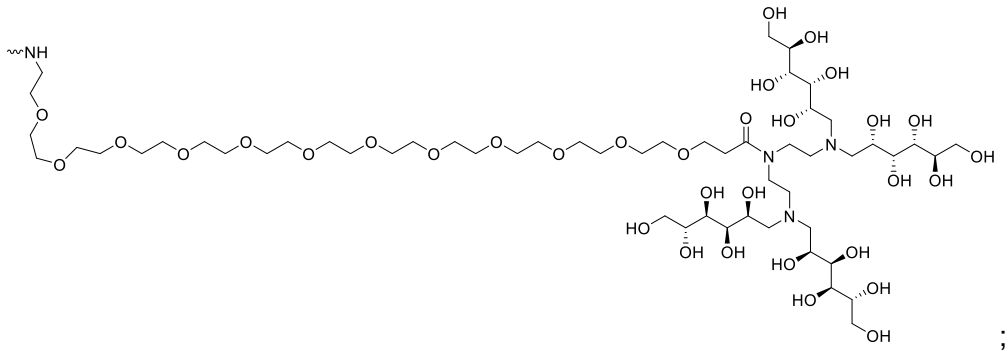
;



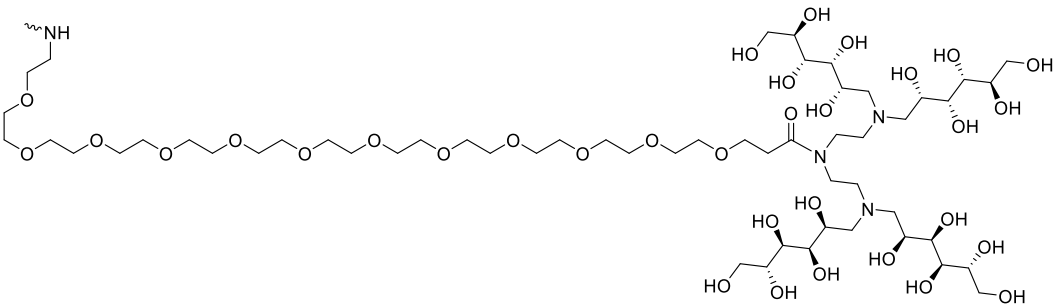
;



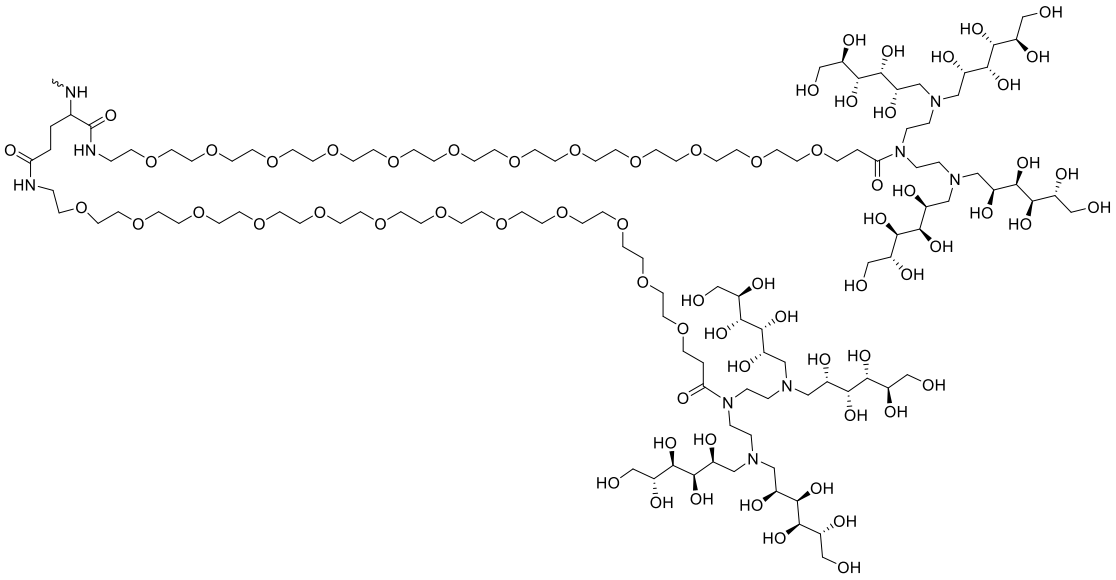
;



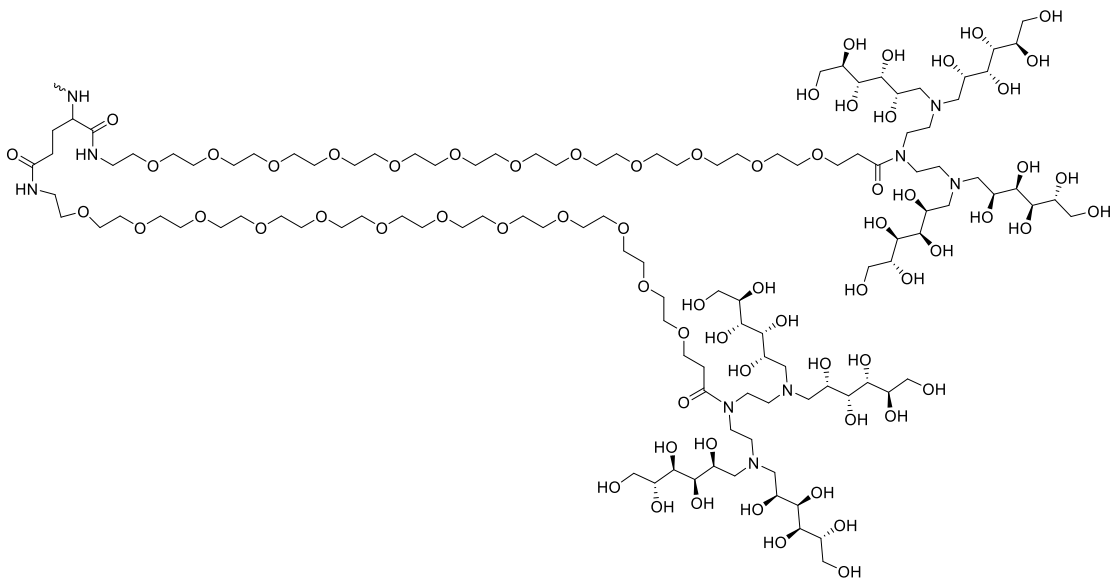
;



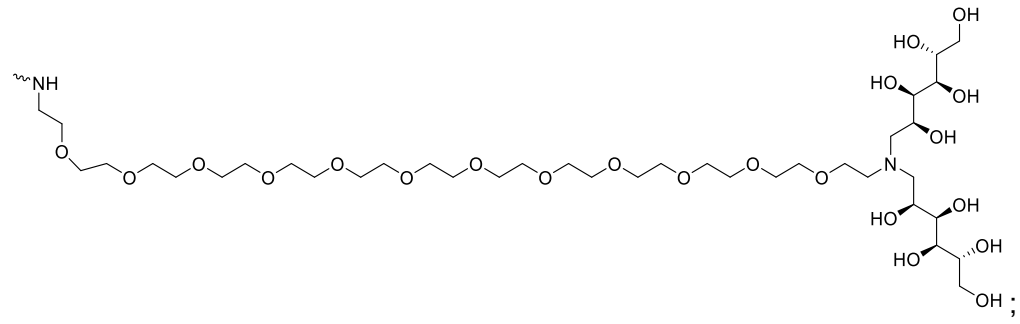
;



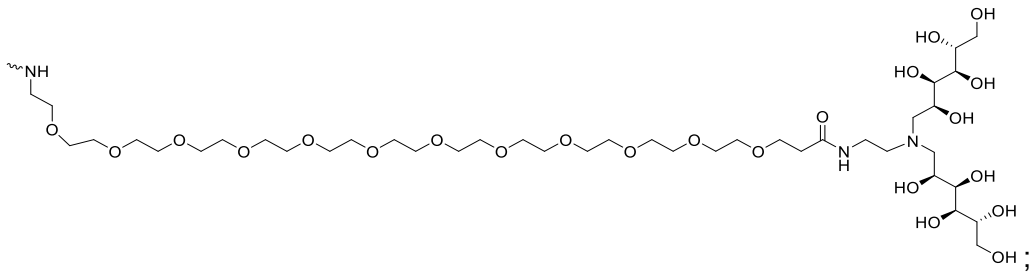
;



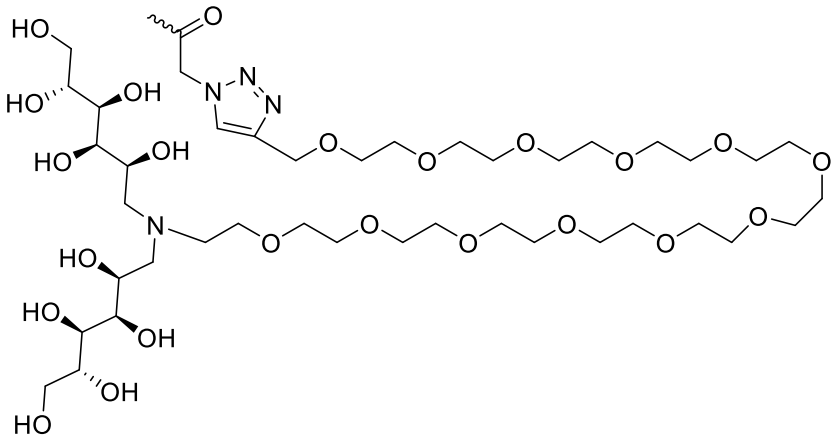
;



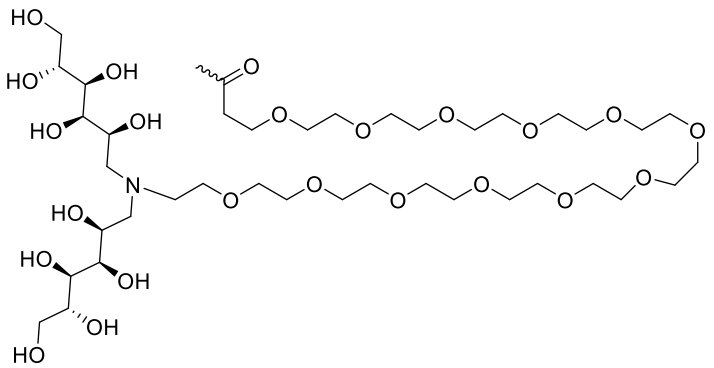
;



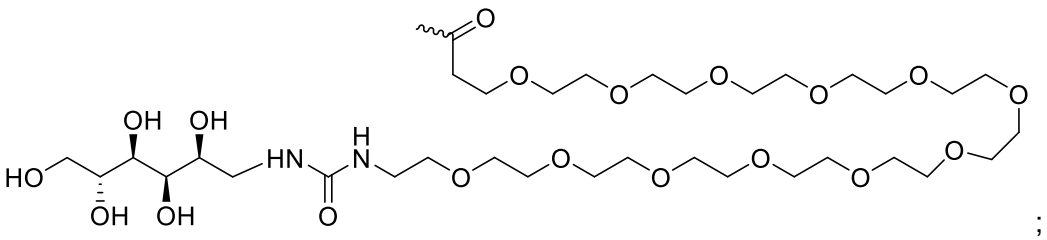
;



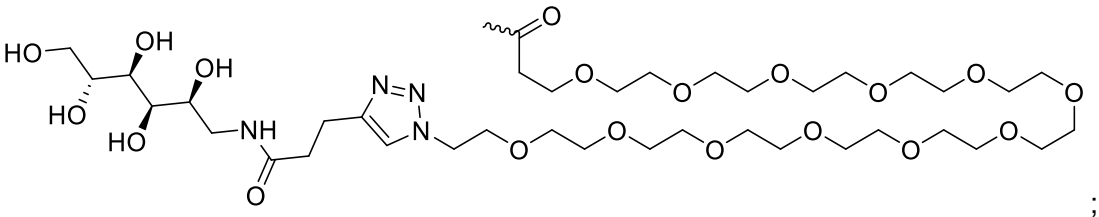
;



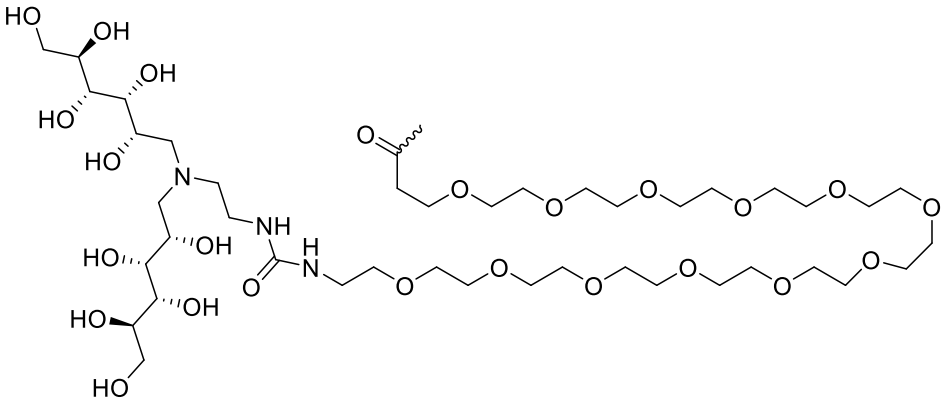
;



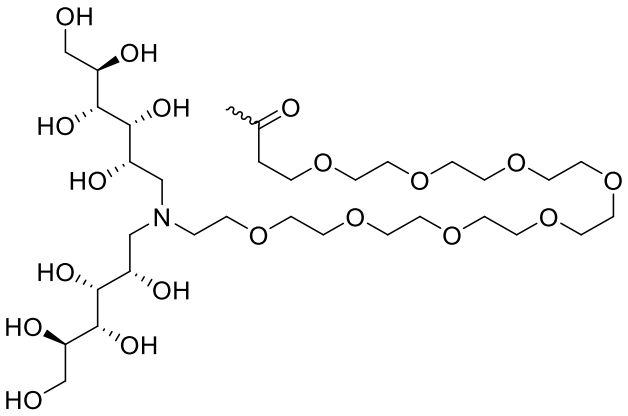
;



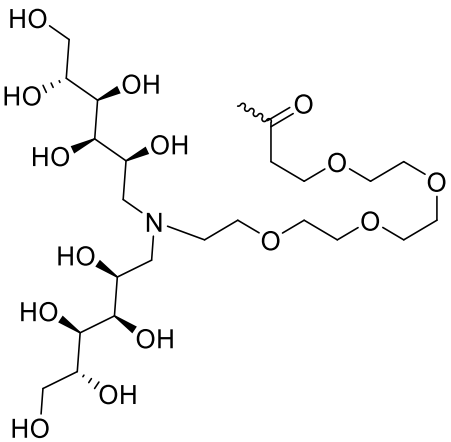
;



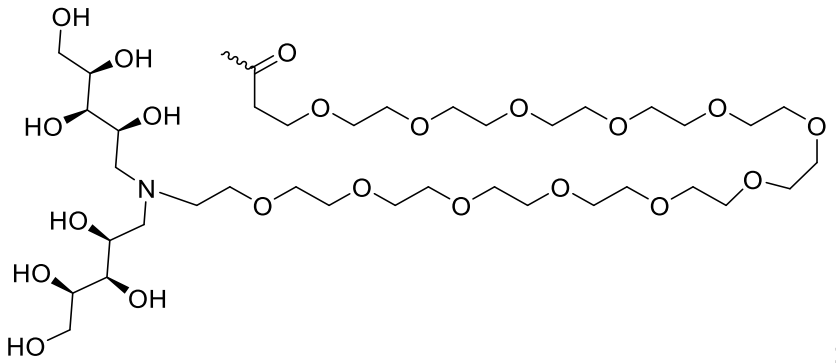
;



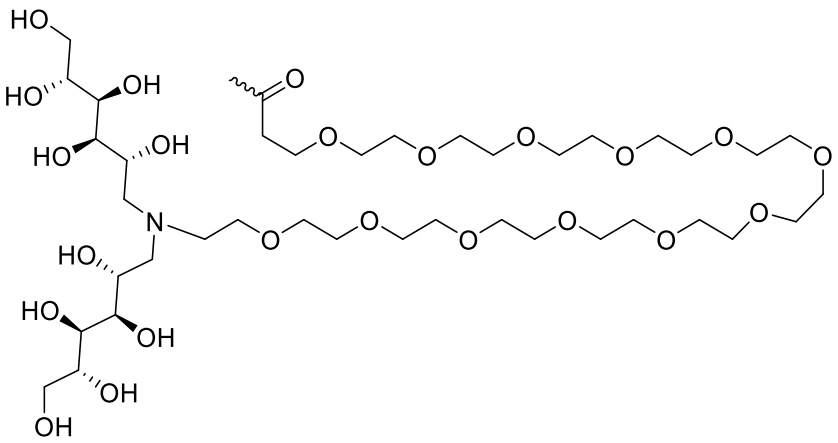
;



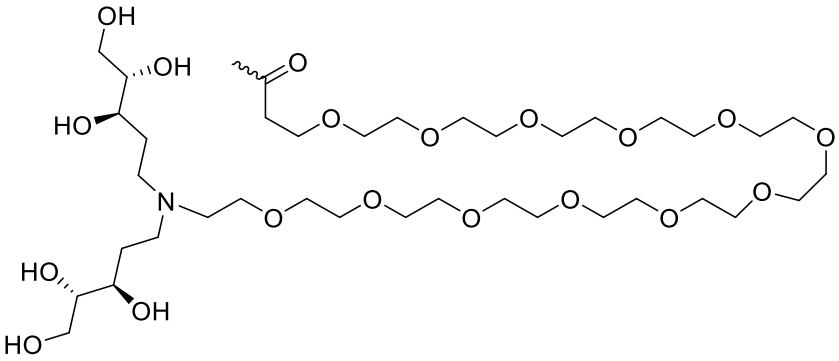
;



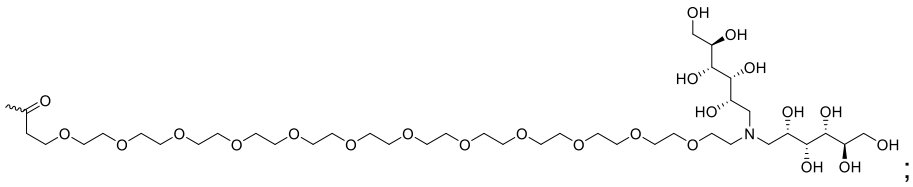
;



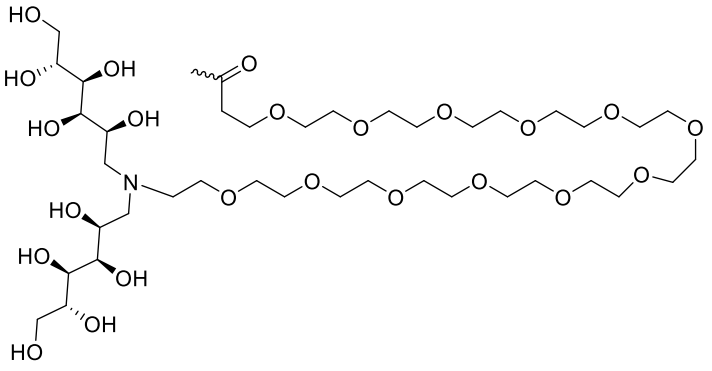
;



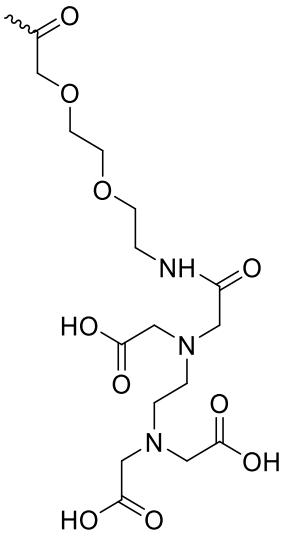
;



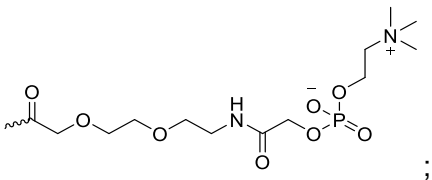
;



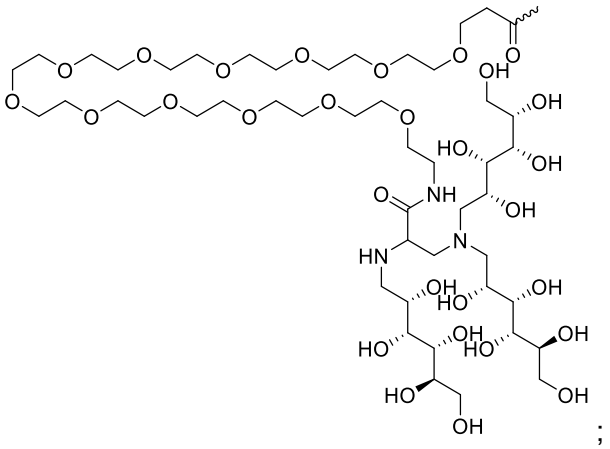
;



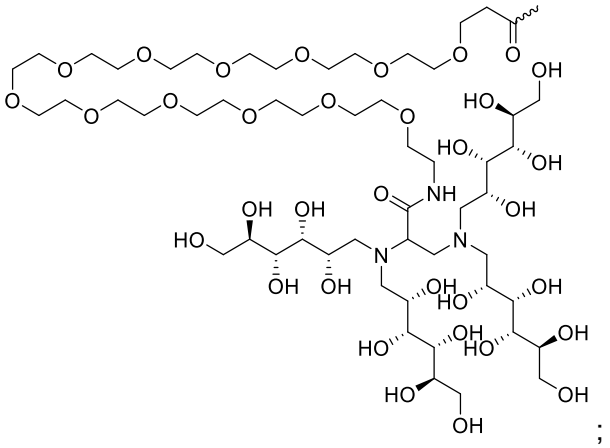
;



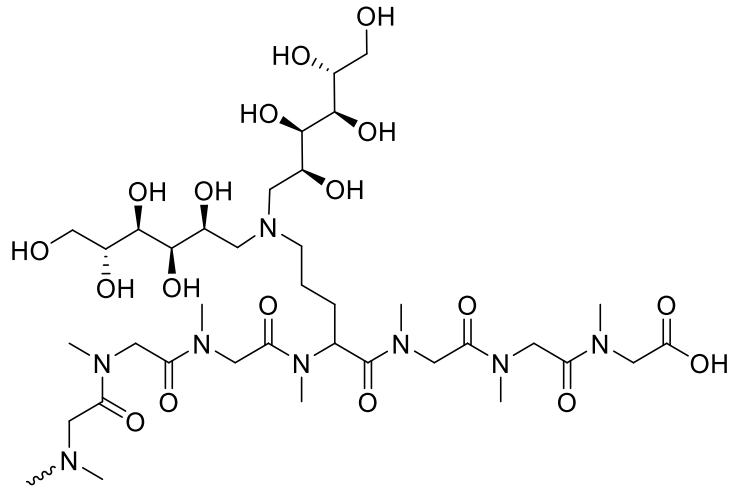
;



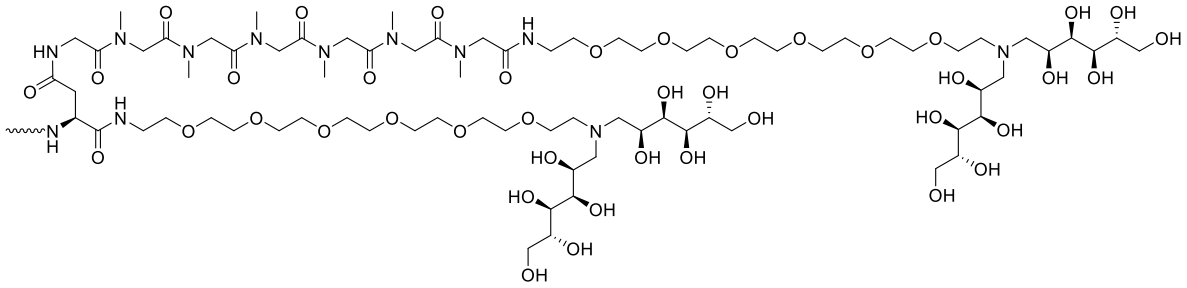
;



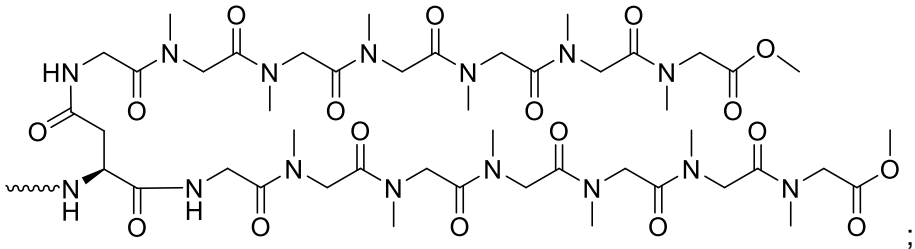
;



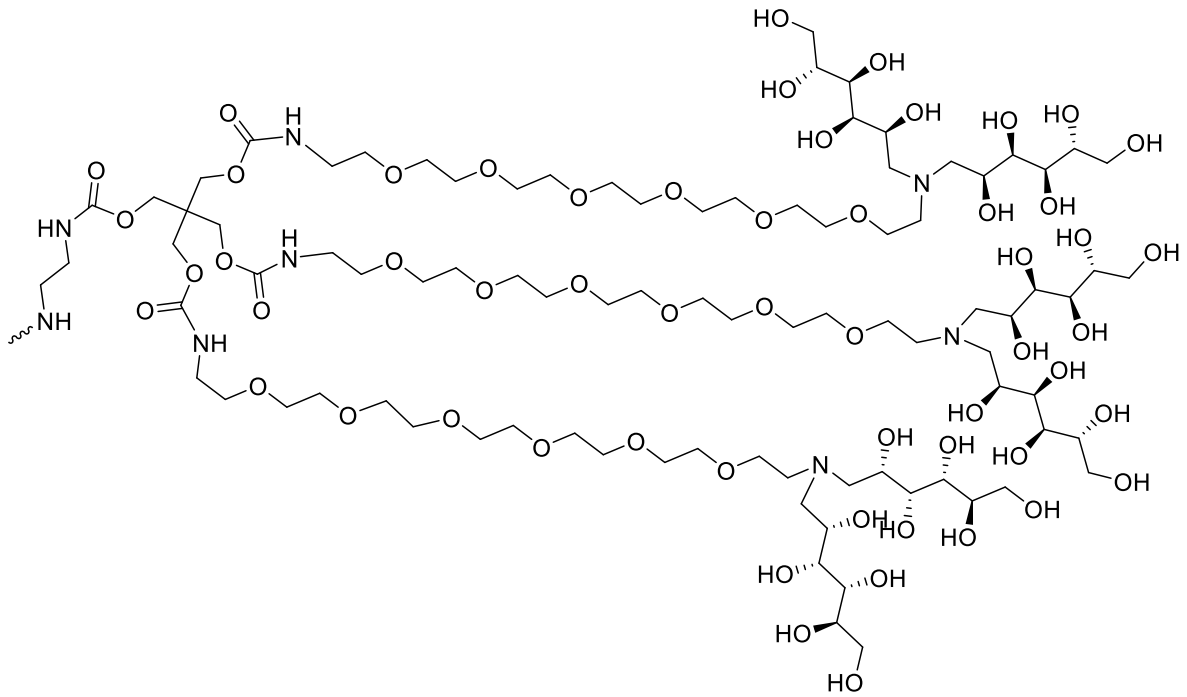
;



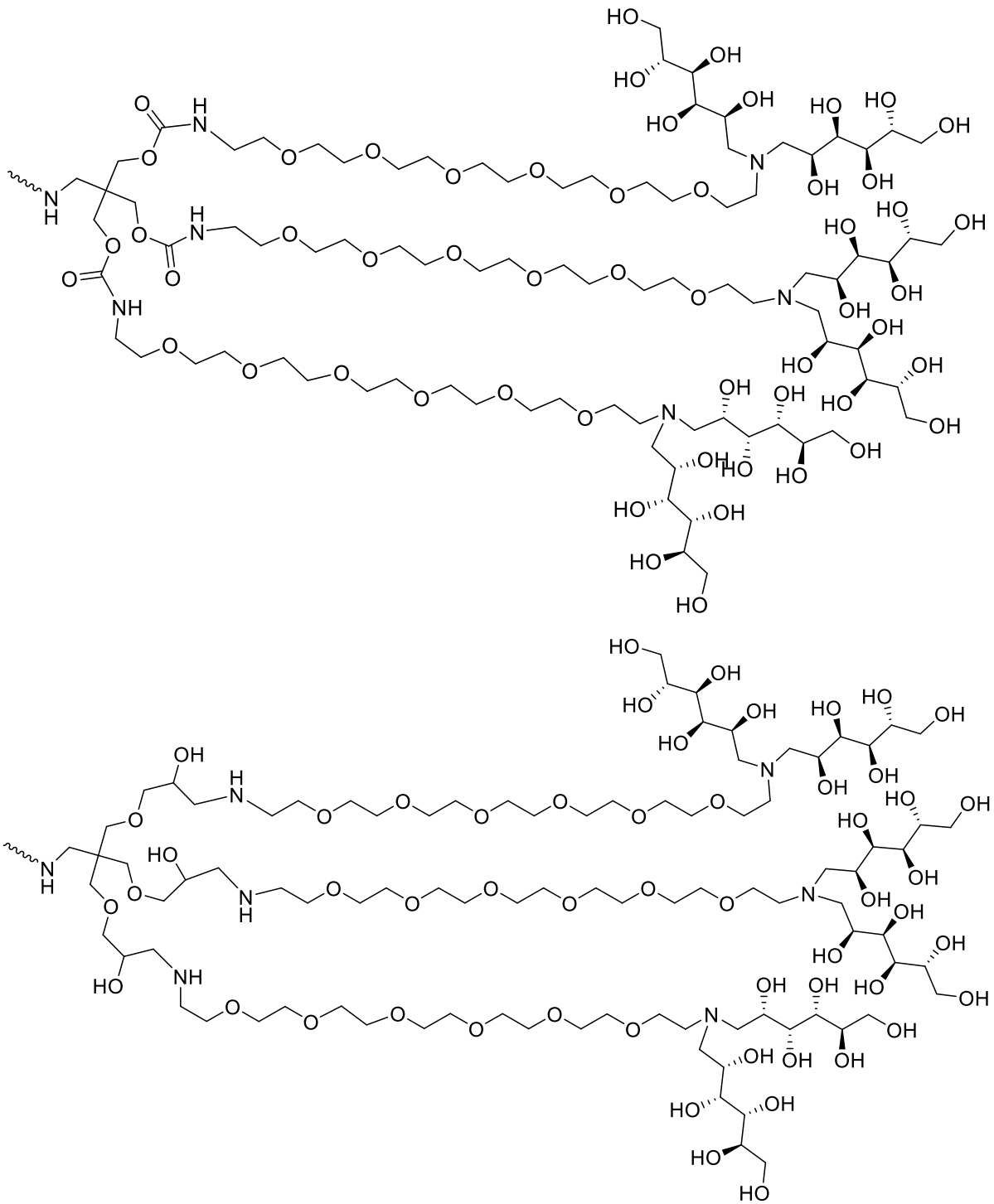
;

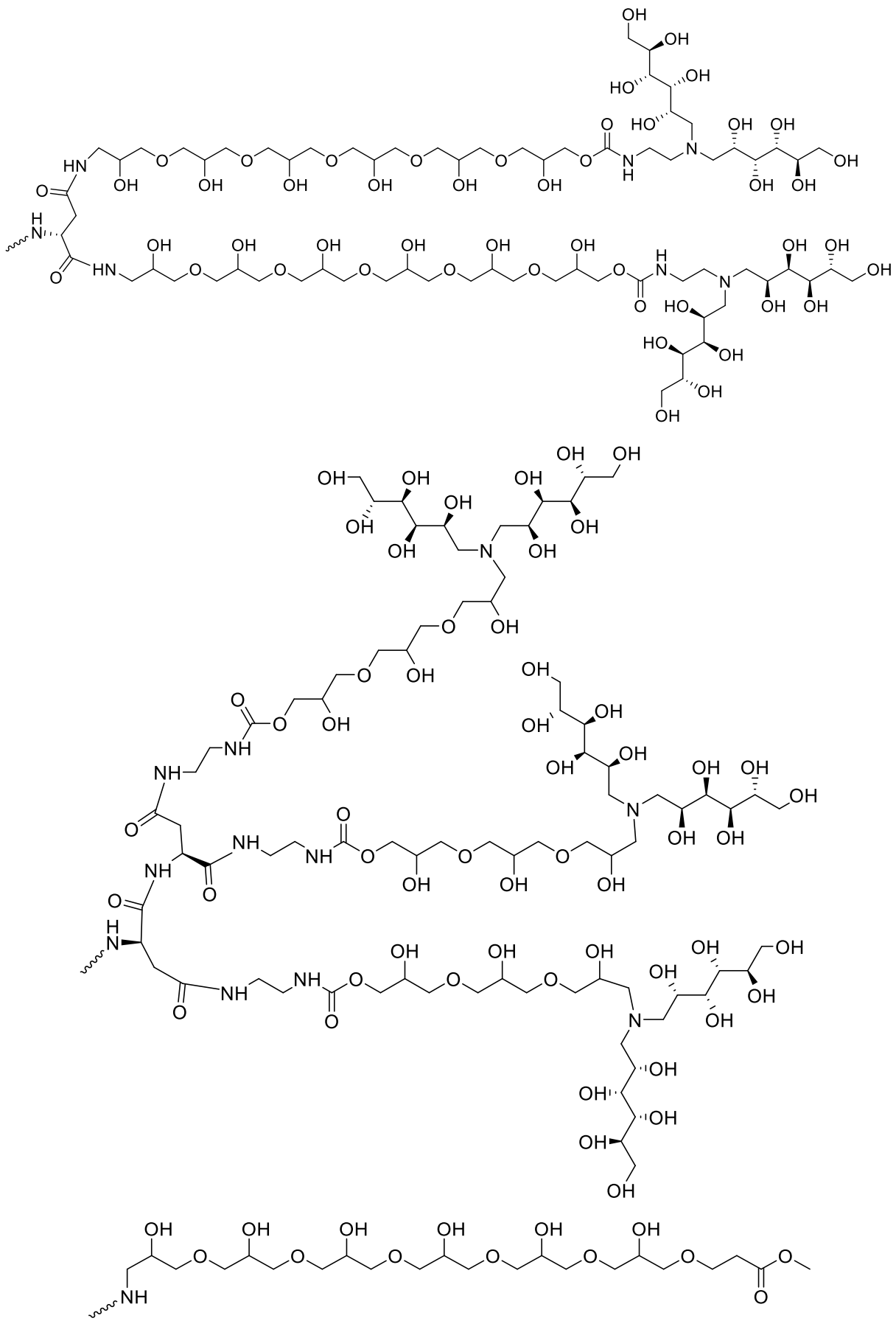


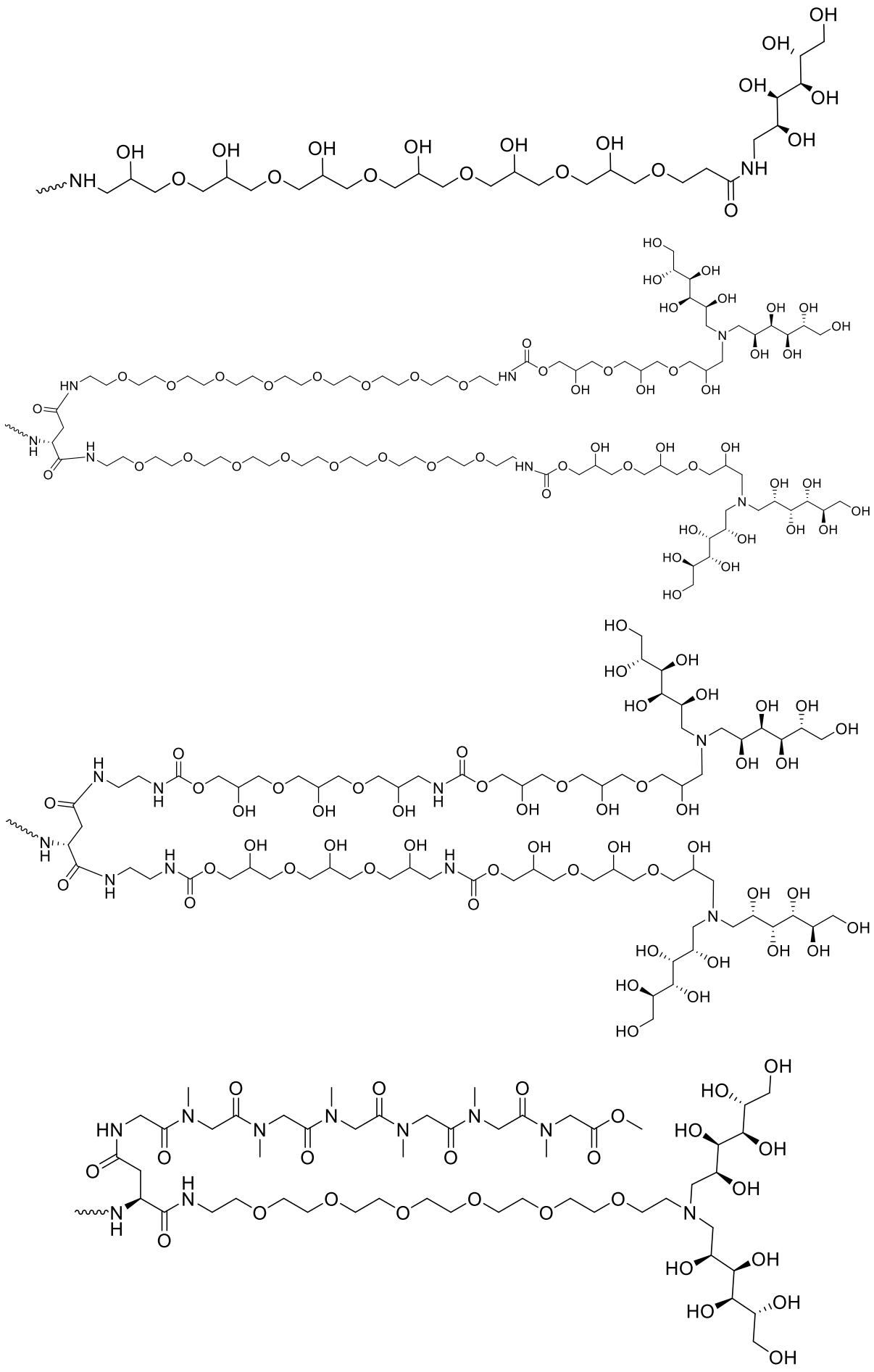
;

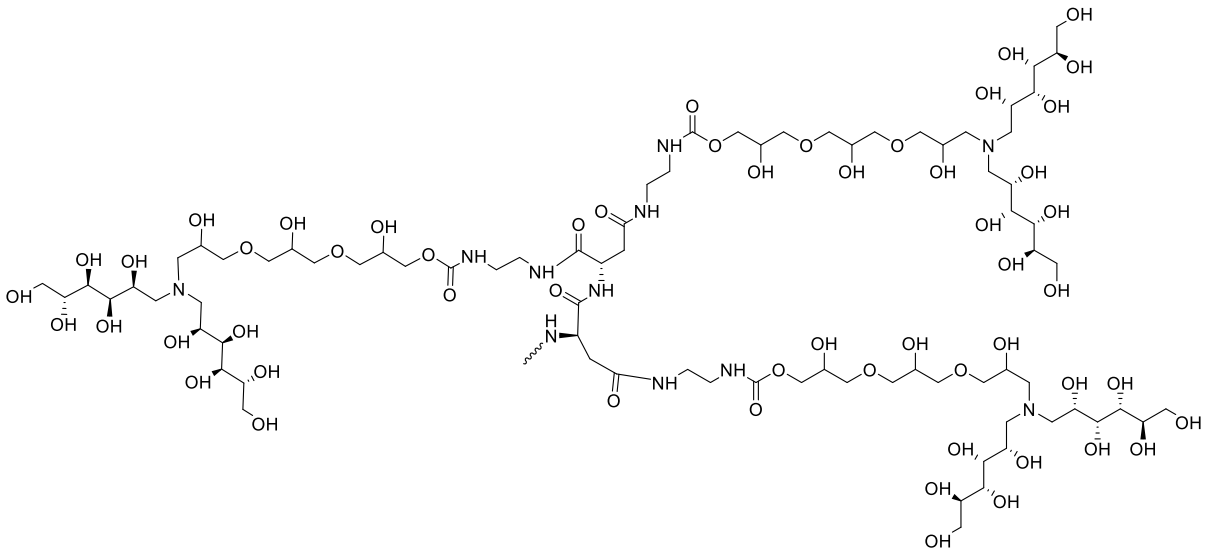


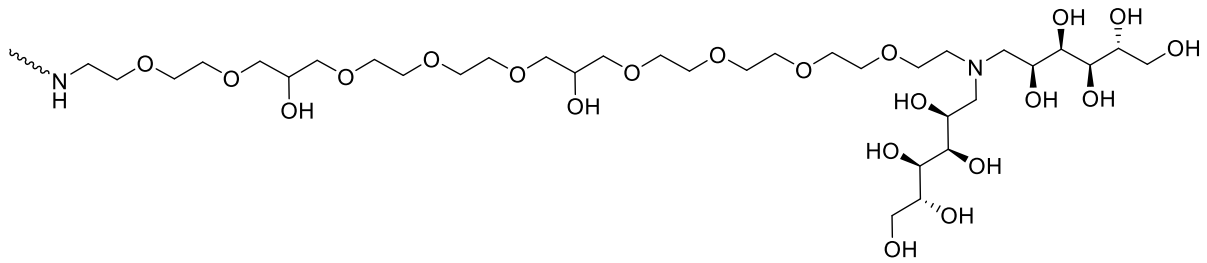
;

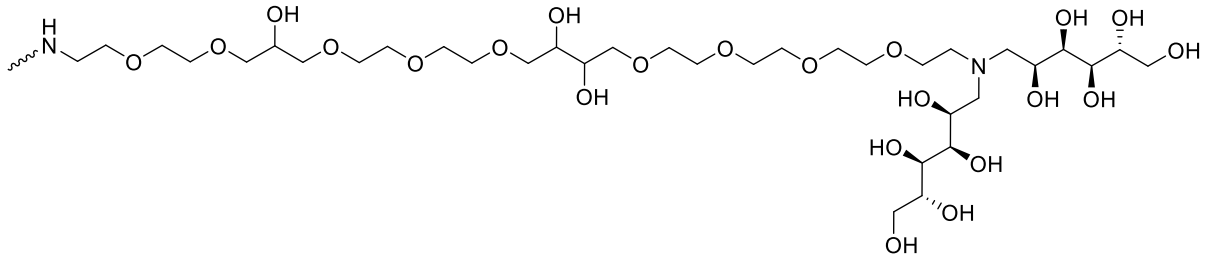


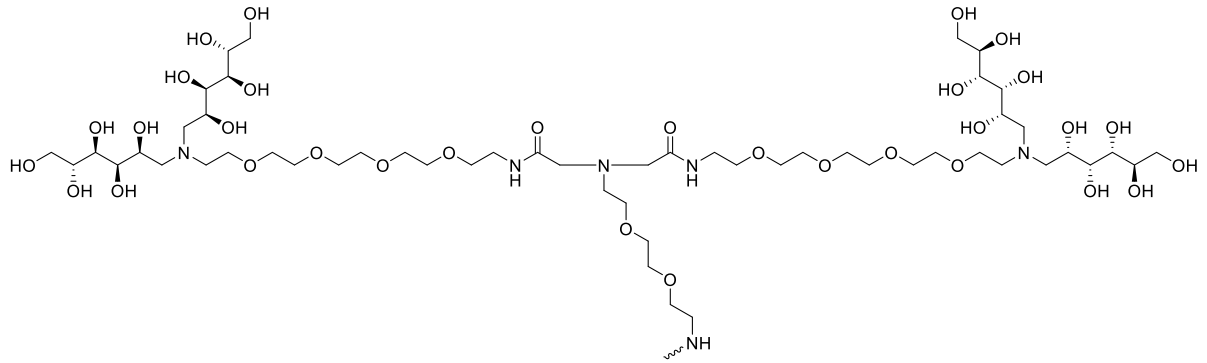


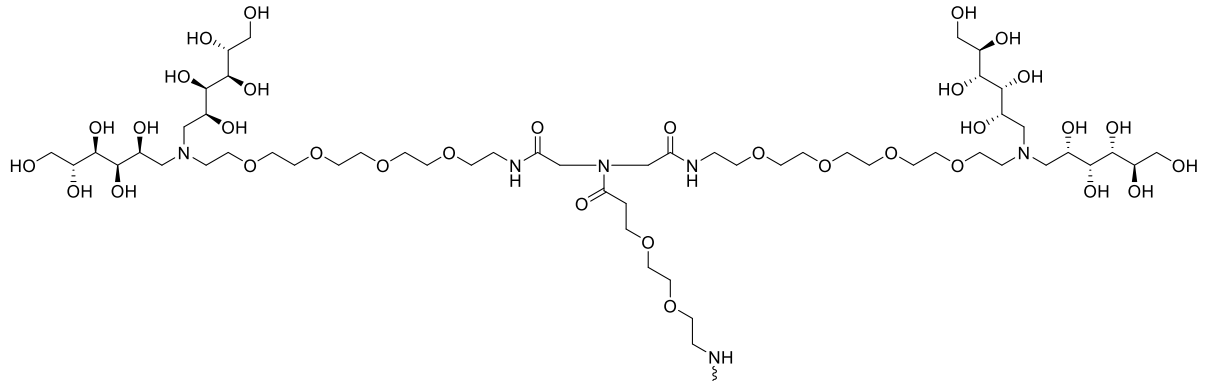


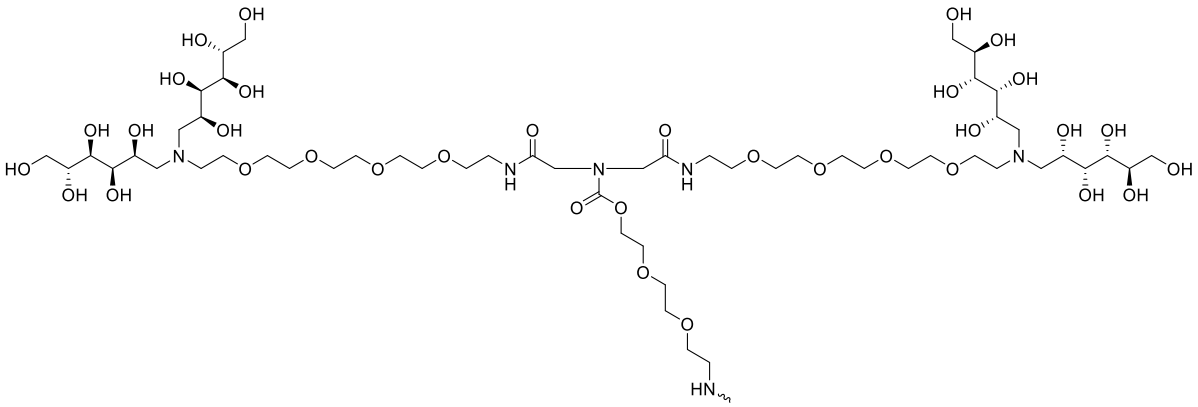


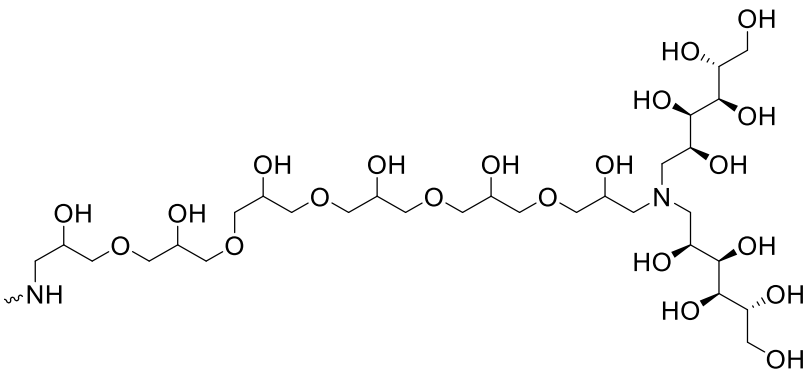


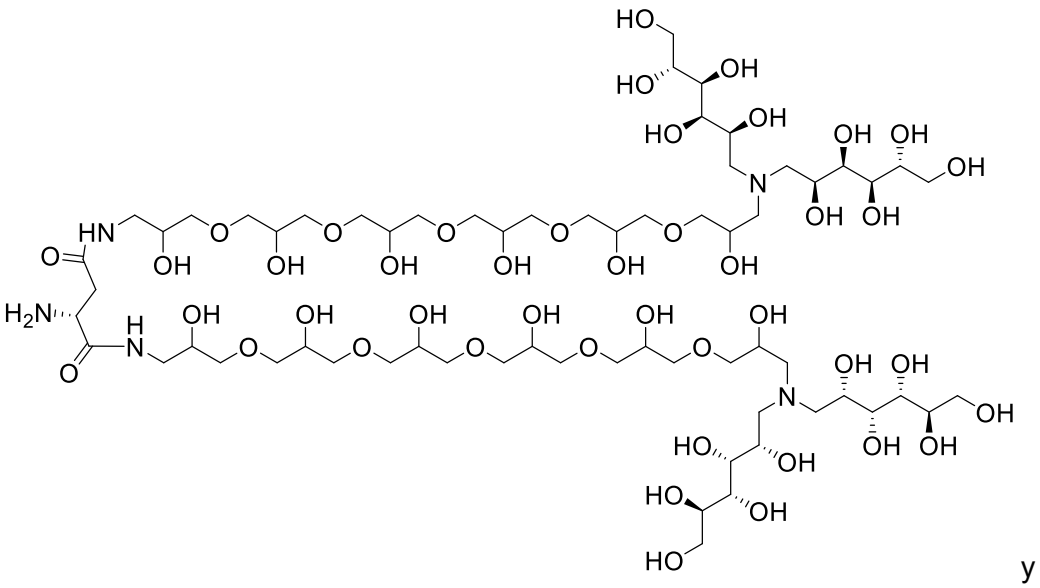




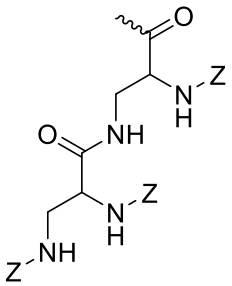




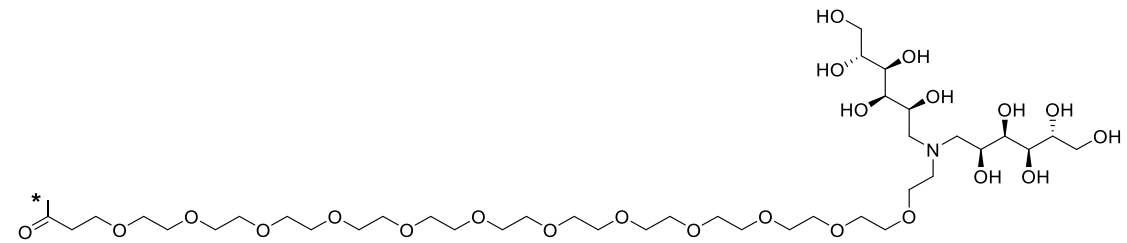




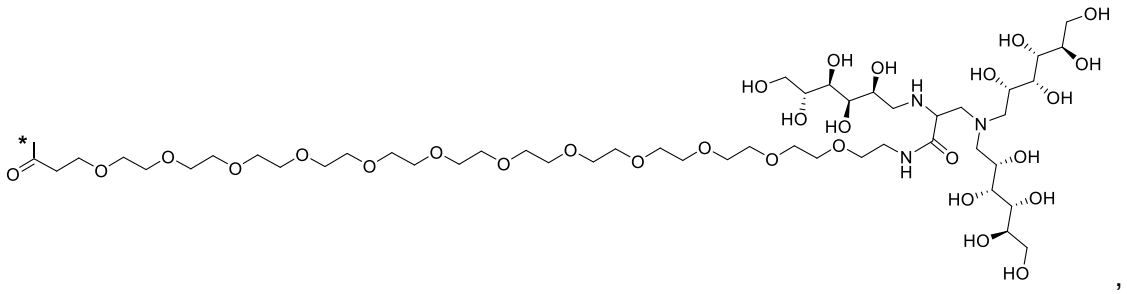
y



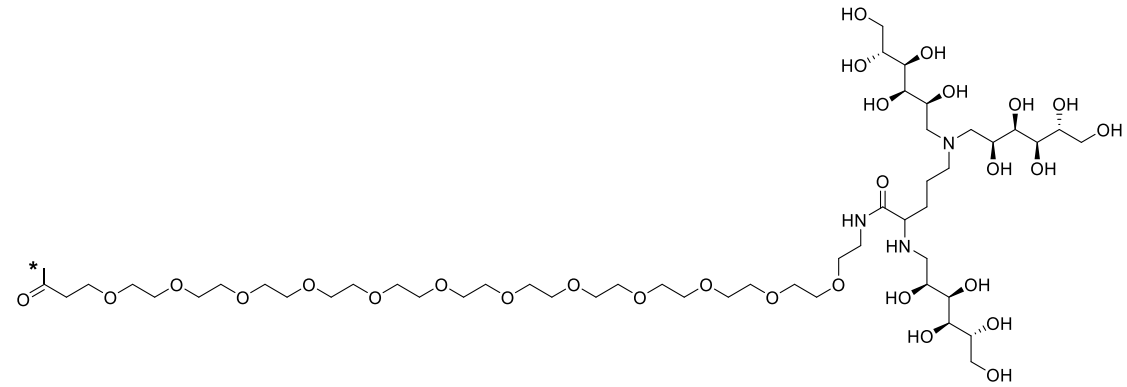
donde cada Z se une por * y se selecciona individualmente entre:



,



, y



;

donde cada 〰 es un sitio de unión a R^b, o al grupo enzimáticamente escindible.

[0414] Forma de realización 62. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 61, que comprende por lo menos un grupo polar que comprende por lo menos una unidad carboxilo que tiene la siguiente fórmula:

$$R^{70} - L^{70} - *$$

(XXXX)

o un estereoisómero o sal de la misma, donde:

(a)

L^{70} se selecciona entre C_1-C_8 alquileno, C_1-C_8 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_8 alquileno-, y -C(O)-C_1-C_8 alquileno-C(O)-, y * es un sitio de unión a R^b, al grupo enzimáticamente escindible, o al resto del grupo polar;

R^{70} es ~$NR^{71}(R^{72}$-$R^{73})$, donde R^{71} se selecciona entre H, C_1-C_{12} alquilo, C_1-C_{12} alquilo sustituido, o polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), R^{72} es un enlace o se selecciona entre C_1-C_3 alquileno opcionalmente sustituido, éter opcionalmente sustituido, tioéter opcionalmente sustituido, cetona opcionalmente sustituida, amida opcionalmente sustituida, polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido, y R^{73} es un

carboxilo o policarboxilo, donde el policarboxilo comprende entre 1 y 10, o entre 1 y 6, o entre 1 y 4 grupos carboxilo, donde los grupos carboxilo están interconectados por alquilo, alquileno, alquilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquilo, heteroalquileno, amino y/o amida; o

(b)

L^{70} se selecciona entre C_1-C_8 alquileno, C_1-C_8 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_8 alquileno-, y -C(O)-C_1-C_8 alquileno-C(O)-, y * es un sitio de unión a R^b, al grupo enzimáticamente escindible, o al resto del grupo polar;

R^{70} es ~$NR^{71}(R^{75}\text{-}(R^{73})_2)$, donde R^{71} se selecciona entre H, C_1-C_{12} alquilo, C_1-C_{12} alquilo sustituido, o polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), R^{75} es un C_1-C_3 alquileno ramificado opcionalmente sustituido, éter opcionalmente sustituido, tioéter opcionalmente sustituido, cetona opcionalmente sustituida, amida opcionalmente sustituida, polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido y cada R^{73} es independientemente carboxilo o policarboxilo, donde el policarboxilo comprende entre 1 y 10, o entre 1 y 6, o entre 1 y 4 grupos carboxilo, donde los grupos carboxilo están interconectados por alquilo, alquileno, alquilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquilo, heteroalquileno, amino y/o amida; o

(c)

L^{70} se selecciona entre C_1-C_8 alquileno, C_1-C_8 alquileno-C(O)-, -C(O)-C_1-C_8 alquileno-, y -C(O)-C_1-C_8 alquileno-C(O)-, y * es un sitio de unión a R^b, al grupo enzimáticamente escindible, o al resto del grupo polar;

R^{70} es ~$N(R^{74}\text{-}R^{73})(R^{72}\text{-}R^{73})$, donde R^{72} y R^{74} se seleccionan independientemente en cada caso entre C_1-C_3 alquileno opcionalmente sustituido, éter opcionalmente sustituido, tioéter opcionalmente sustituido, cetona opcionalmente sustituida, amida opcionalmente sustituida, polietilenglicol (que tiene opcionalmente entre 1 y 12 subunidades etilenglicol), carbociclo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido, y cada R^{73} es independientemente carboxilo o policarboxilo, donde el policarboxilo comprende entre 1 y 10, o entre 1 y 6, o entre 1 y 4 grupos carboxilo, donde los grupos carboxilo están interconectados por alquilo, alquileno, alquilo sustituido, alquileno sustituido, heteroalquilo, heteroalquileno, amino y/o amida.

[0415] Forma de realización 63. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, que comprende un grupo polar que incluye la unidad Polímero y una unidad

sacárido.

[0416] Forma de realización 64. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, que comprende un grupo polar que incluye por lo menos dos unidades Polímero.

[0417] Forma de realización 65. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, que comprende un grupo polar que incluye la unidad Polímero y una unidad carboxilo.

[0418] Forma de realización 66. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, que comprende por lo menos dos grupos polares.

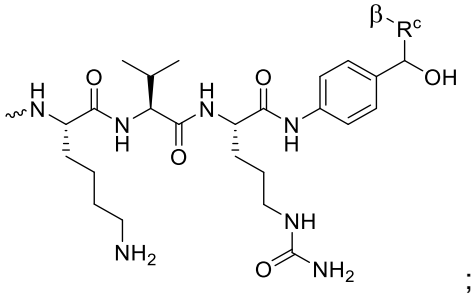
[0419] Forma de realización 67. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, que comprende un grupo polar que incluye la unidad Polímero, la unidad sacárido y la unidad carboxilo.

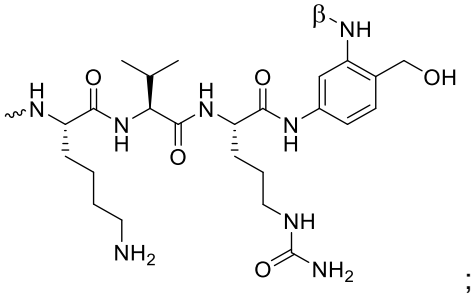
[0420] Forma de realización 68. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, que comprende un grupo polar que incluye por lo menos dos unidades Polímero, por lo menos una unidad sacárido y por lo menos una unidad carboxilo.

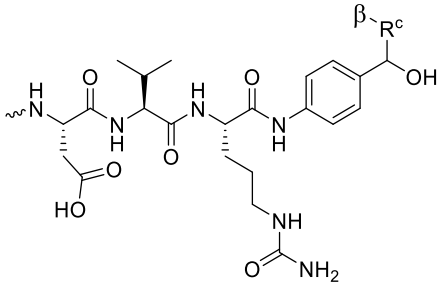
[0421] Forma de realización 69. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 62, donde el grupo enzimáticamente escindible comprende por lo menos dos aminoácidos.

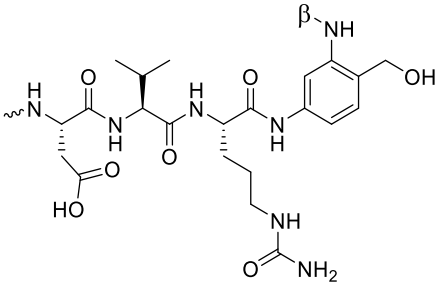
[0422] Forma de realización 70. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 69, que comprende por lo menos uno de los grupos polares unidos al grupo enzimáticamente escindible.

[0423] Forma de realización 71. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-70, que tiene una de las siguientes estructuras:

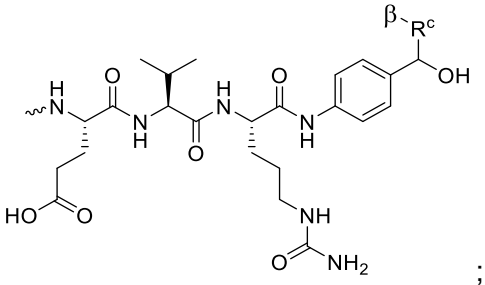
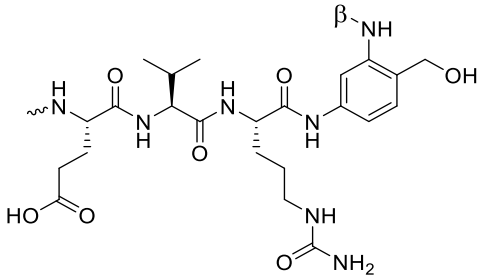
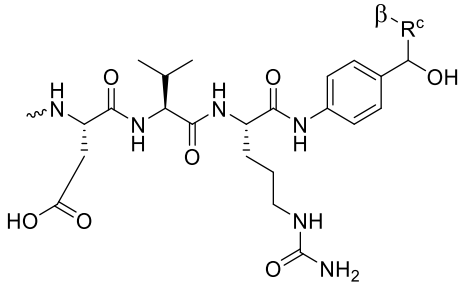
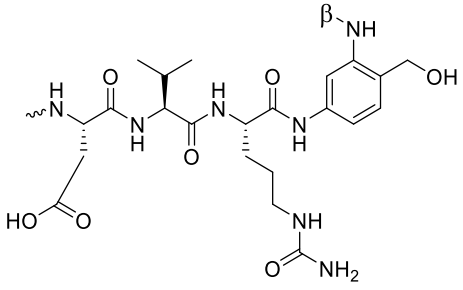
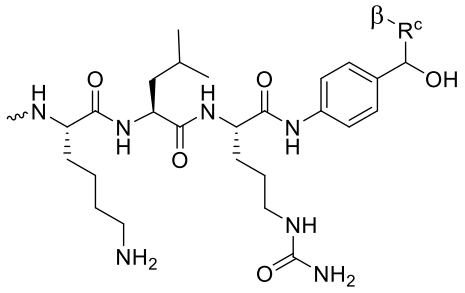
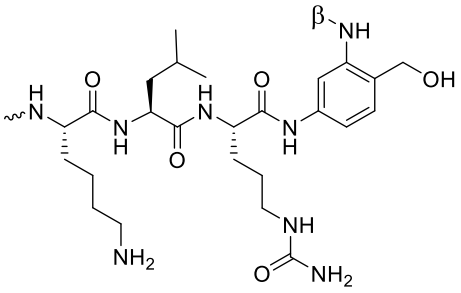
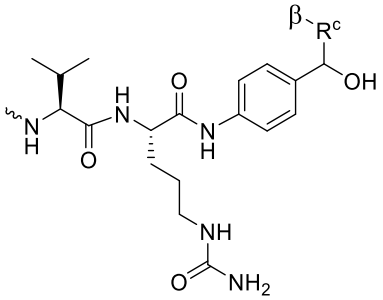
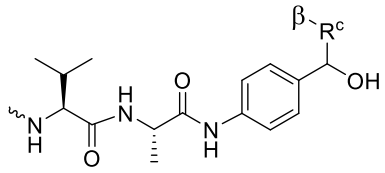
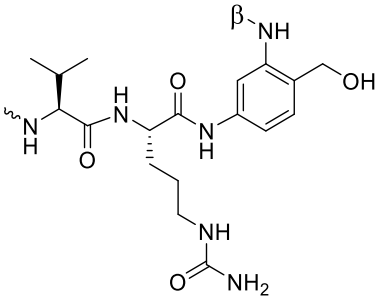
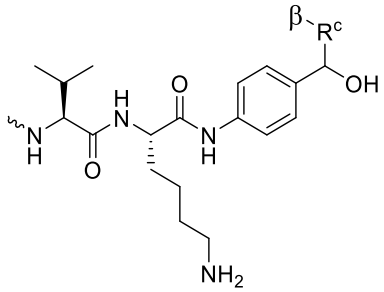
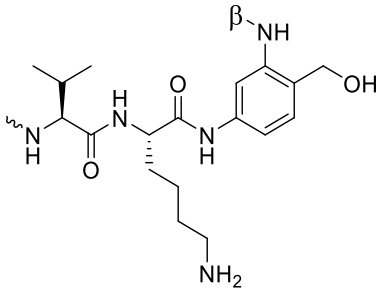
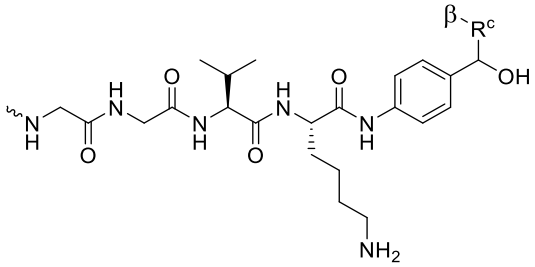
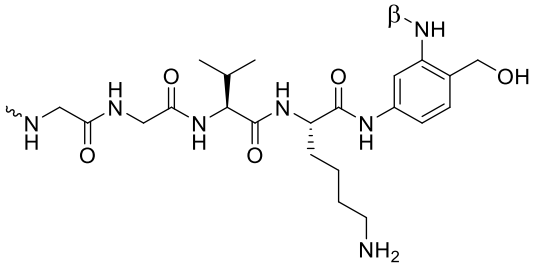


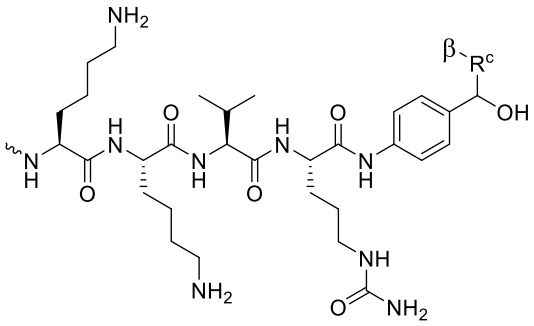
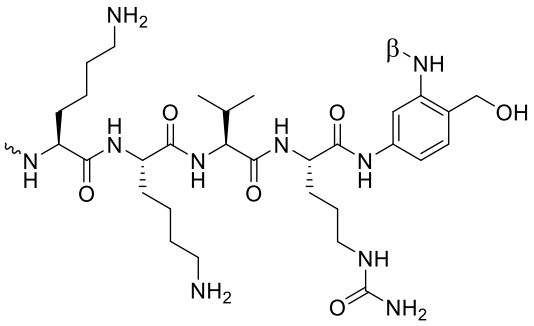
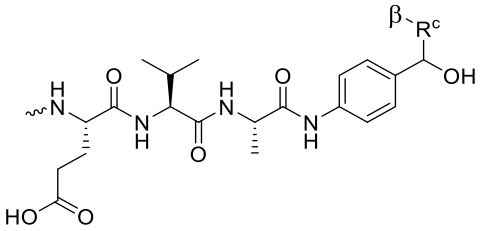
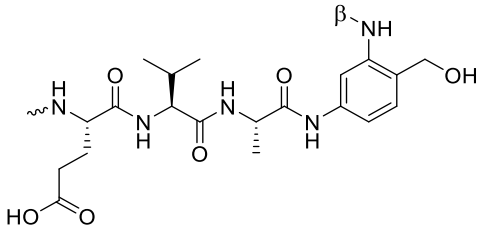
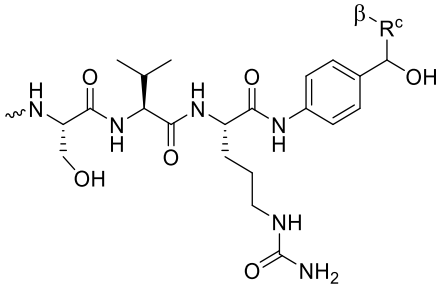
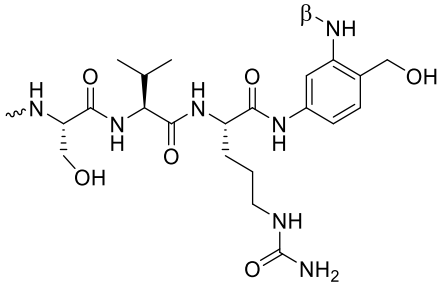
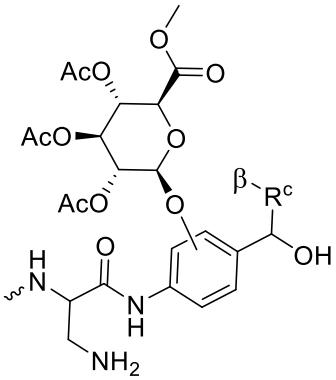
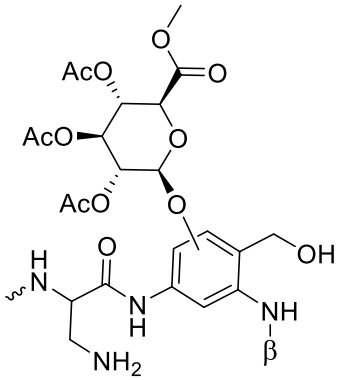
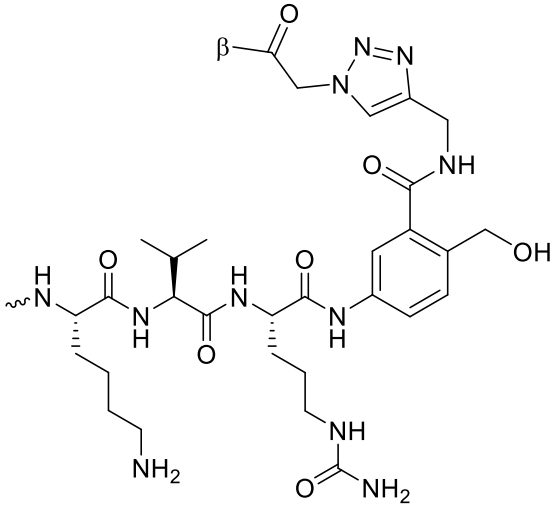
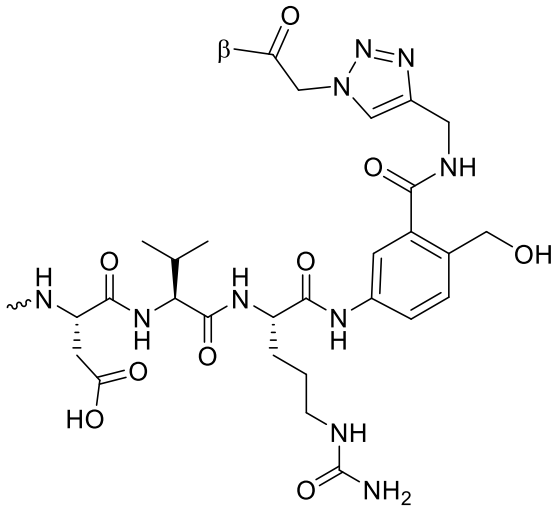
;


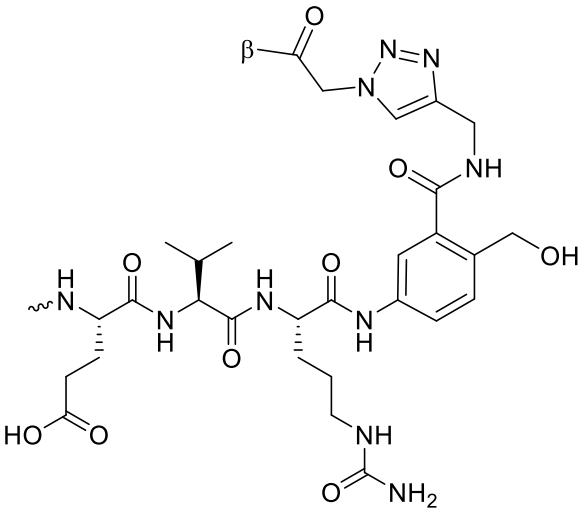
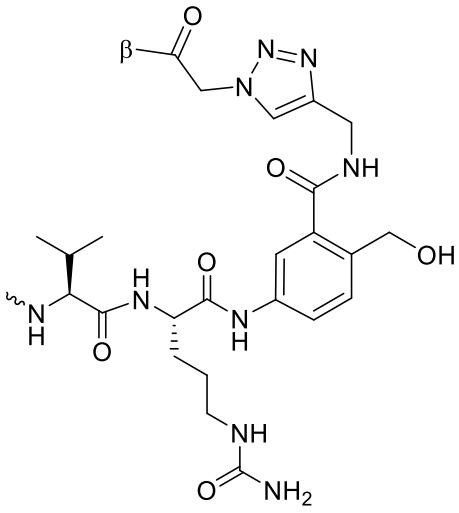
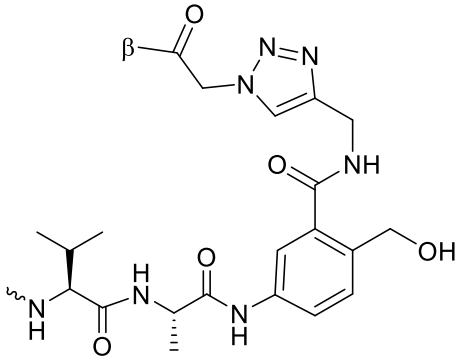
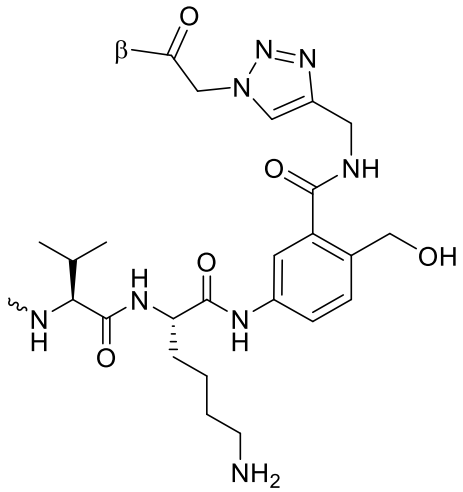
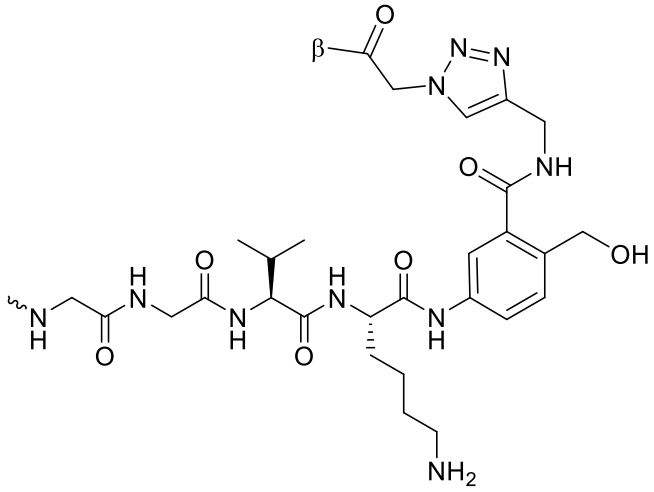
;


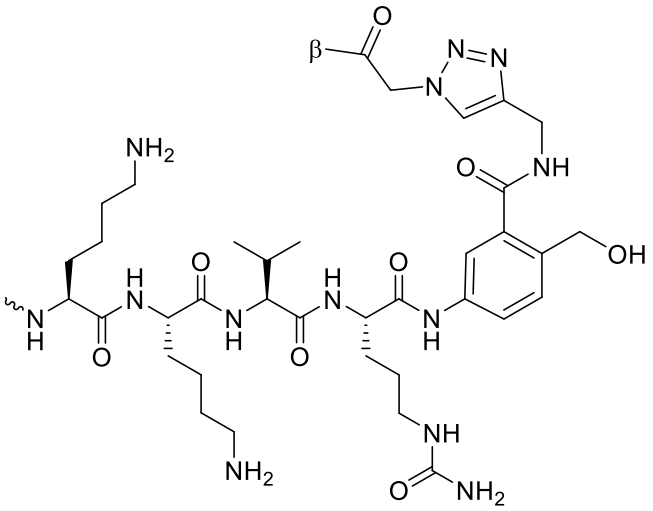
;


;

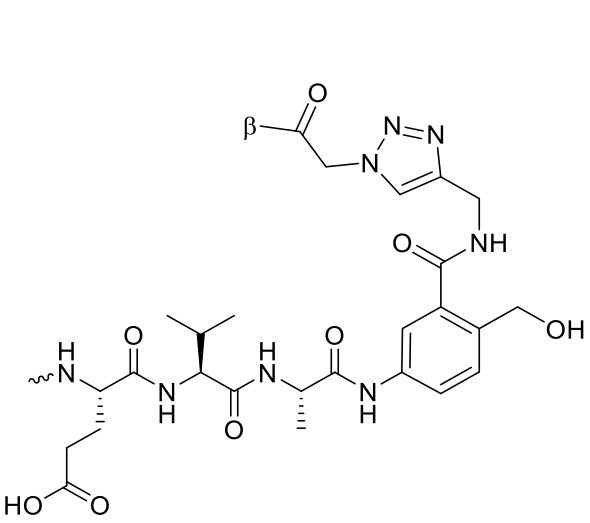

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;


;

;

;

;

;

;

;

,

,

,

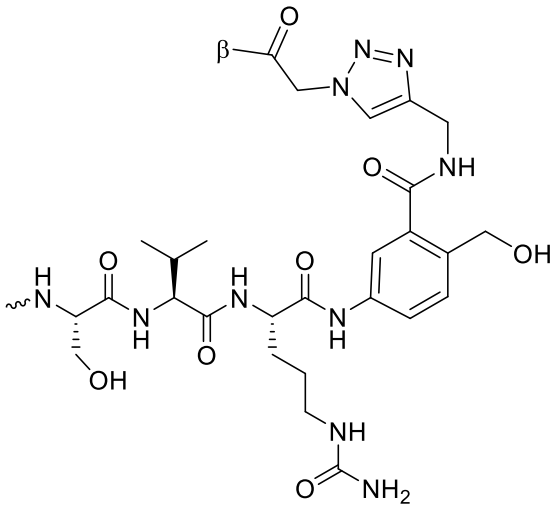

,

,

,

,

,



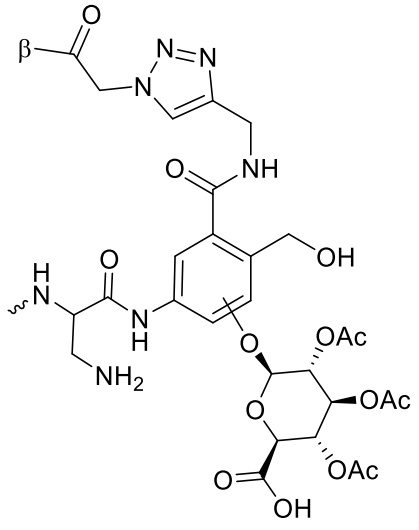
,



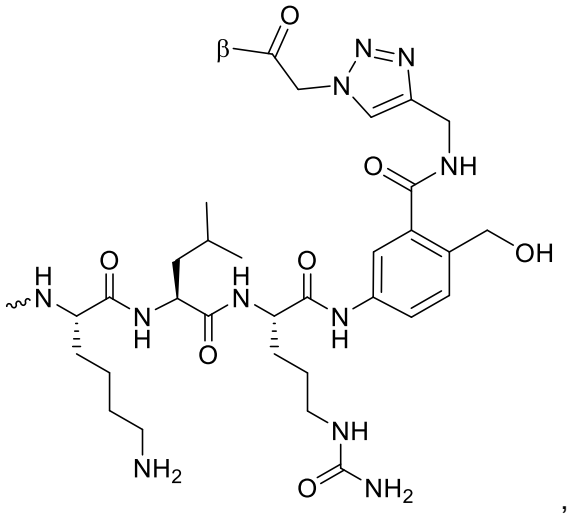
,



,



, o



,

donde

R^c es un enlace o C_{1-6} alquileno;

la línea ondulada en el grupo amino indica un sitio de unión para un grupo extensor o, antes de unirse al grupo extensor, indica H;

β— es el sitio de unión al por lo menos un grupo polar; y

el H bencílico en el OH bencílico opcionalmente se reemplaza por un enlace a por lo

menos una de las unidades de fármaco o al grupo conector unido a por lo menos una de las unidades de fármaco.

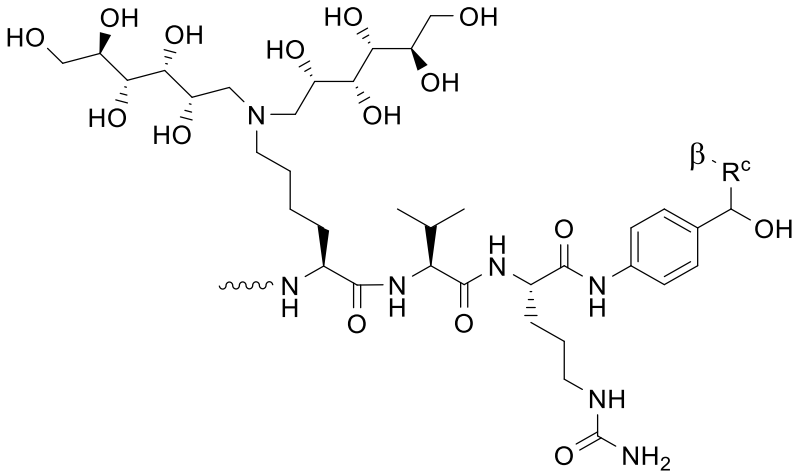
[0424] Forma de realización 72. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-71, donde el grupo enzimáticamente escindible comprende un péptido que es escindible por una proteasa intracelular.

[0425] Forma de realización 73. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-71, donde el grupo enzimáticamente escindible comprende una unidad glucurónido escindible.

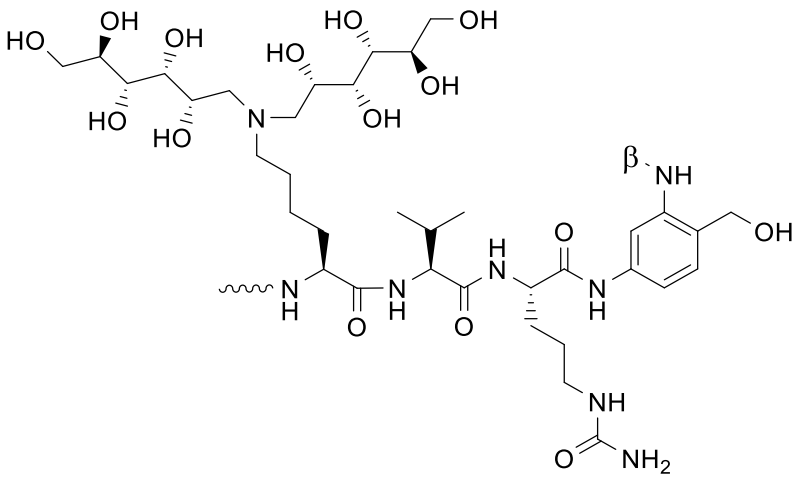
[0426] Forma de realización 74. El compuesto conector de la forma de realización 73, donde el grupo enzimáticamente escindible comprende un péptido escindible que incluye un péptido valina-citrulina, un péptido valina-alanina, un péptido valina-lisina, un péptido fenilalanina-lisina, o un péptido glicina-glicina-fenilalanina-glicina.

[0427] Forma de realización 75. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 74, donde la unidad conectora comprende un grupo alcohol para-aminobencílico (PABA) autodestructivo.

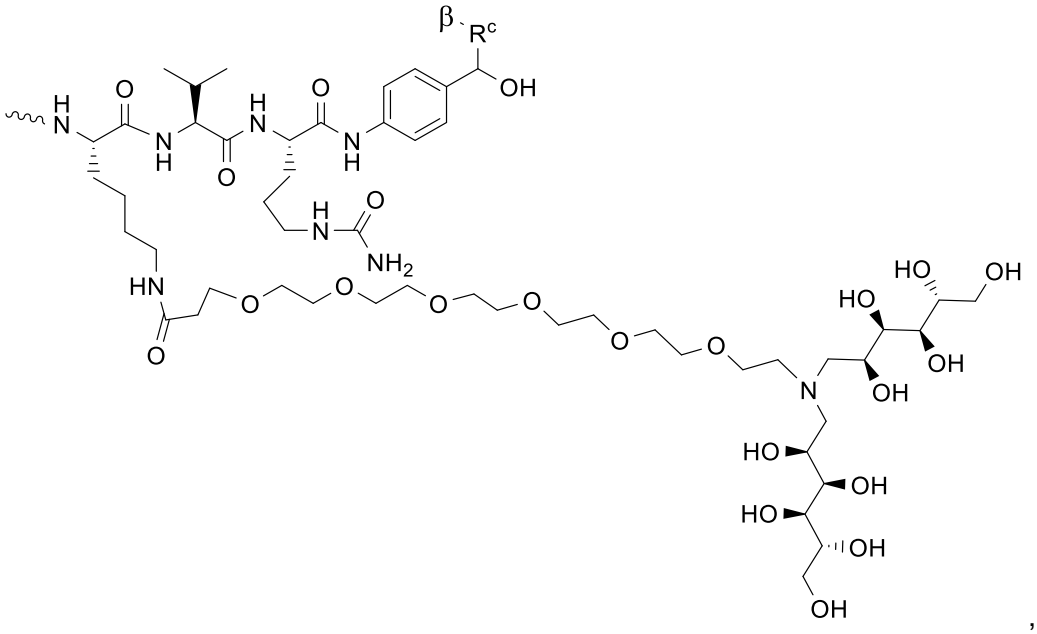
[0428] Forma de realización 76. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-75, que comprende una de las siguientes estructuras:



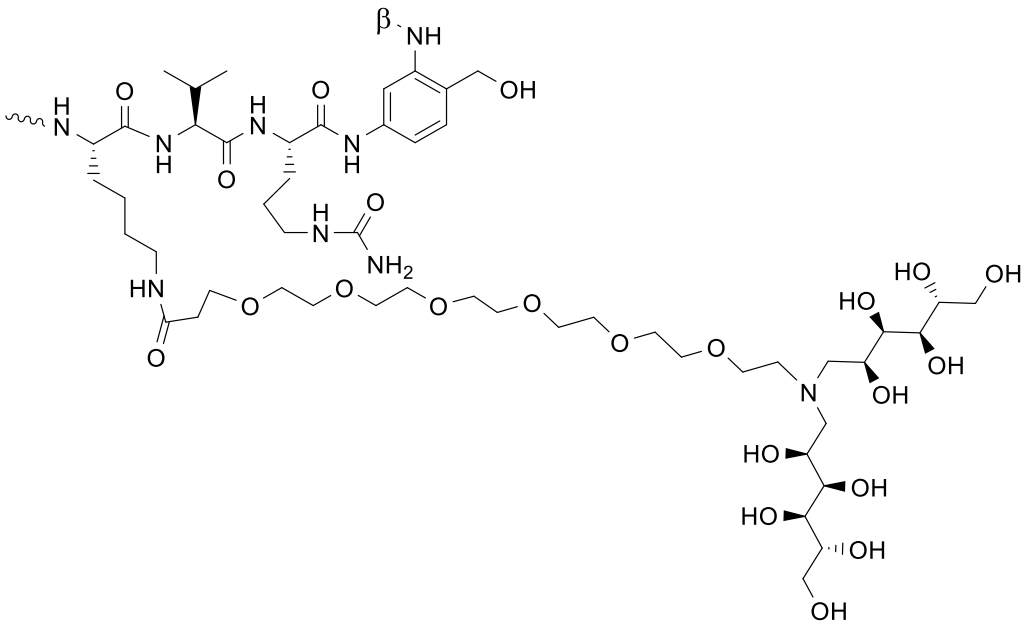
,



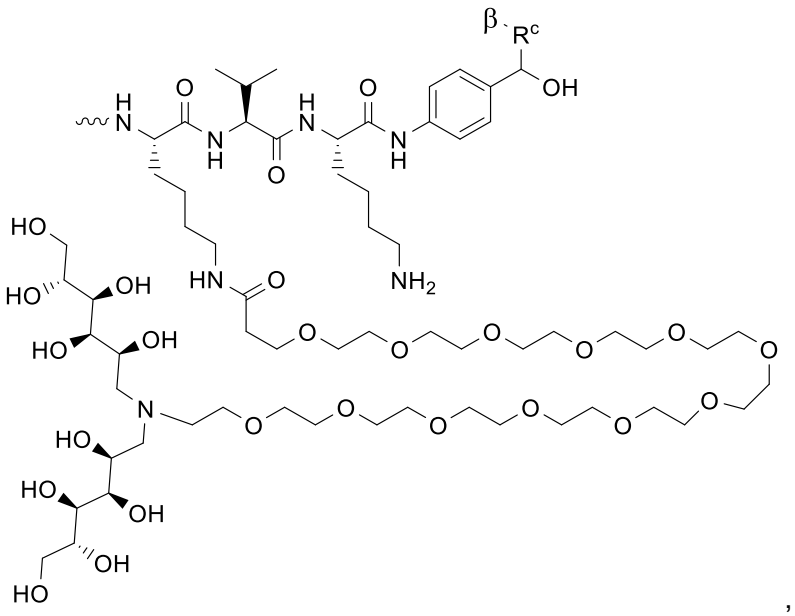
,



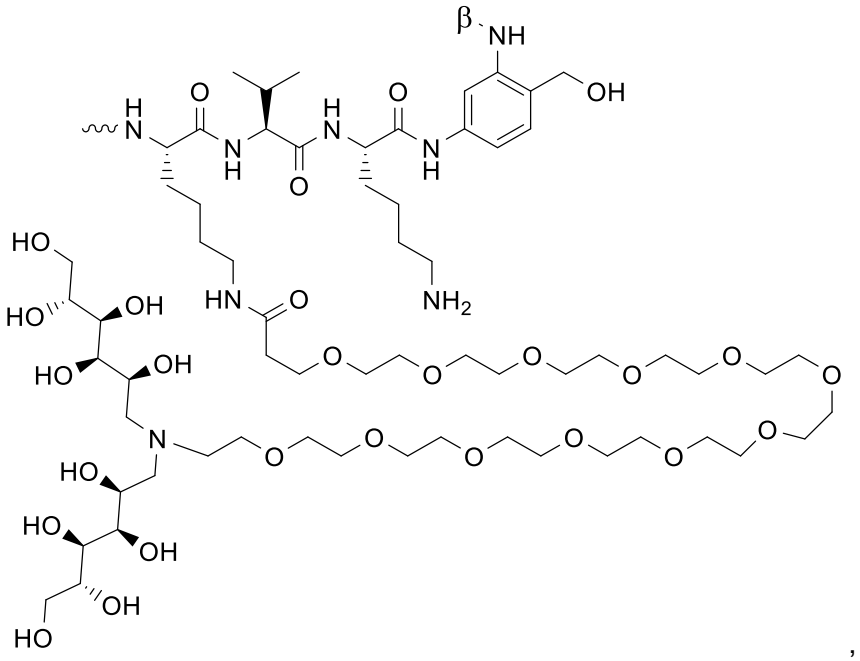
,



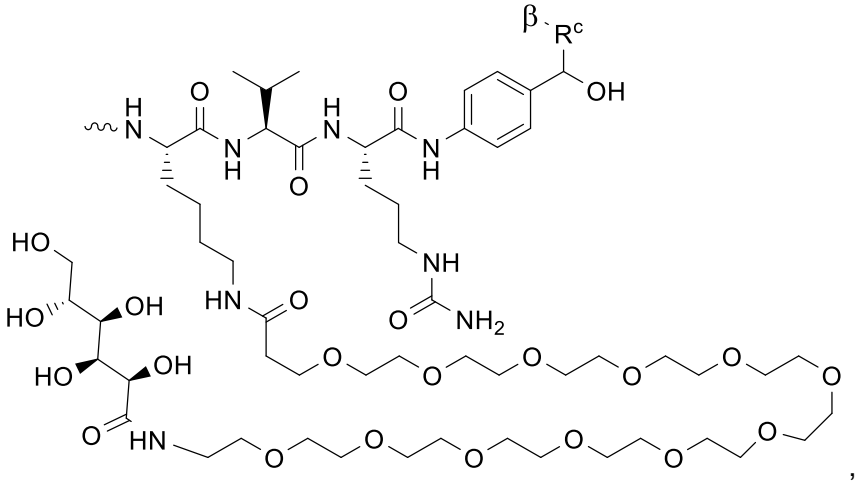
,



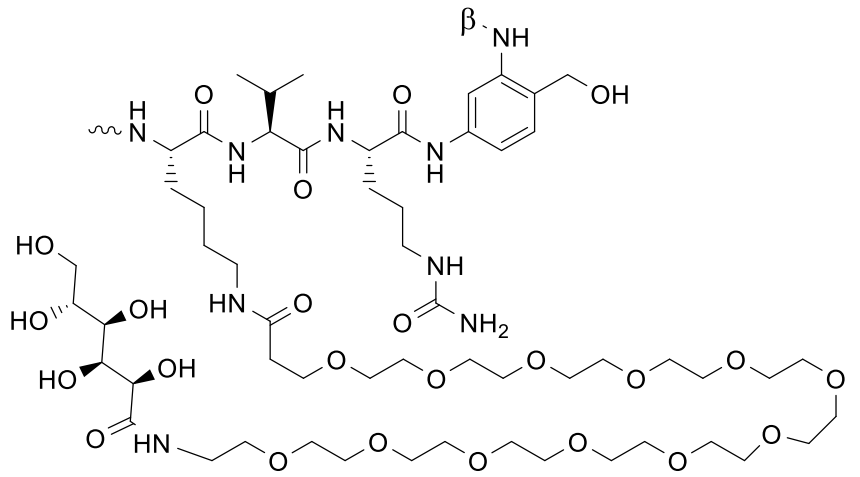
,

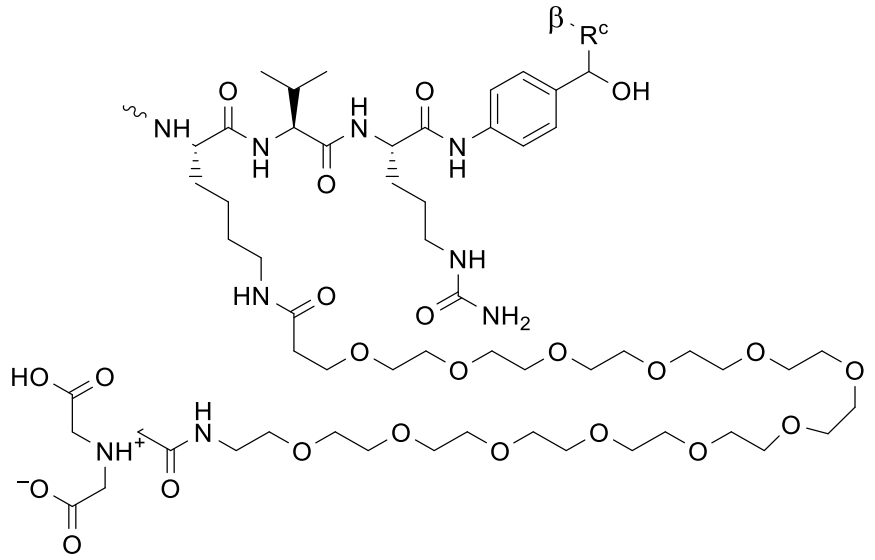


,

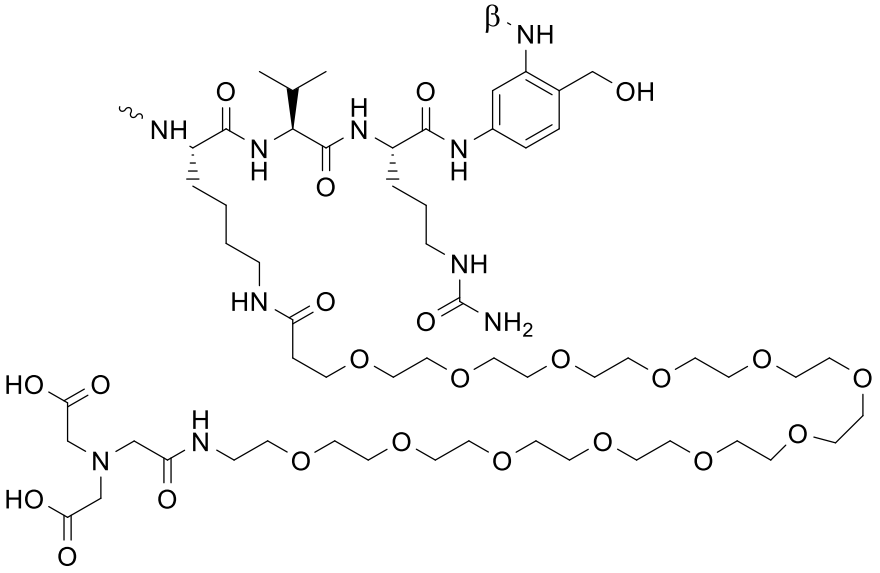


,

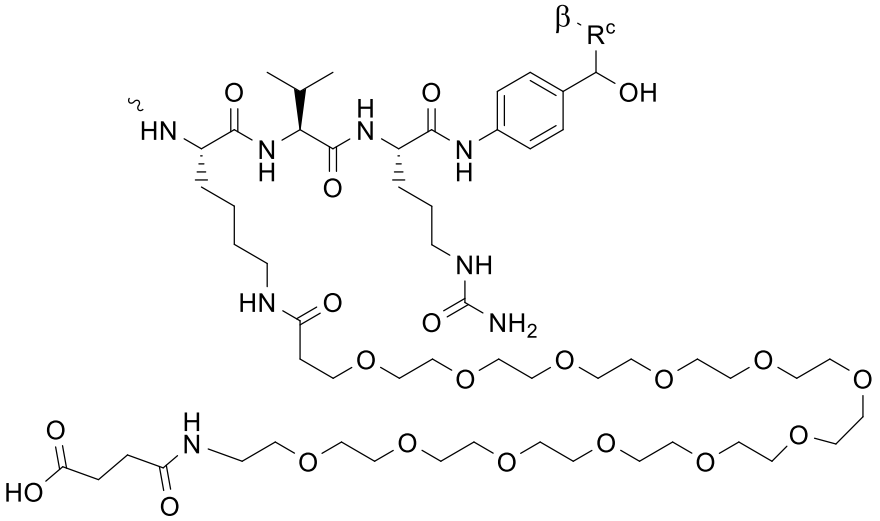




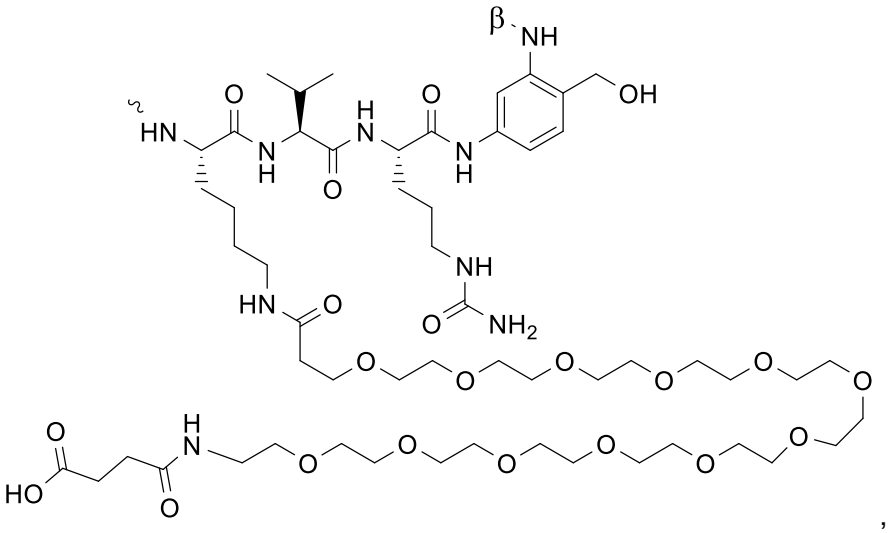
,



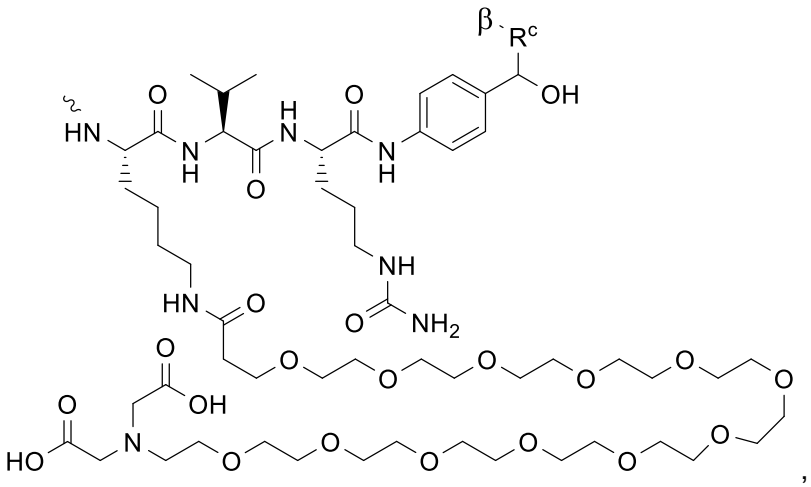
,



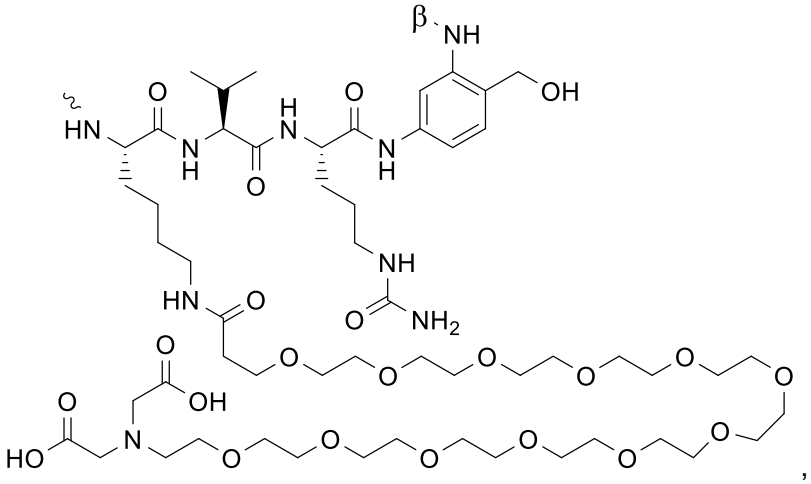
,



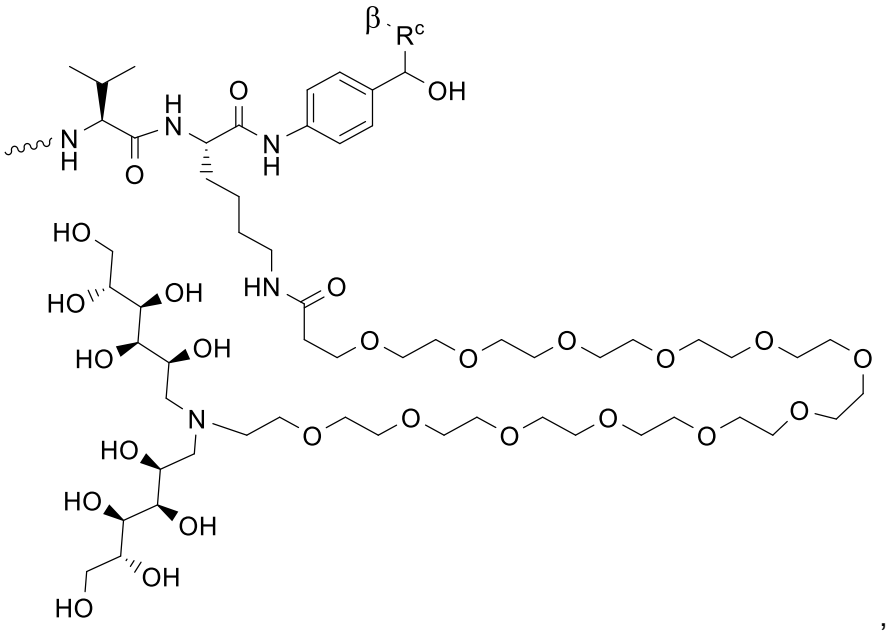
,



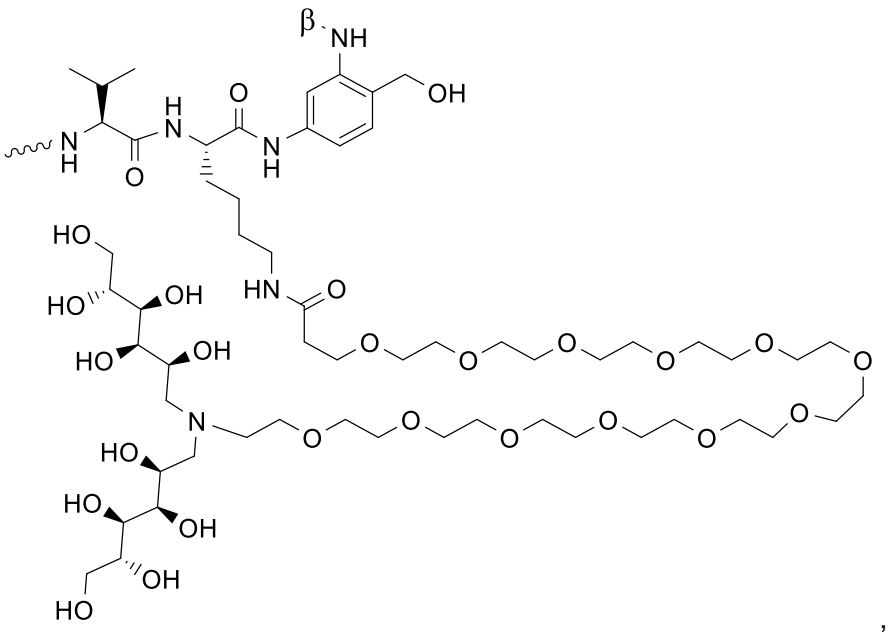
,



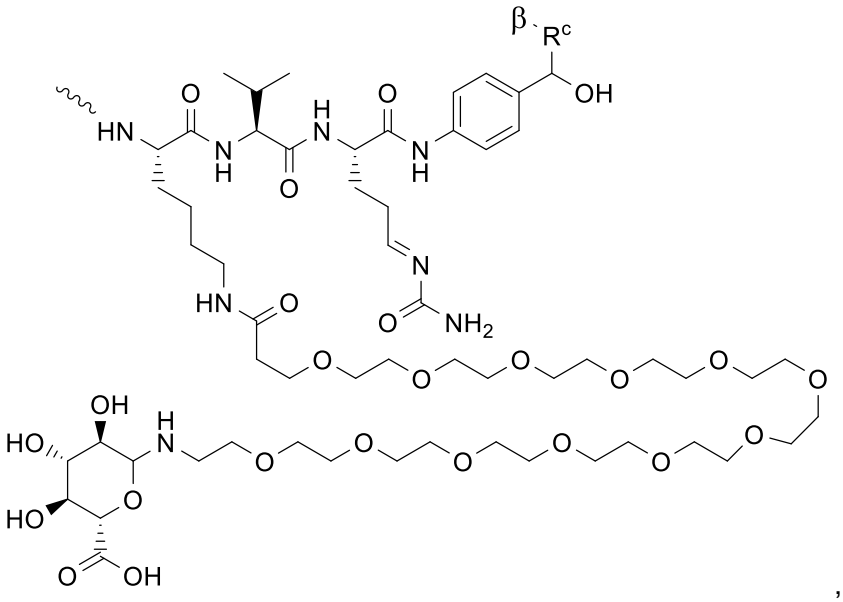
,



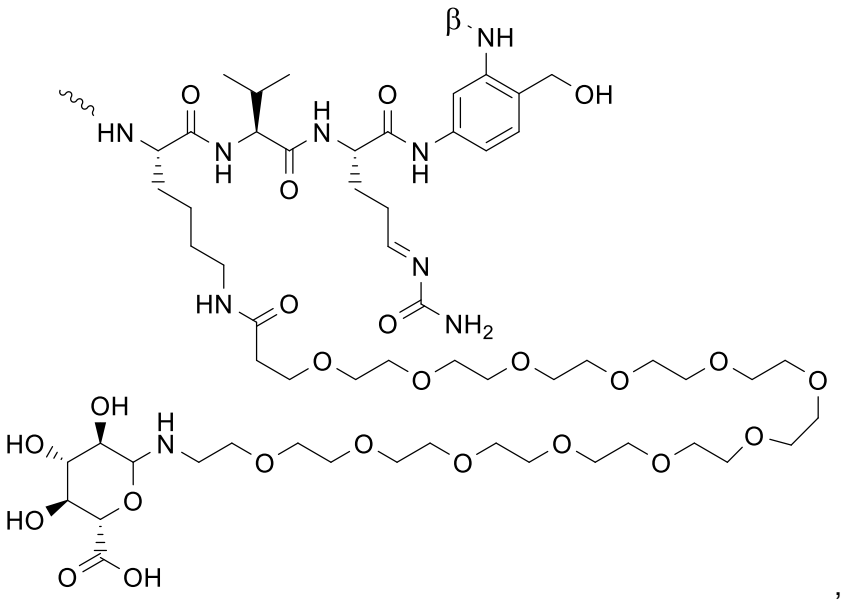
,



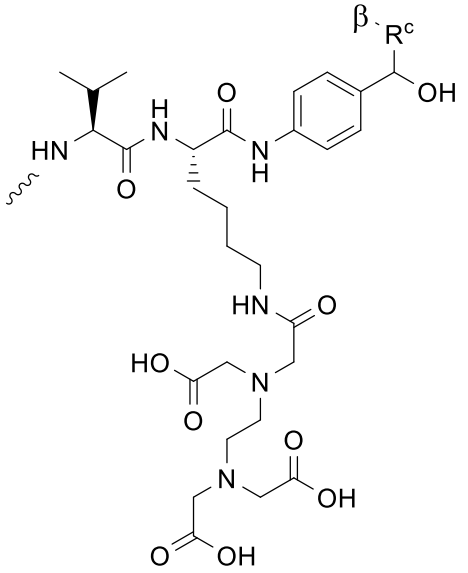
,

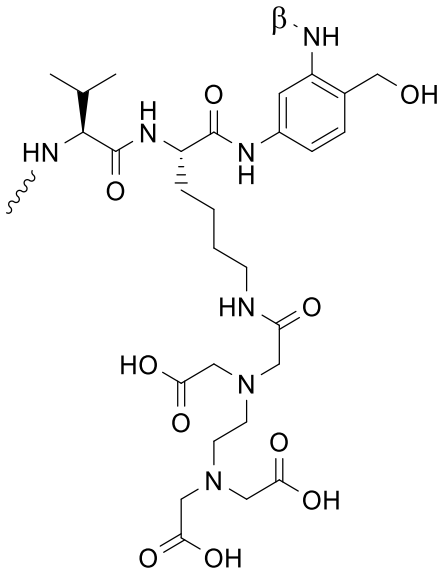


,

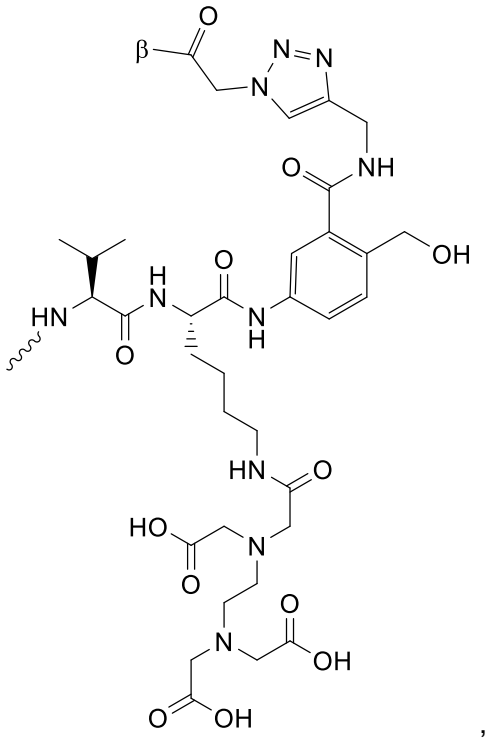


,

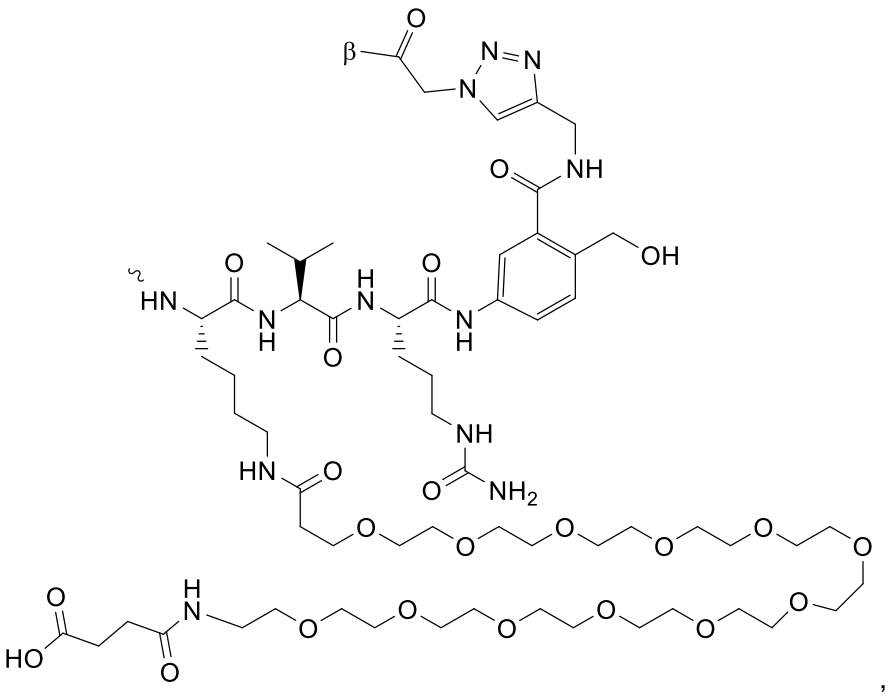




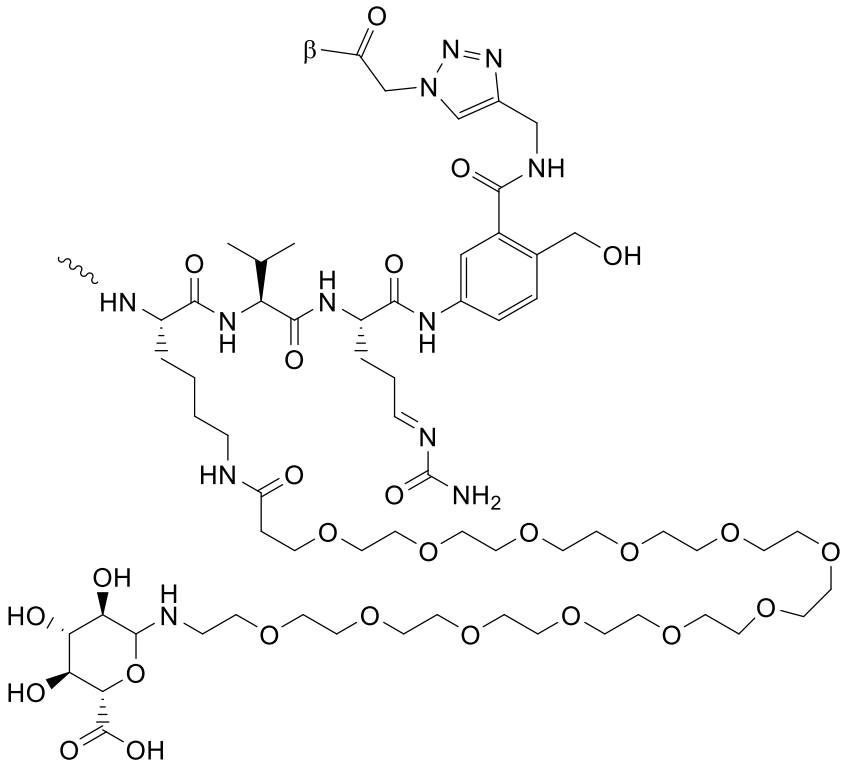
,



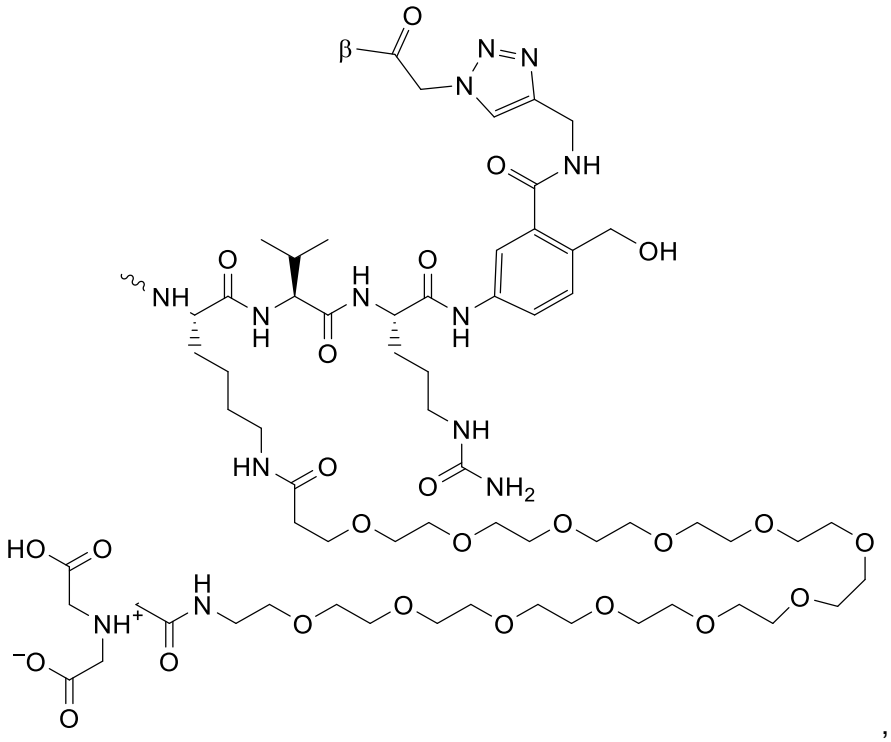
,



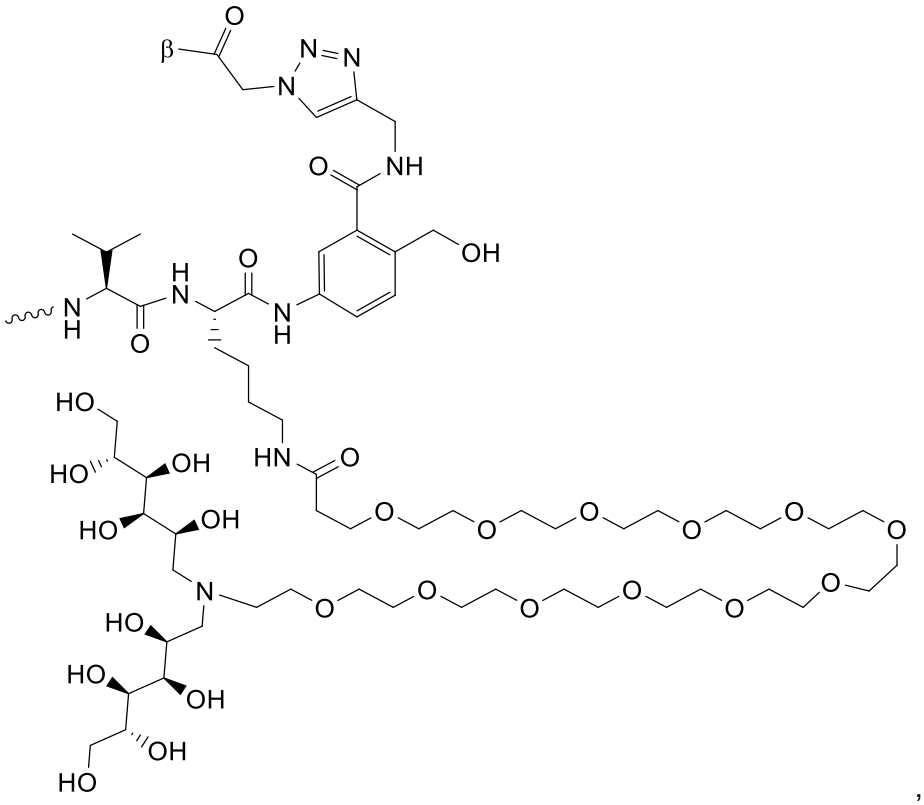
,



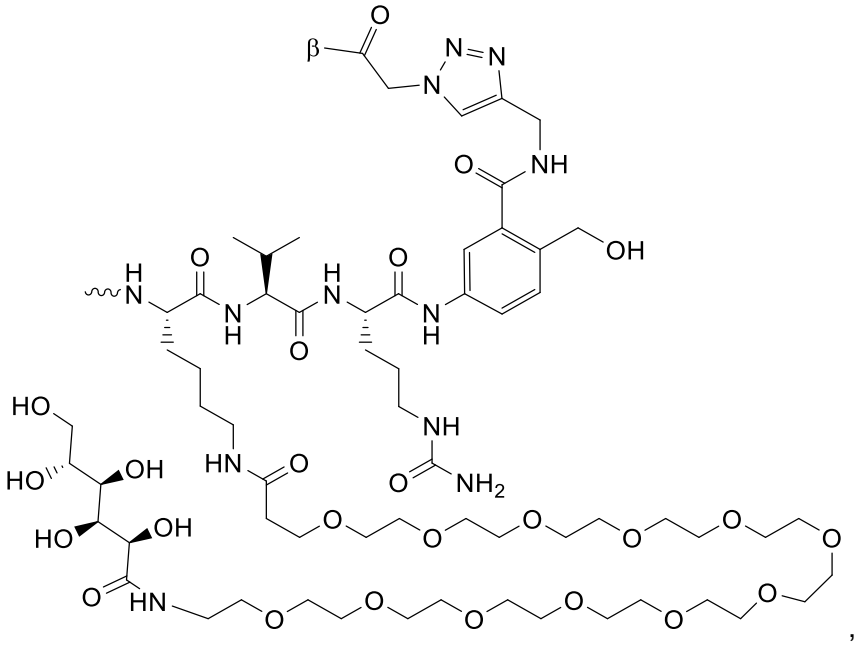
,



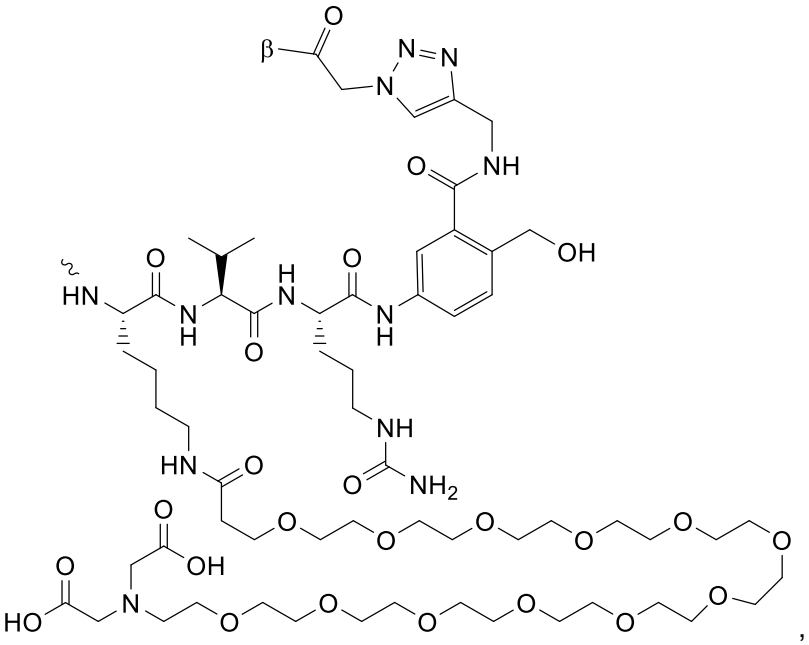
,



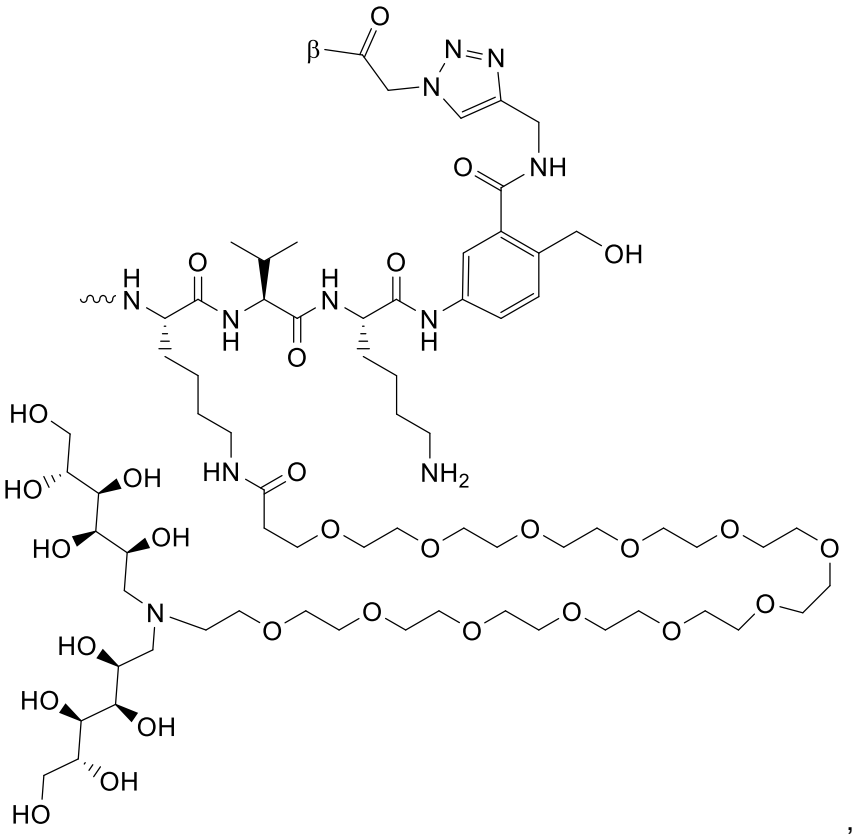
,



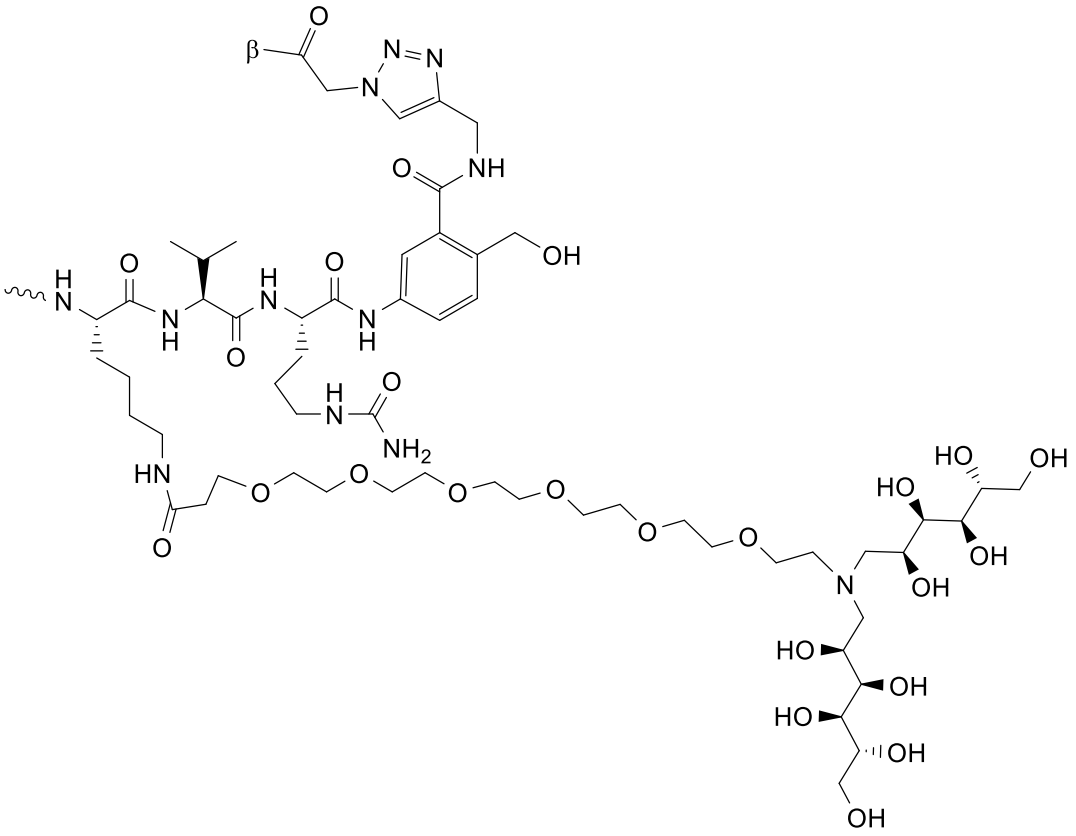
,



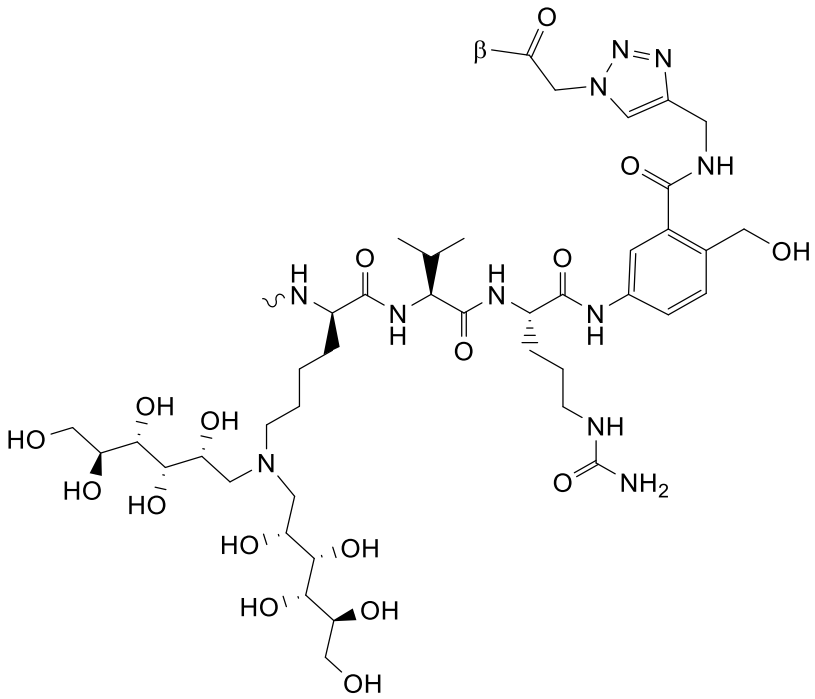
,



,



, o



,

donde

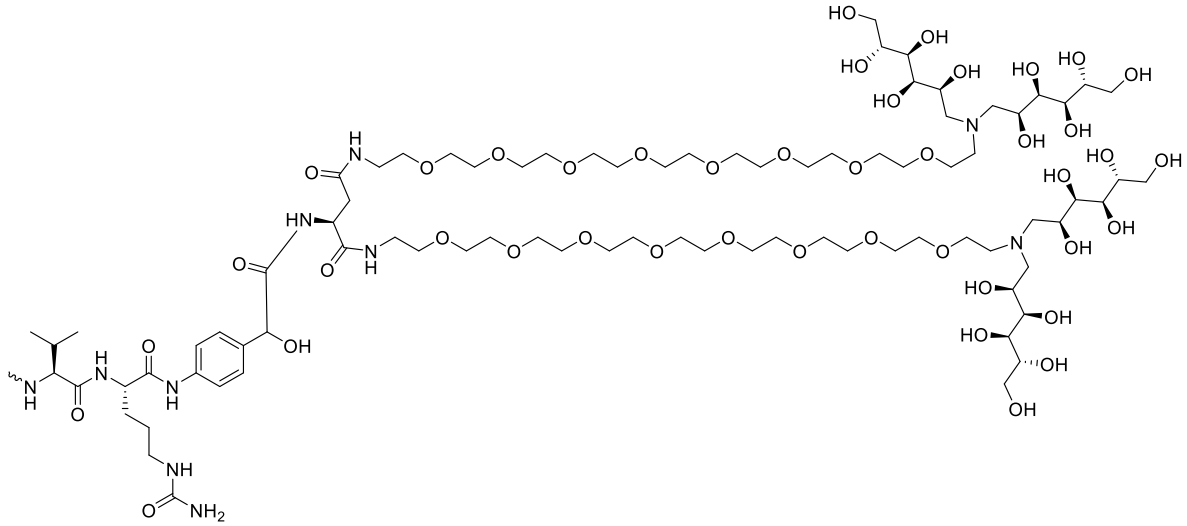
R^c es un enlace o C_{1-6} alquileno;

la línea ondulada en el grupo amino indica un sitio de unión para el grupo extensor o, antes de unirse al grupo extensor, indica H;

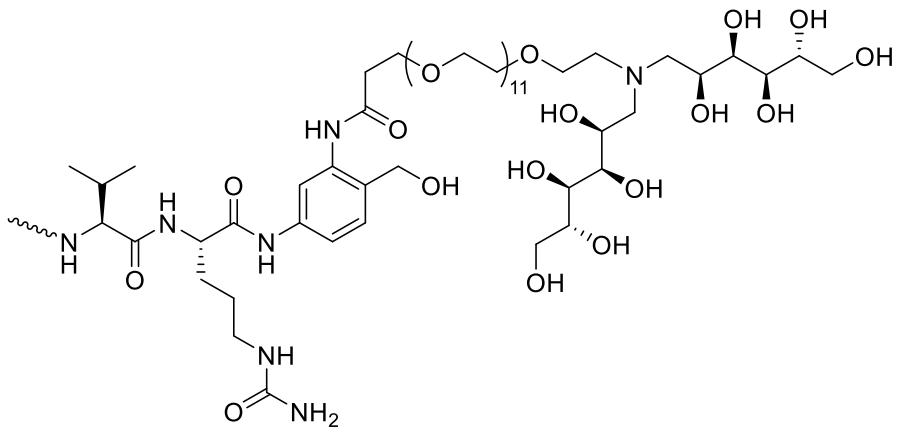
β— es un sitio de unión a una unidad Polímero; y

el H en el OH bencílico opcionalmente se reemplaza por un enlace a por lo menos una de las unidades de fármaco o al sitio de unión a por lo menos una de las unidades de fármaco.

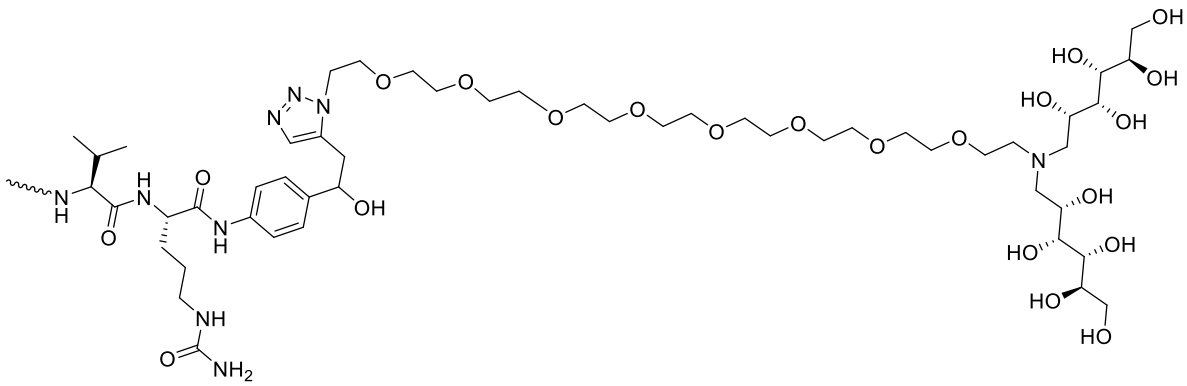
[0429] Forma de realización 77. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-5, que tiene una de las siguientes estructuras:



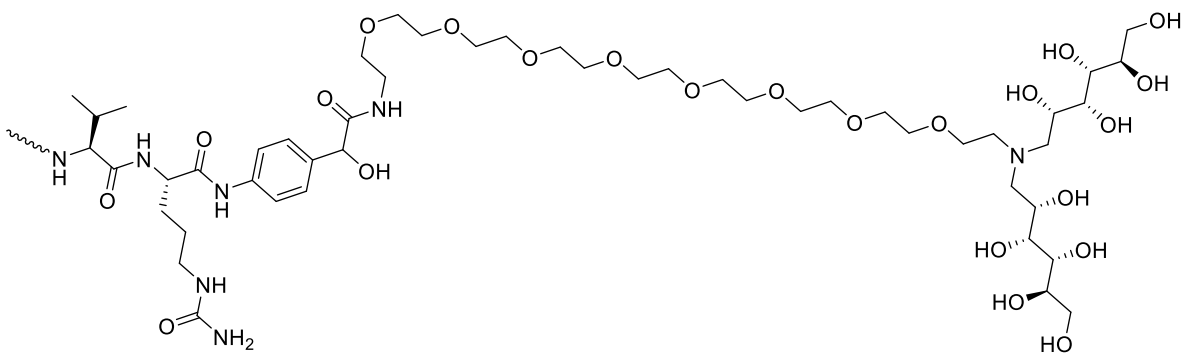
,



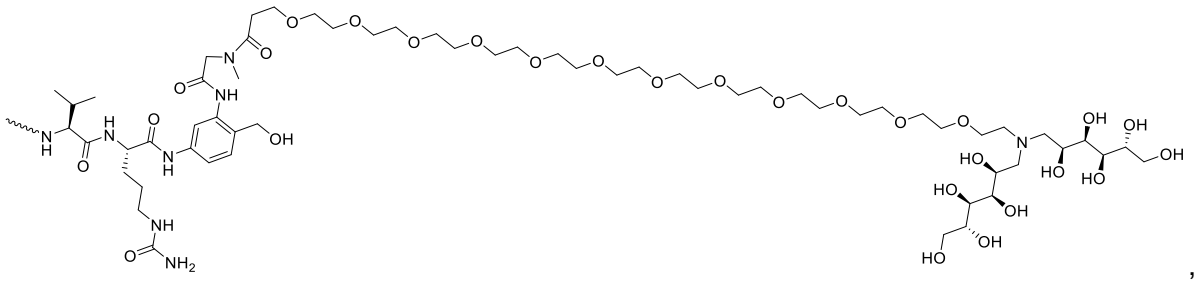
,



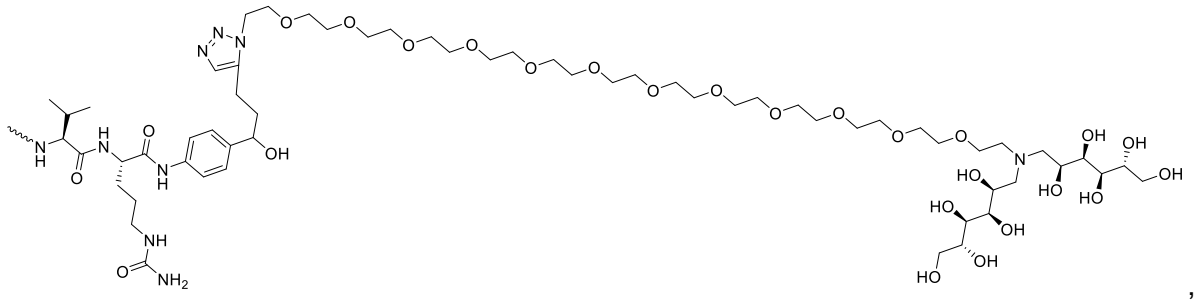
,



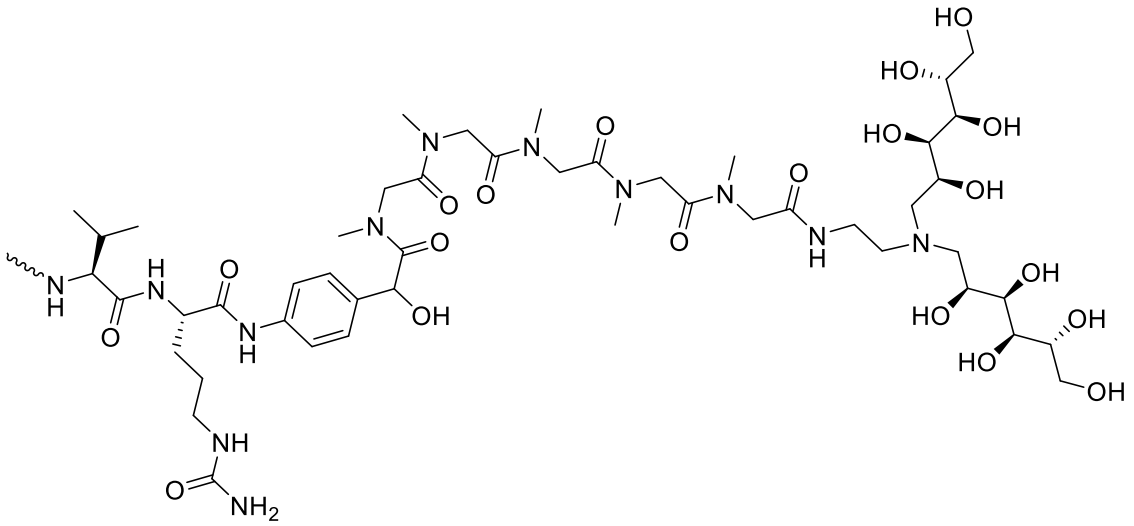
,



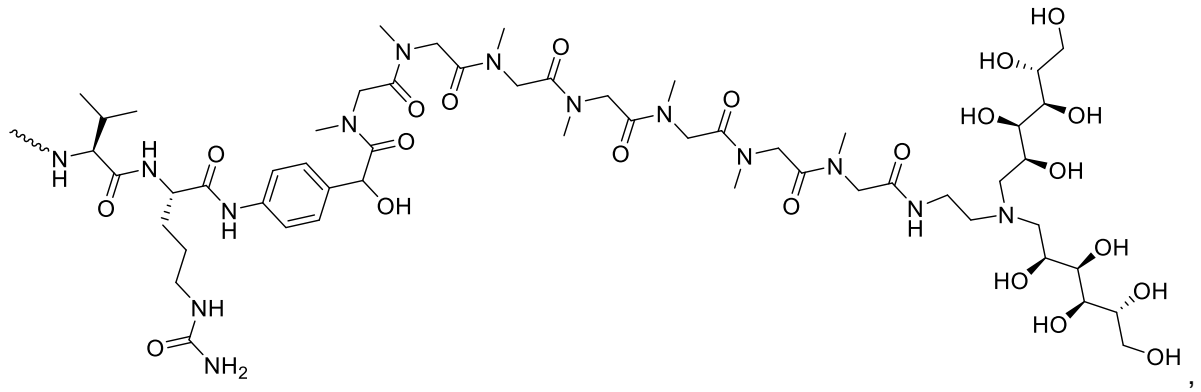
,



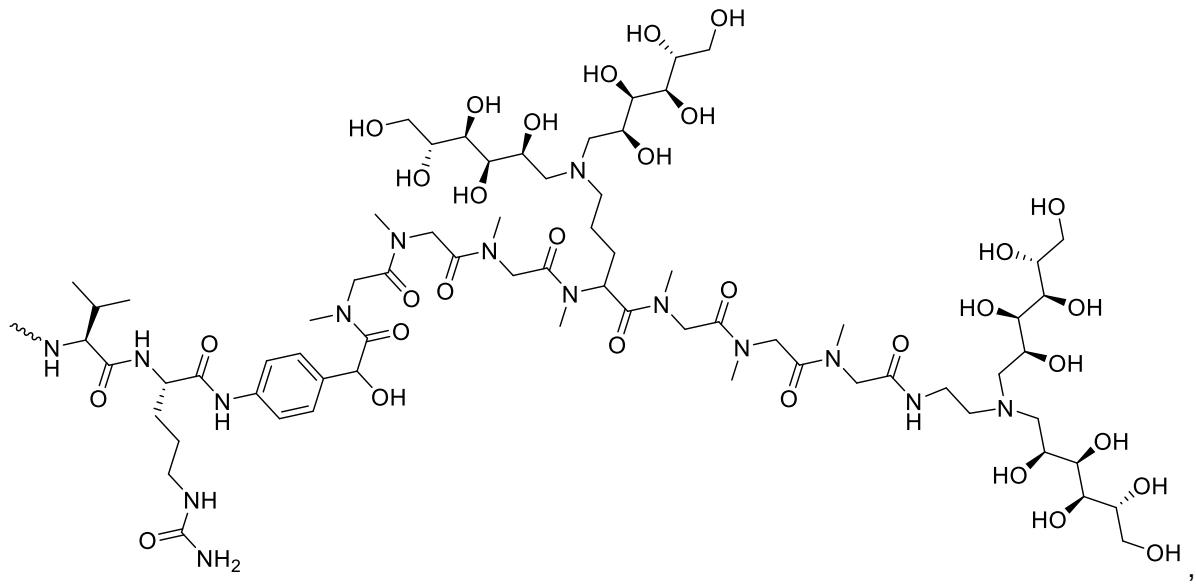
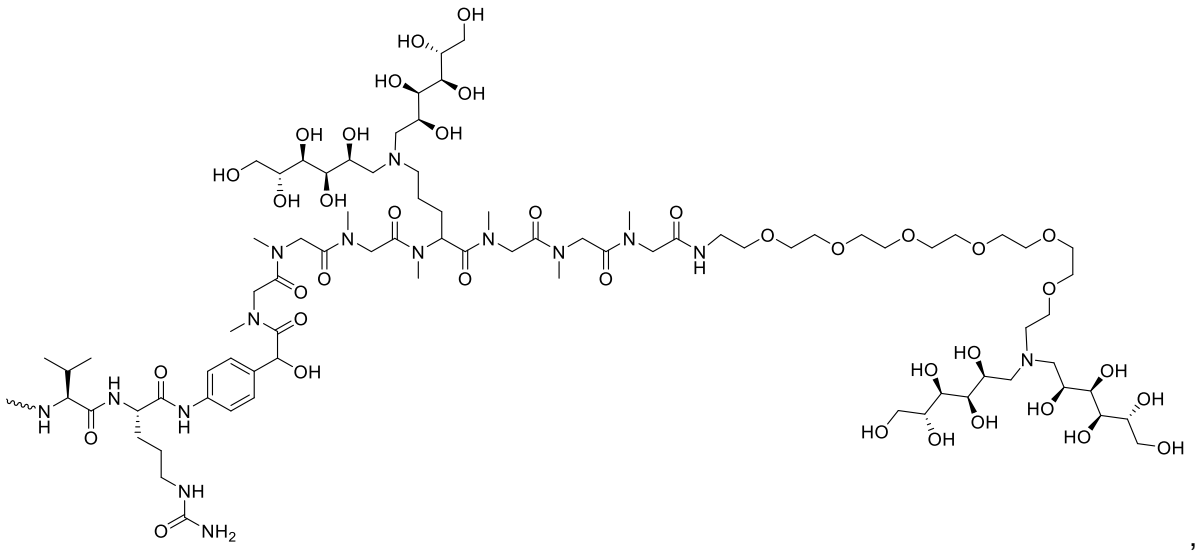
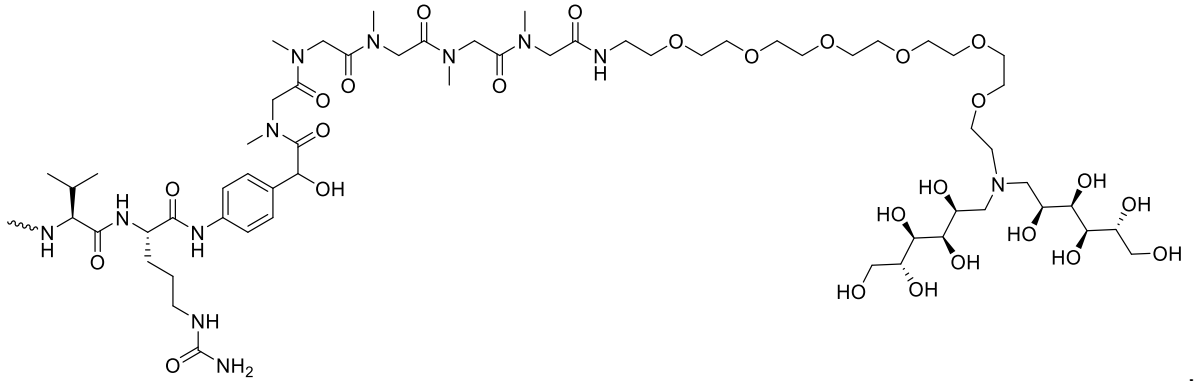
,

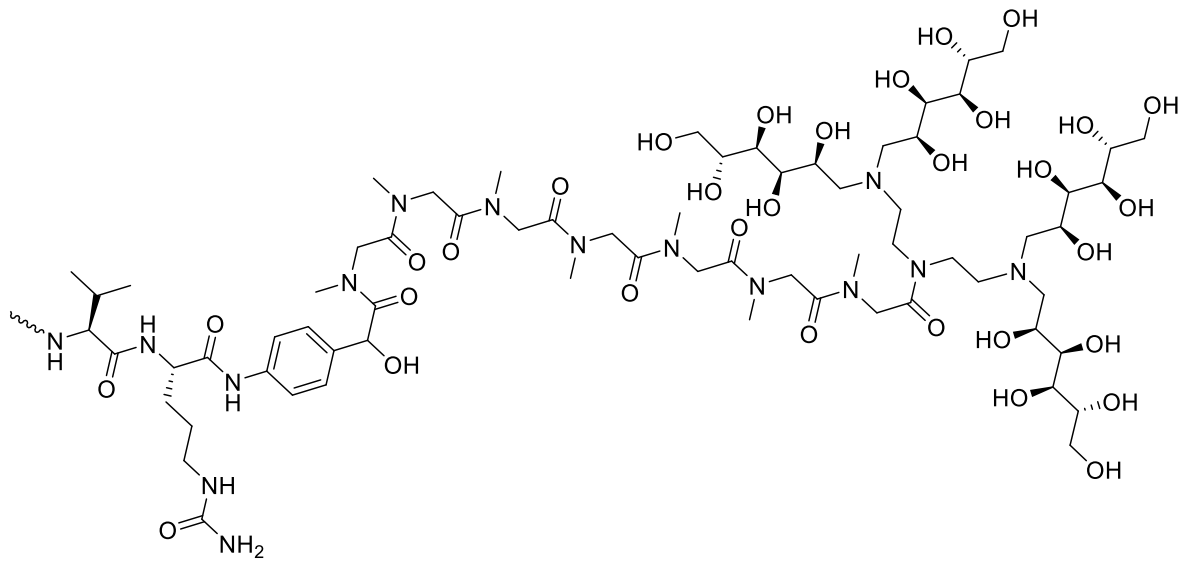


,

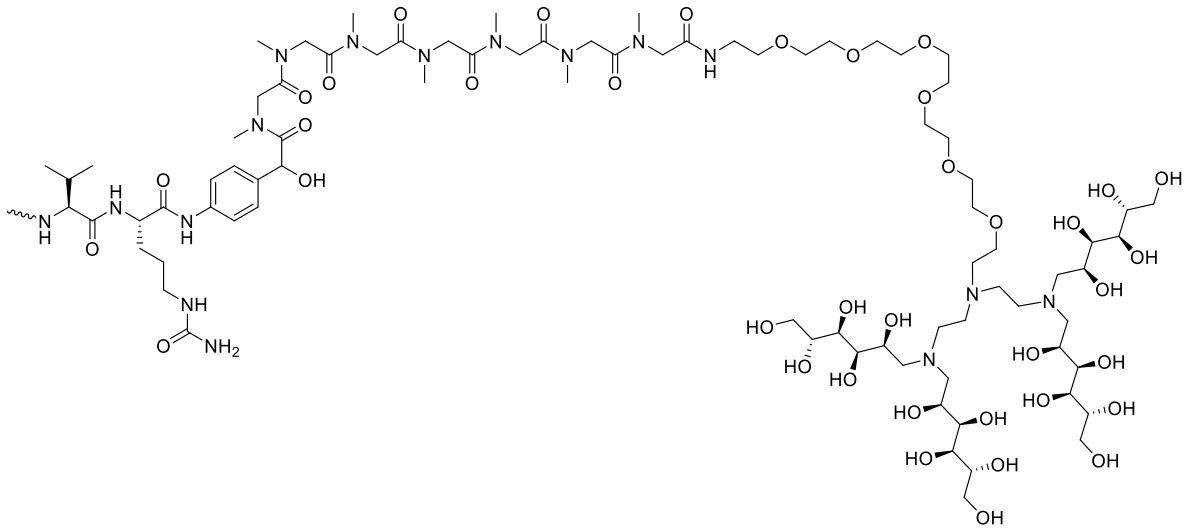


,

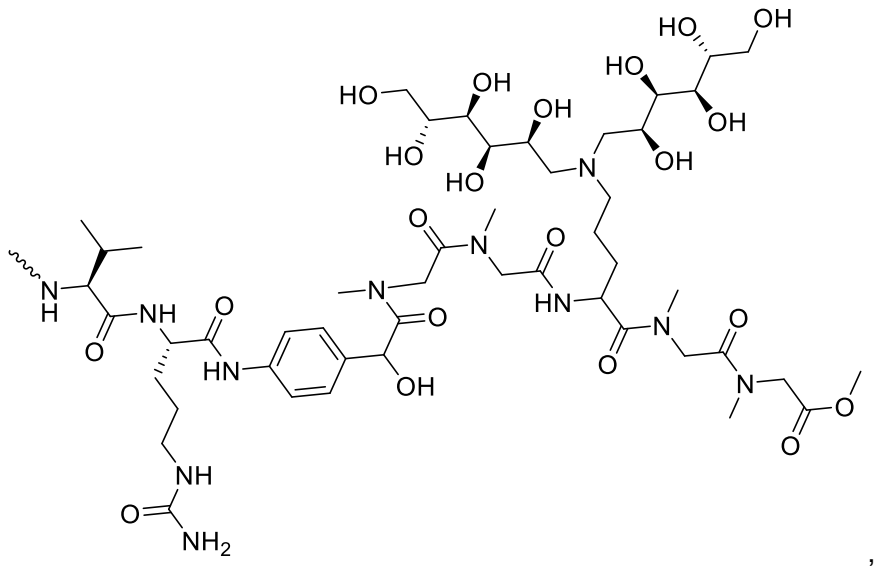

,

,

,



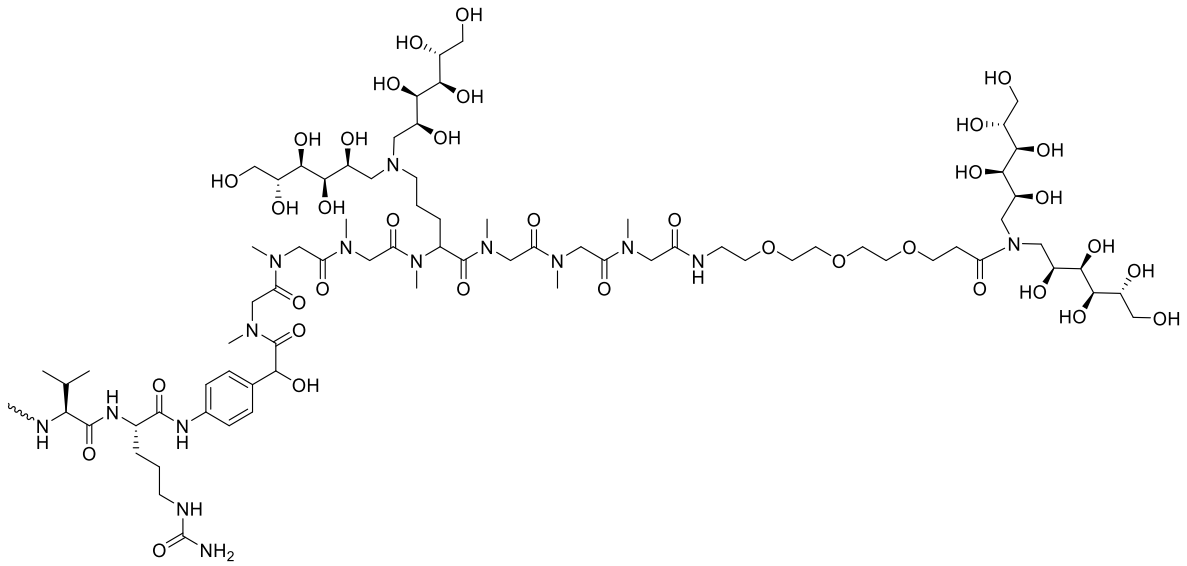
,



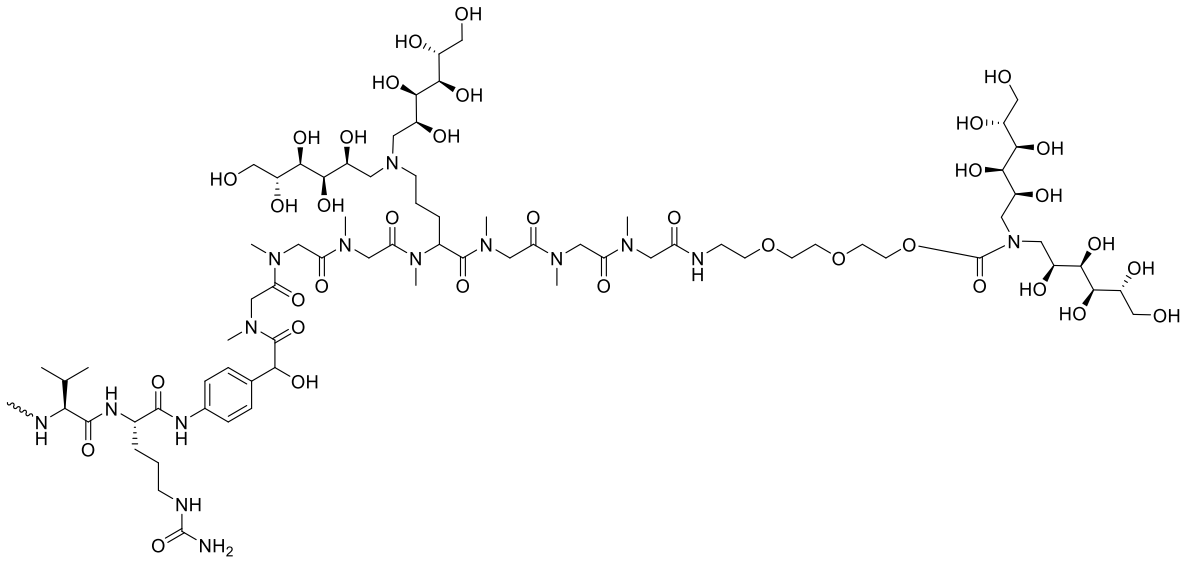
,



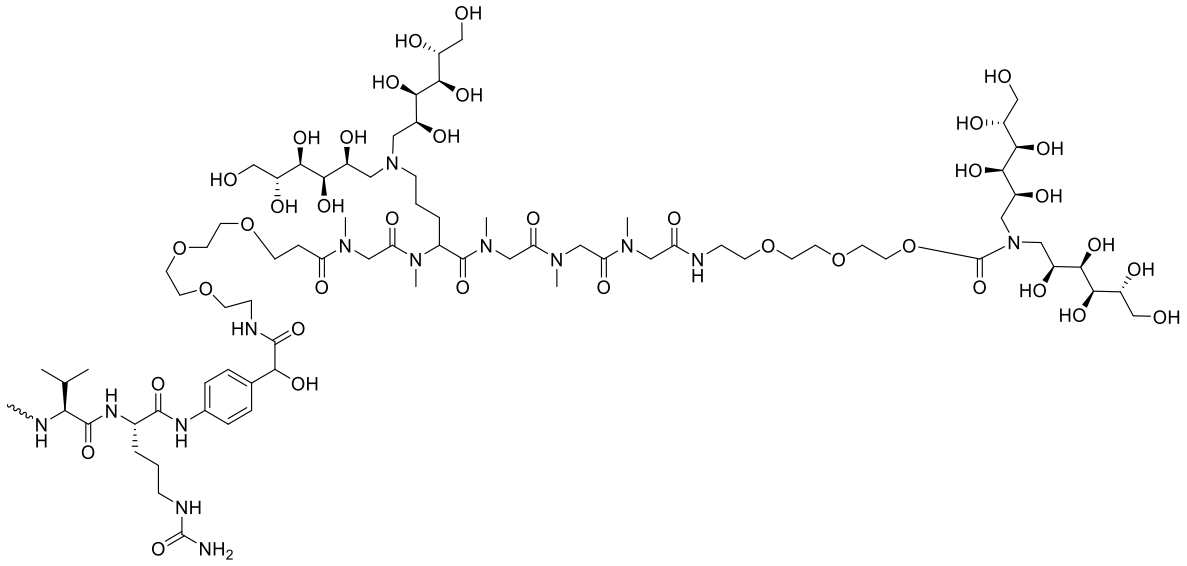
,



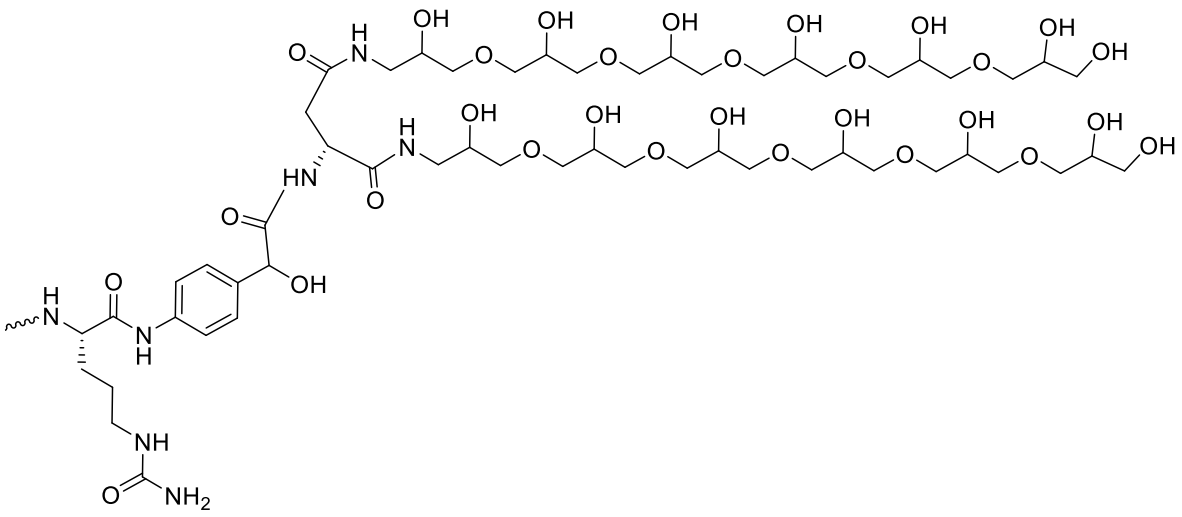
,



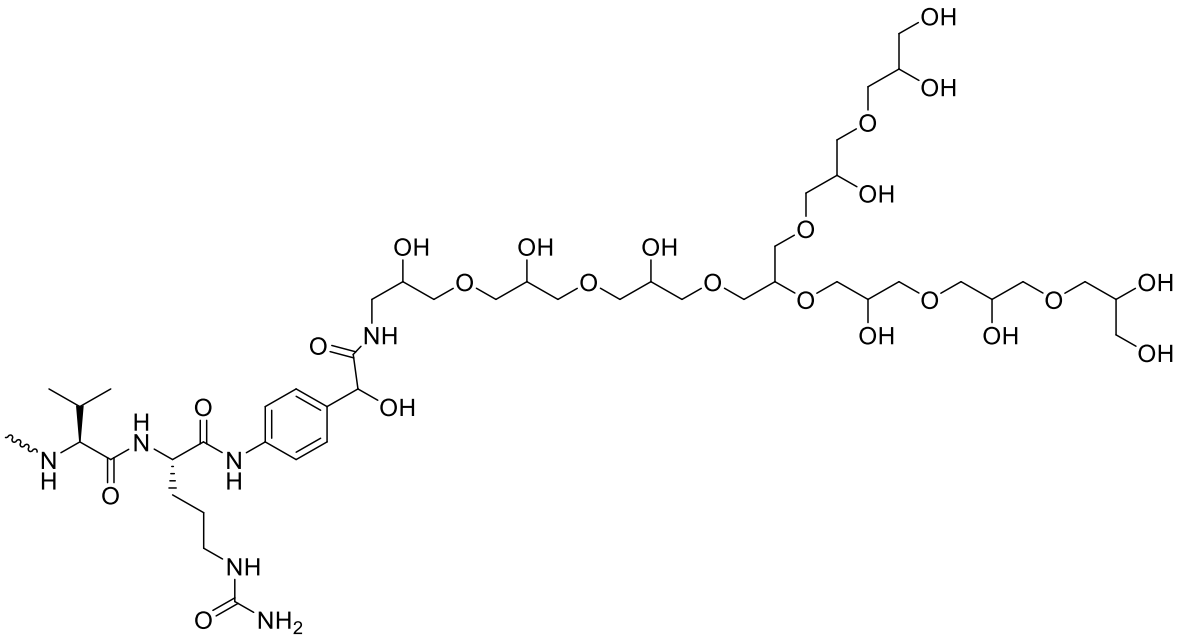
,



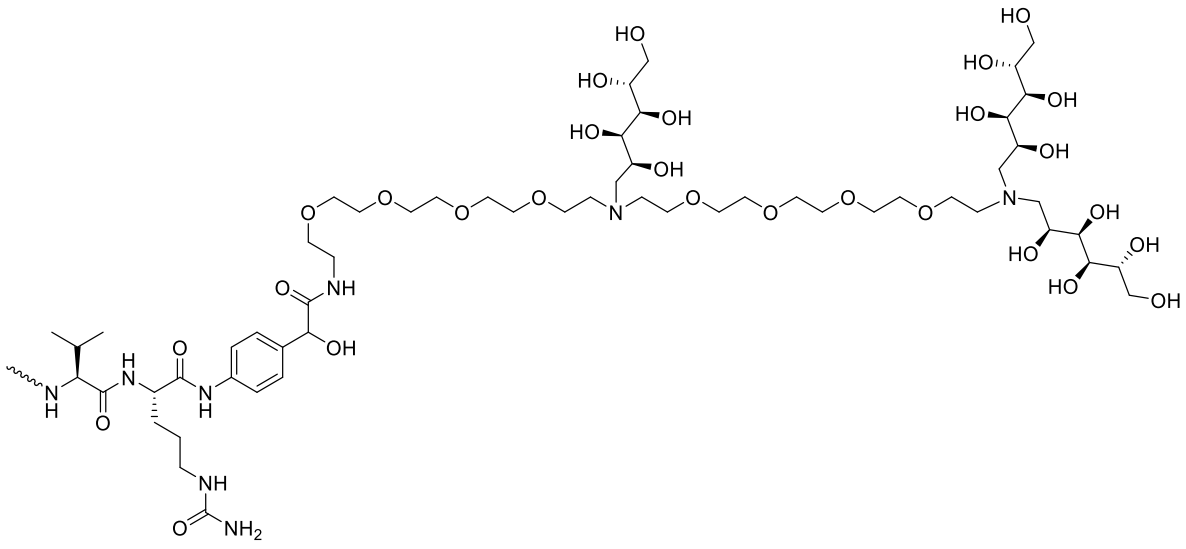
,



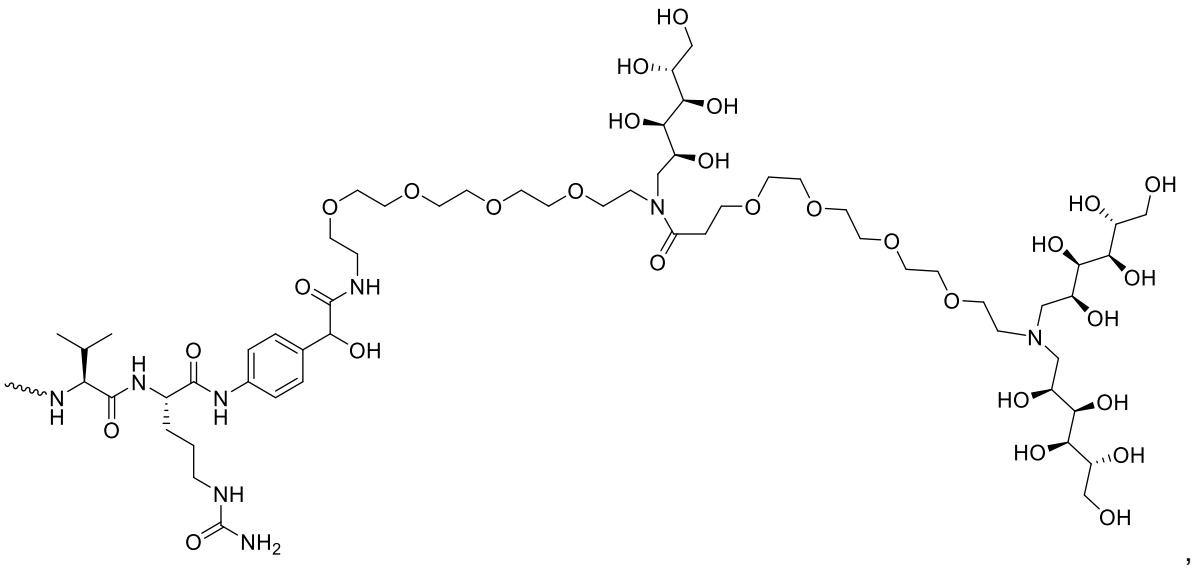
,



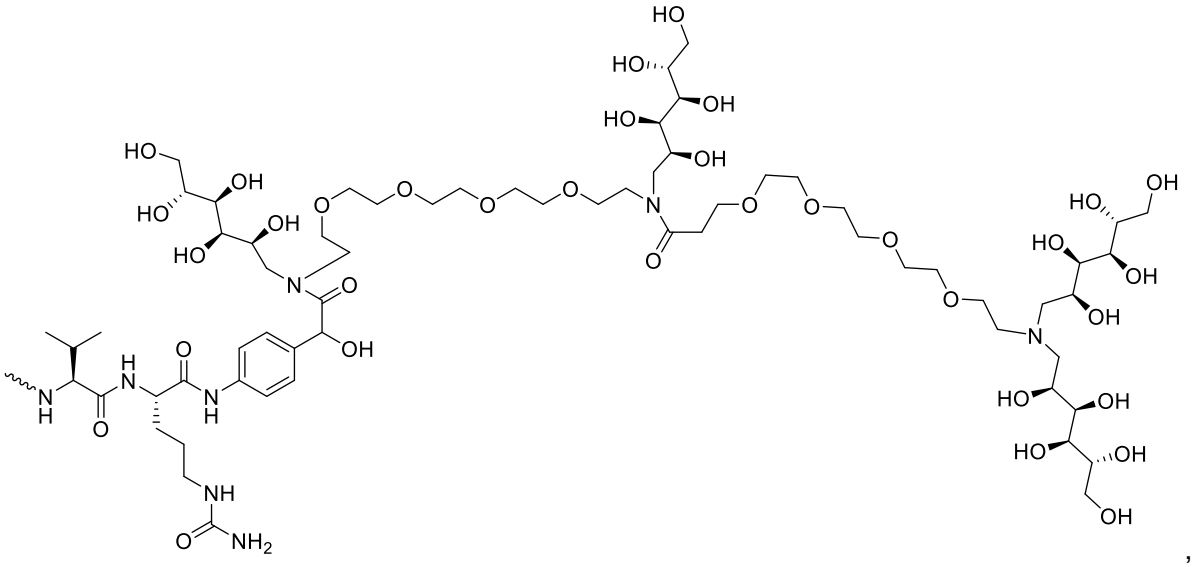
,



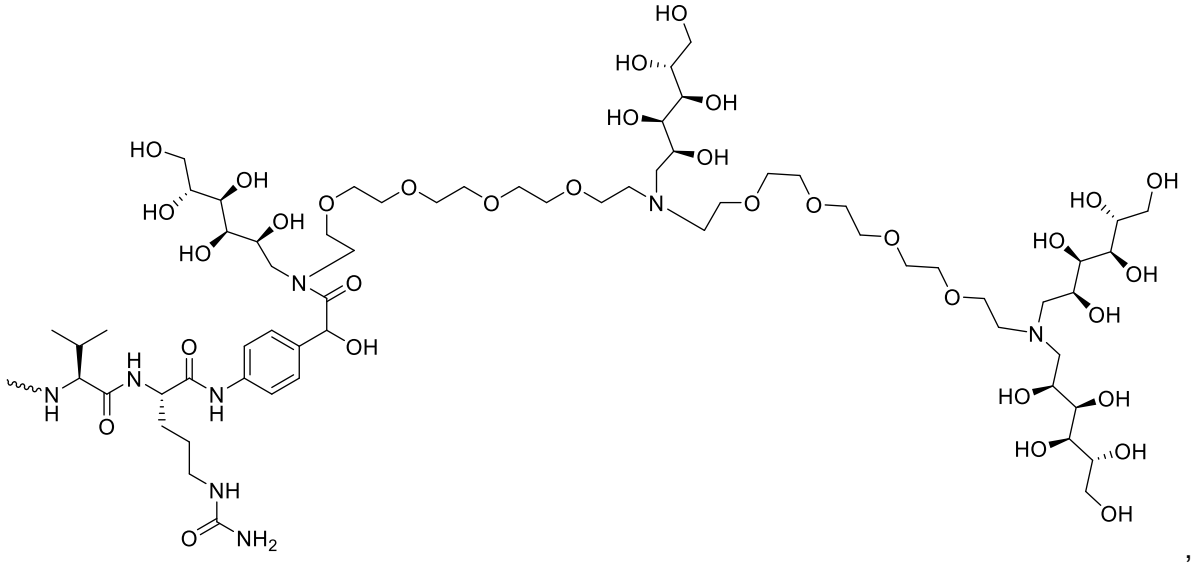
,



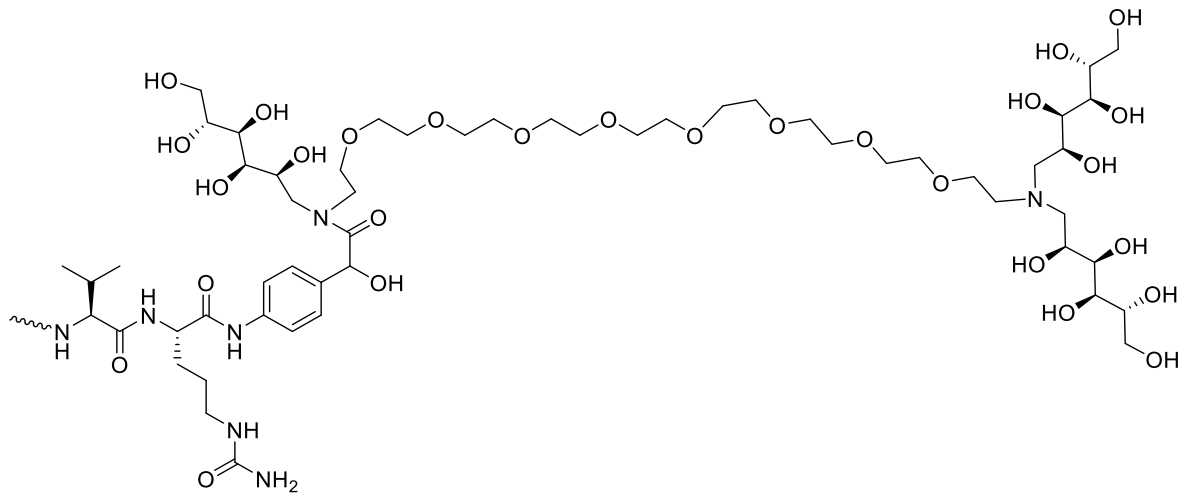
,



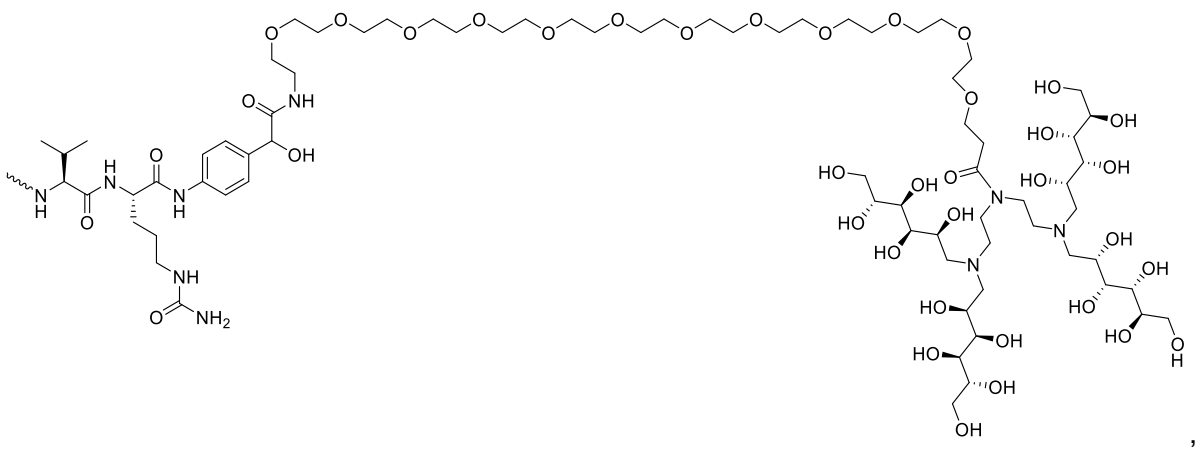
,



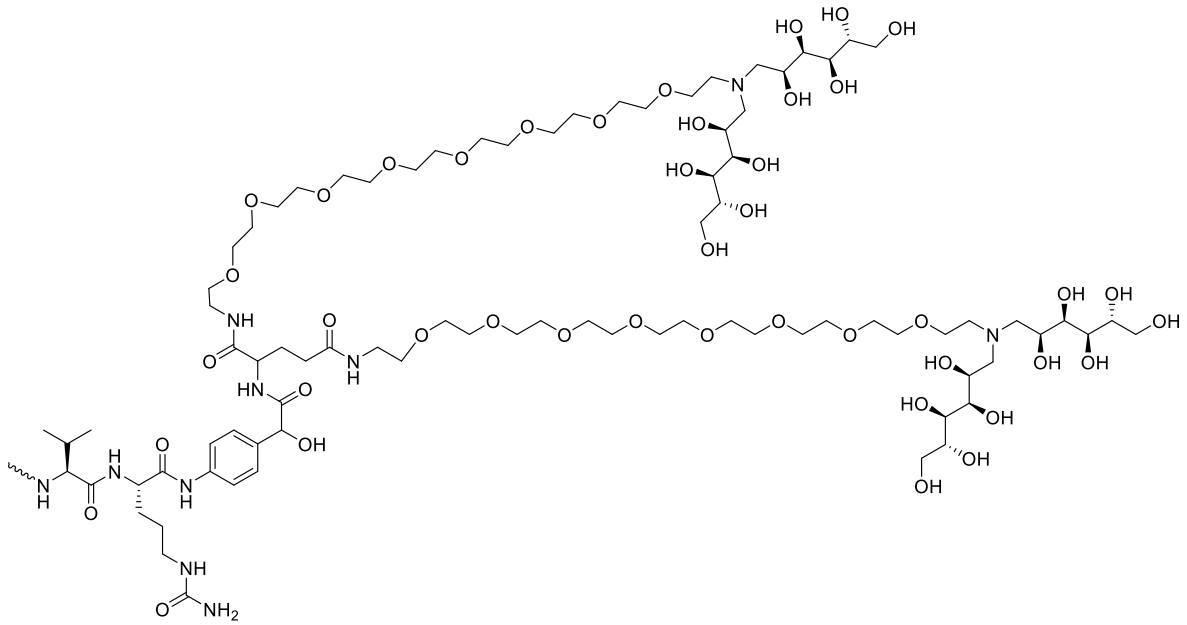
,



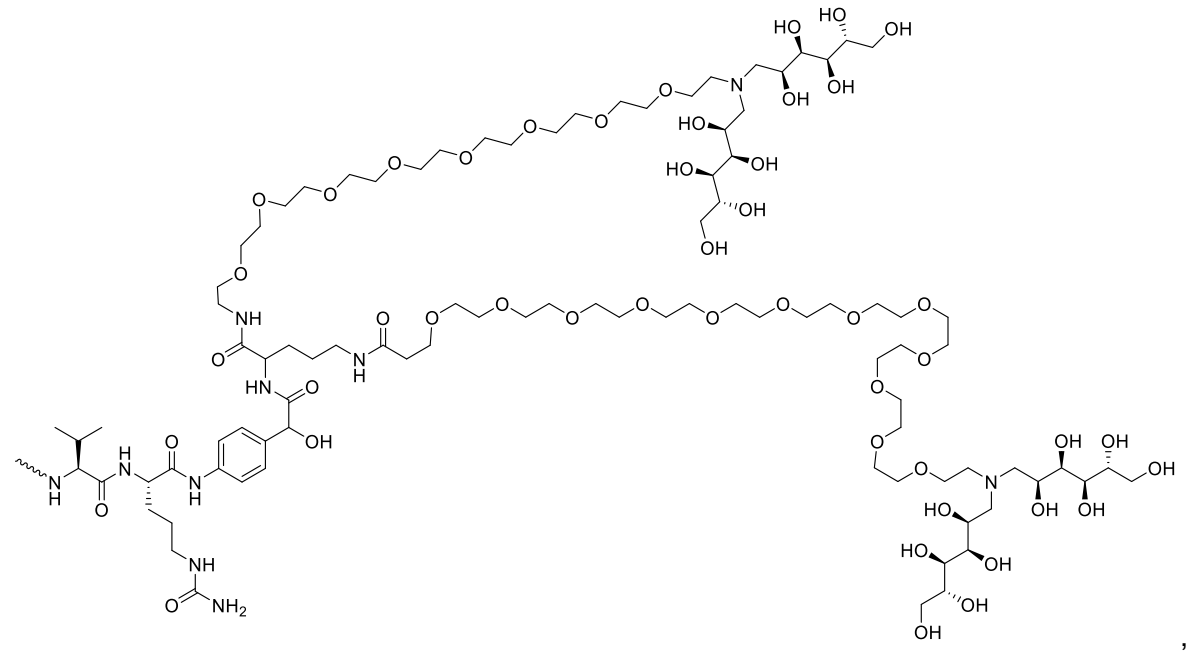
,



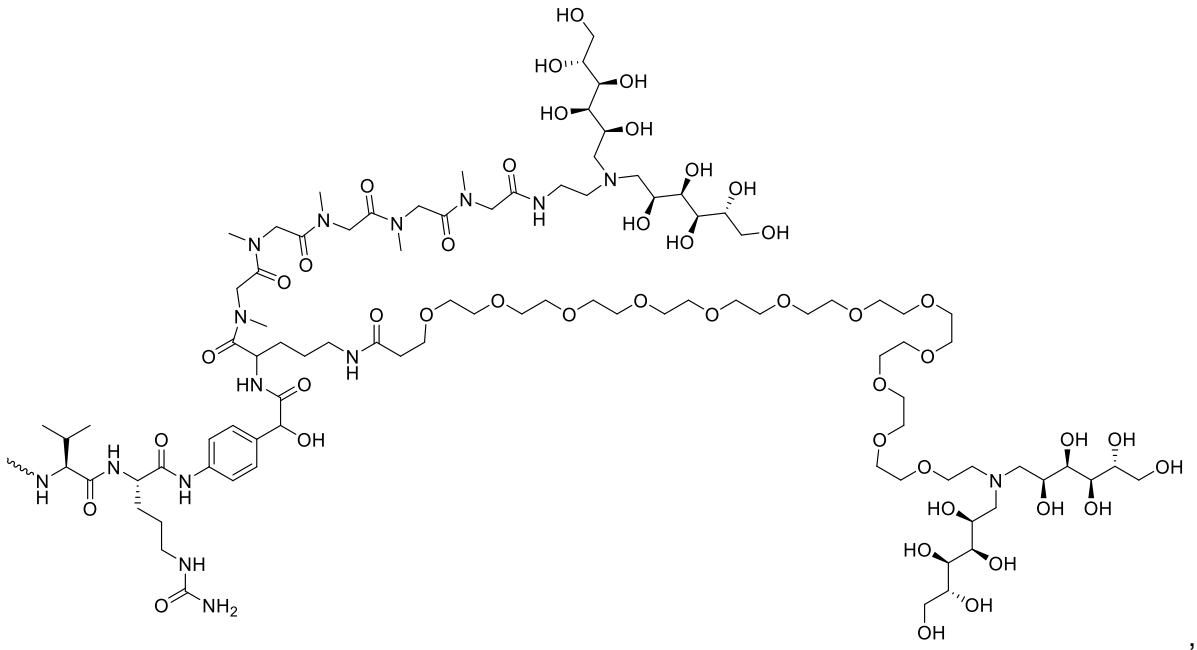
,



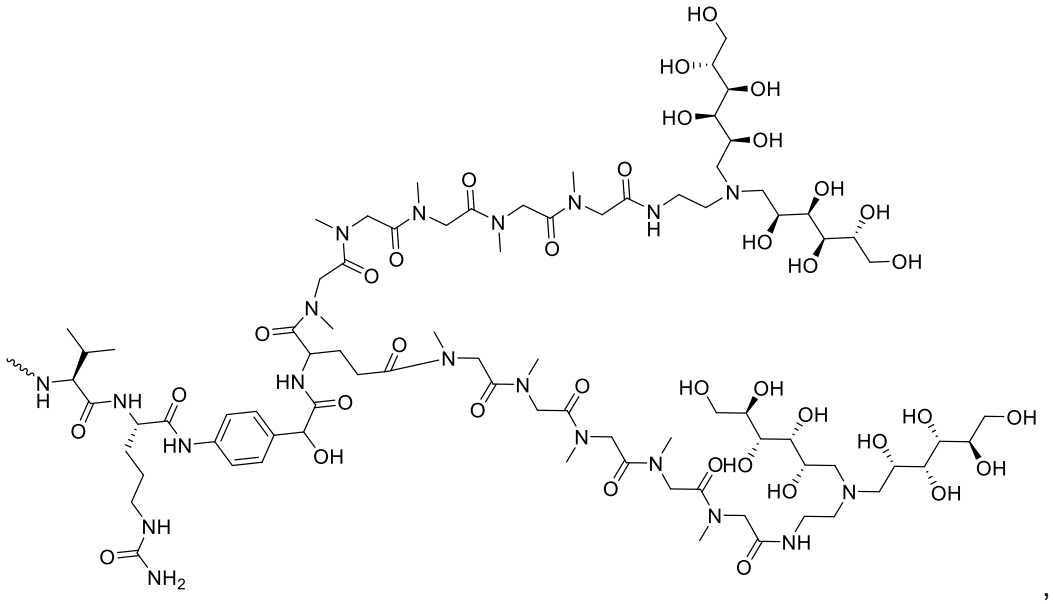
,



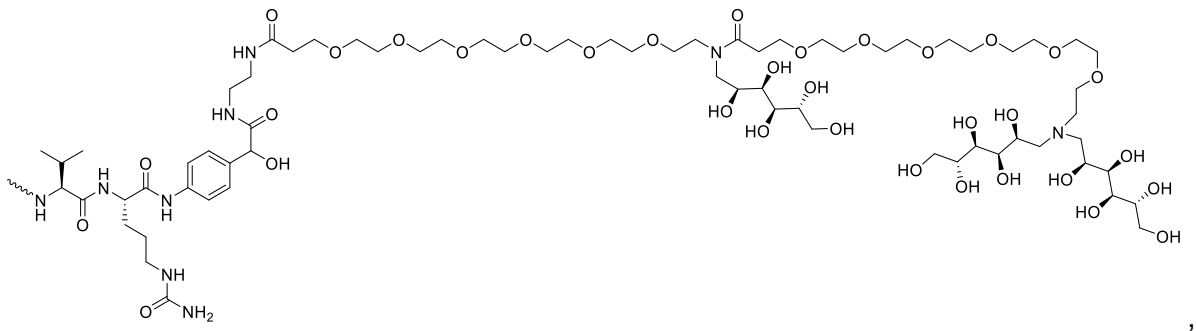
,



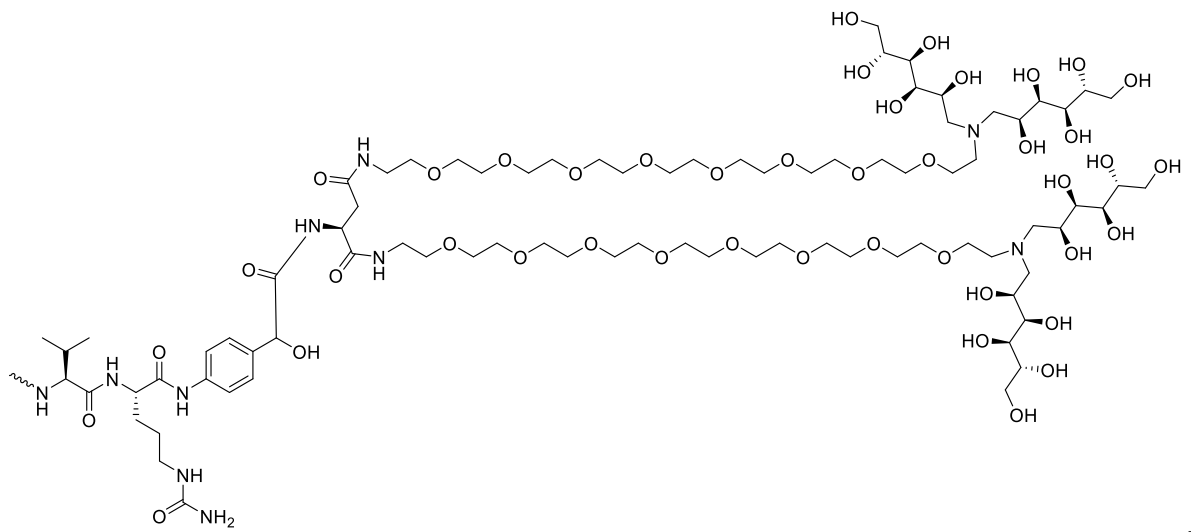
,



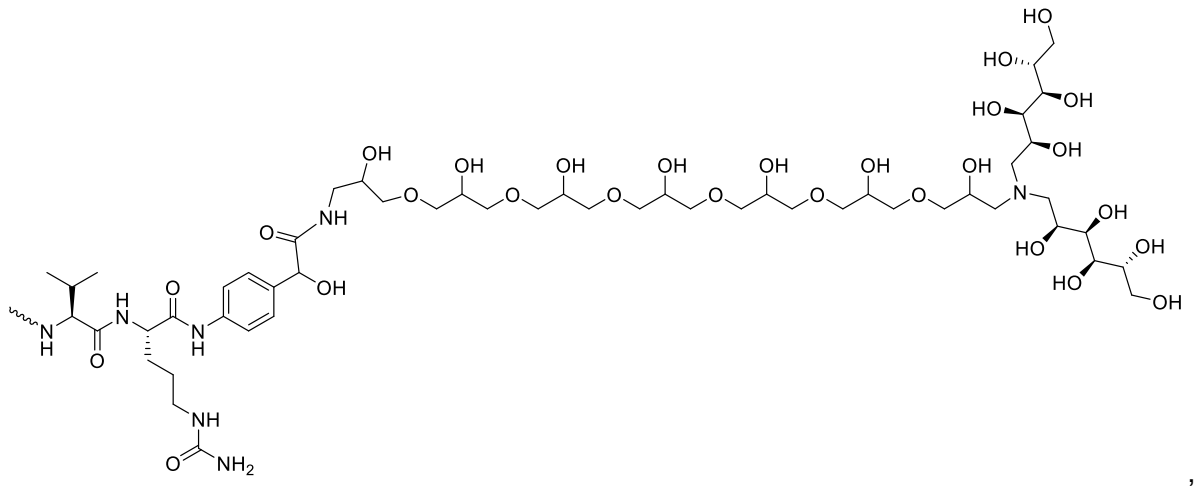
,



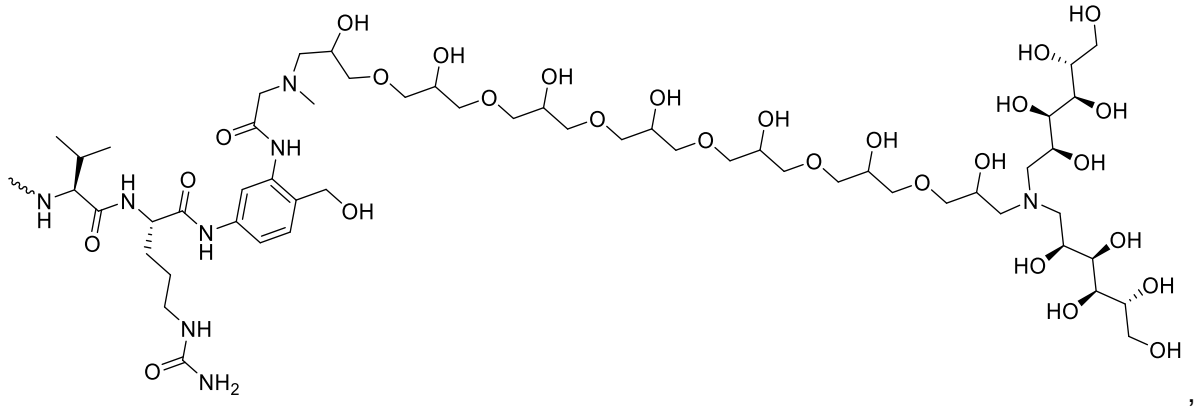
,



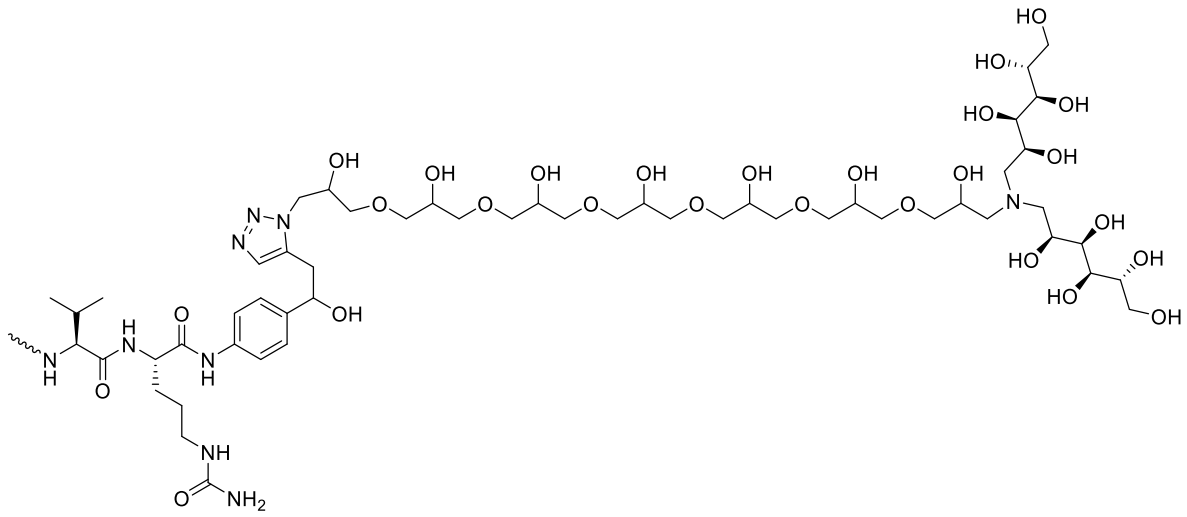
,



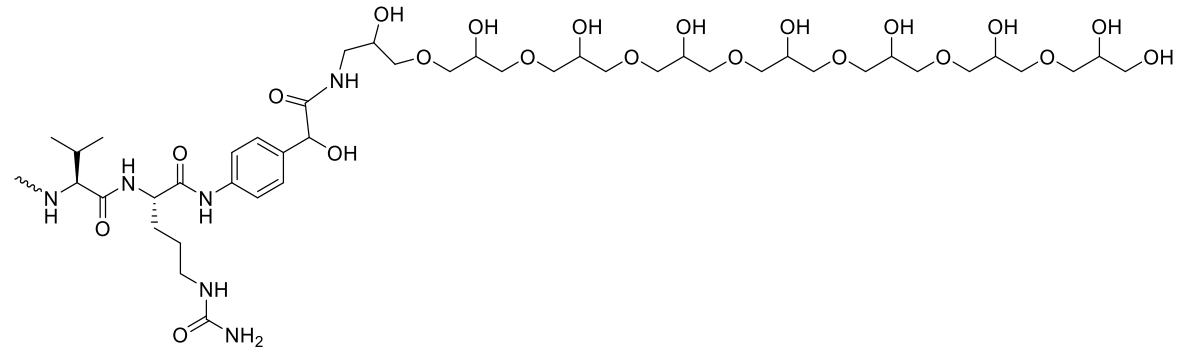
,



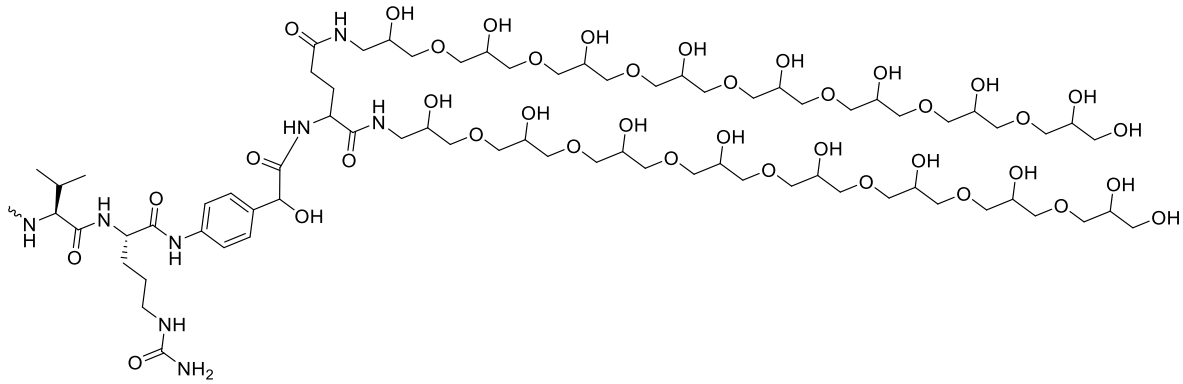
,



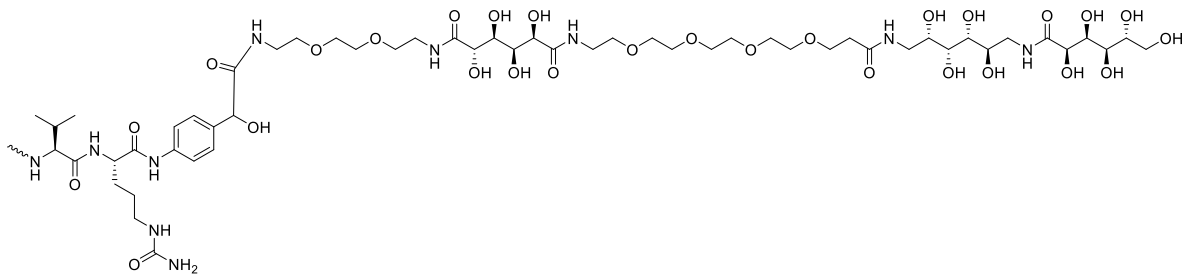
,



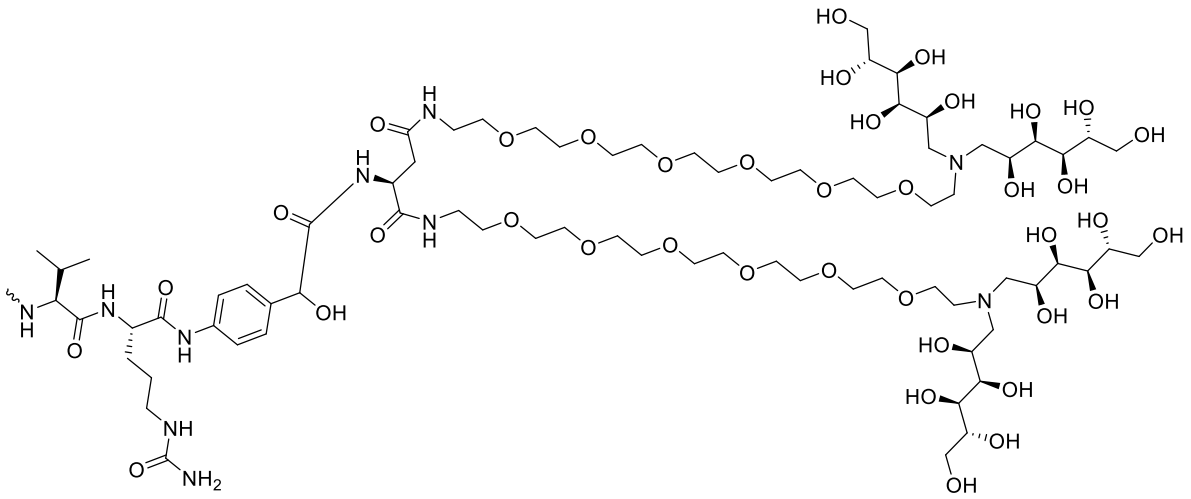
,



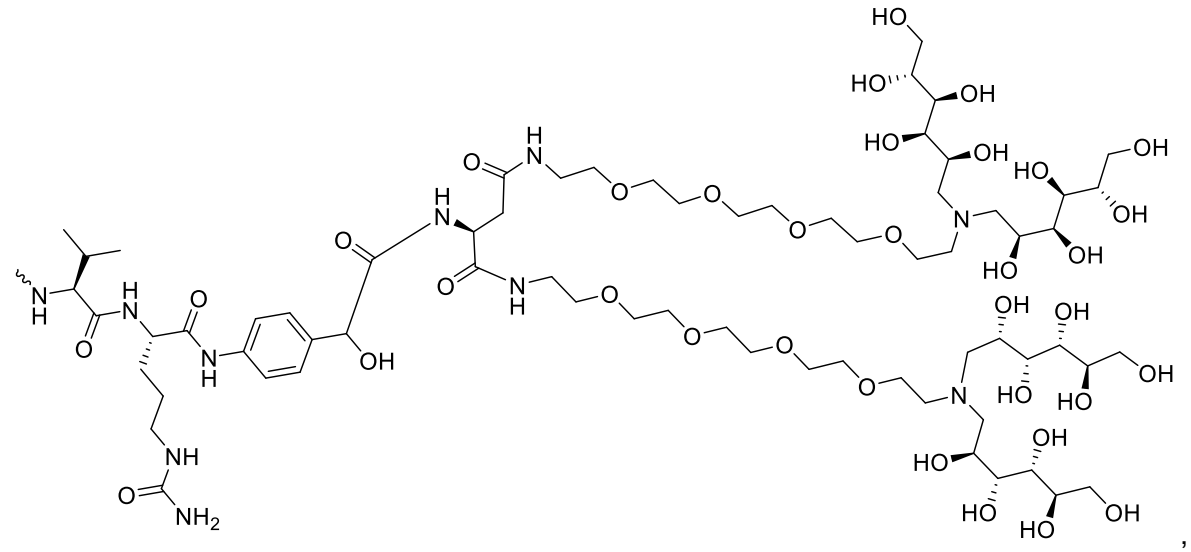
,



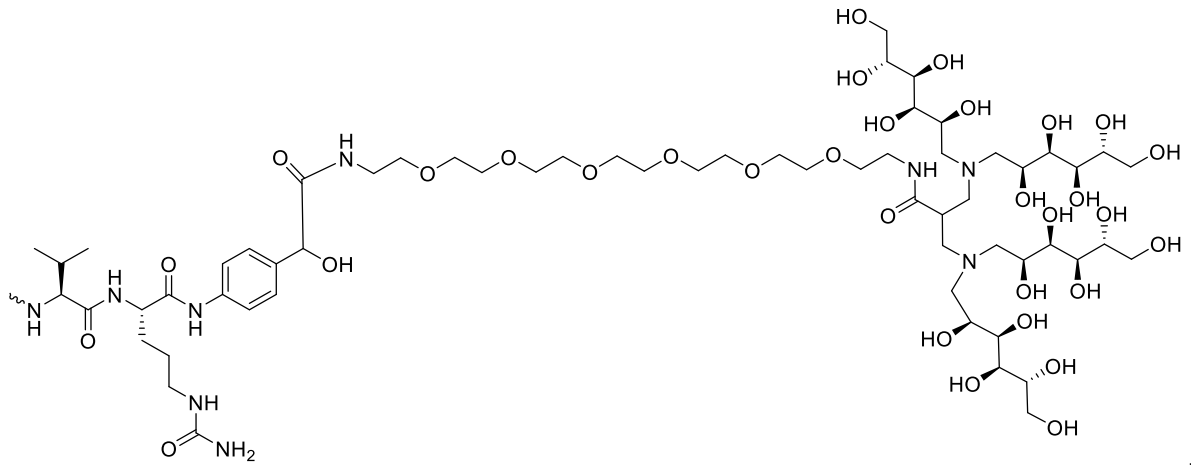
,



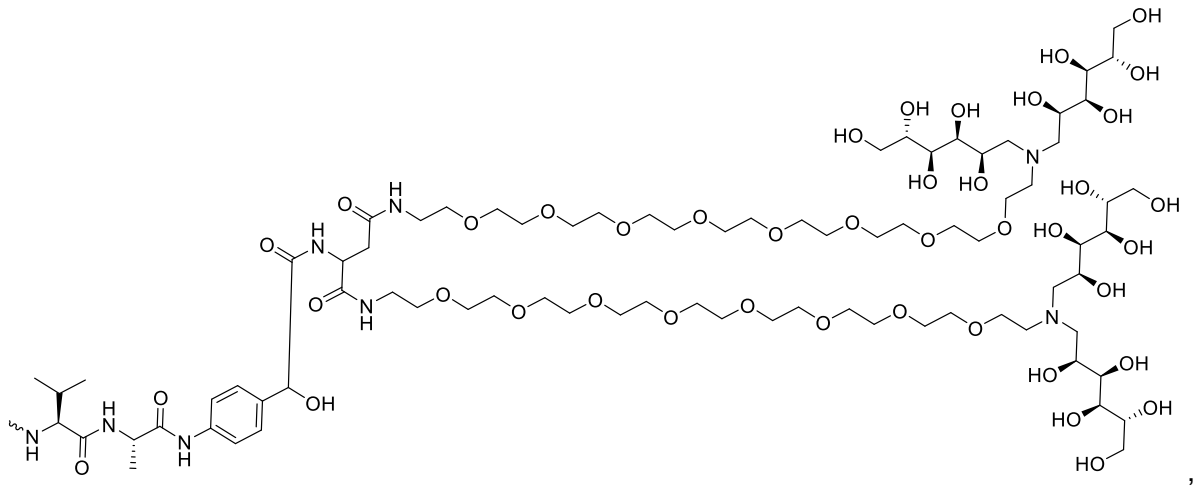
,



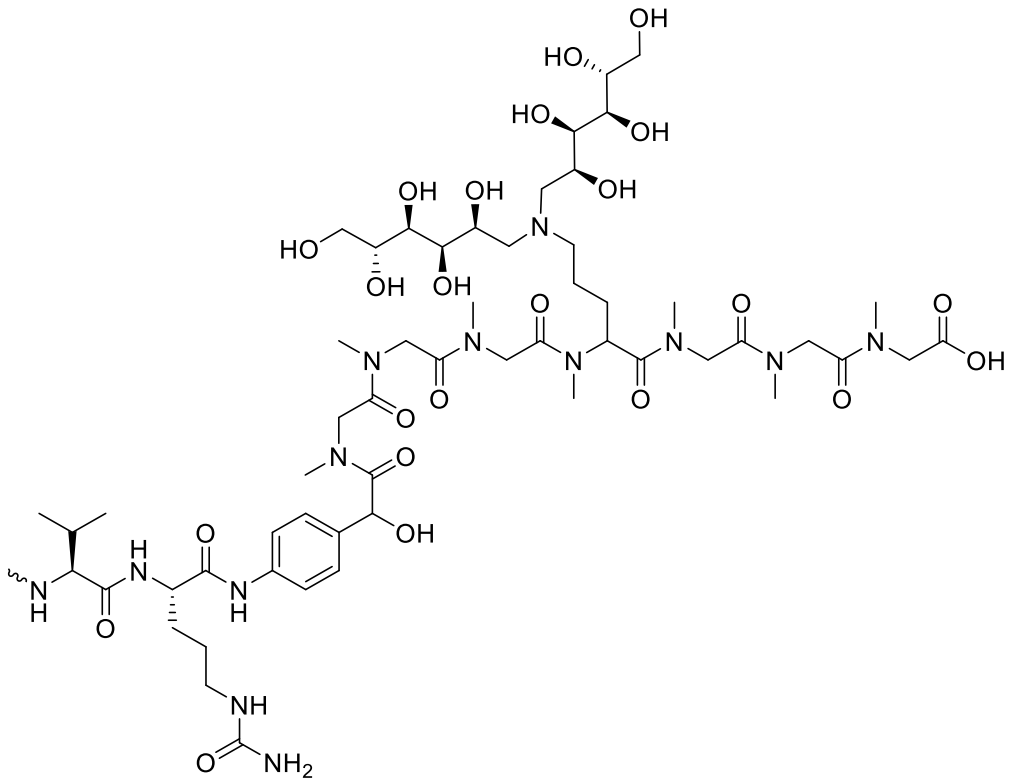
,



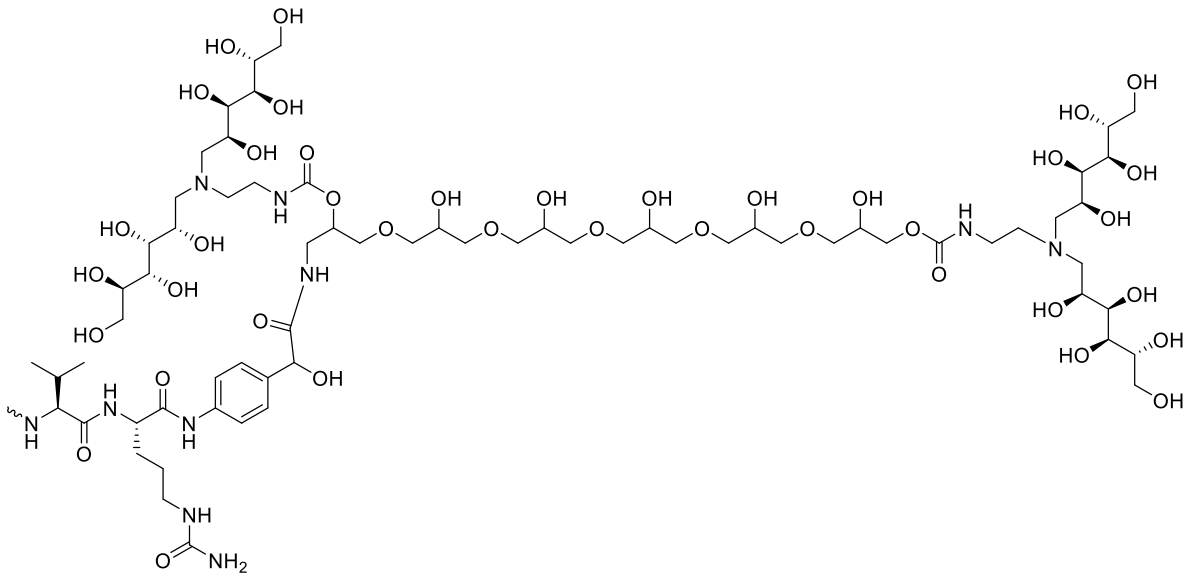
,



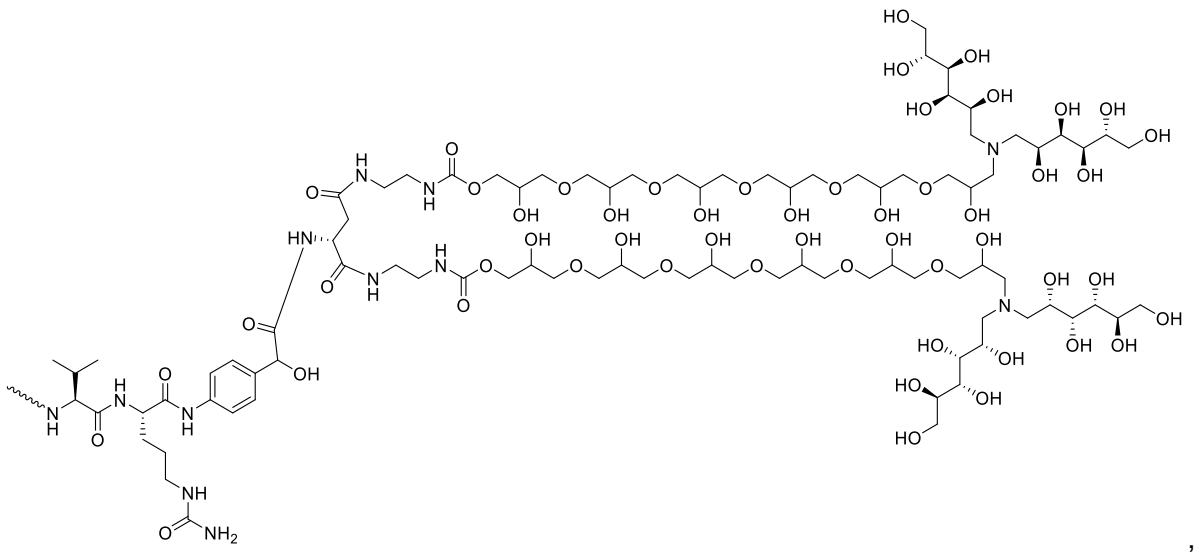
,



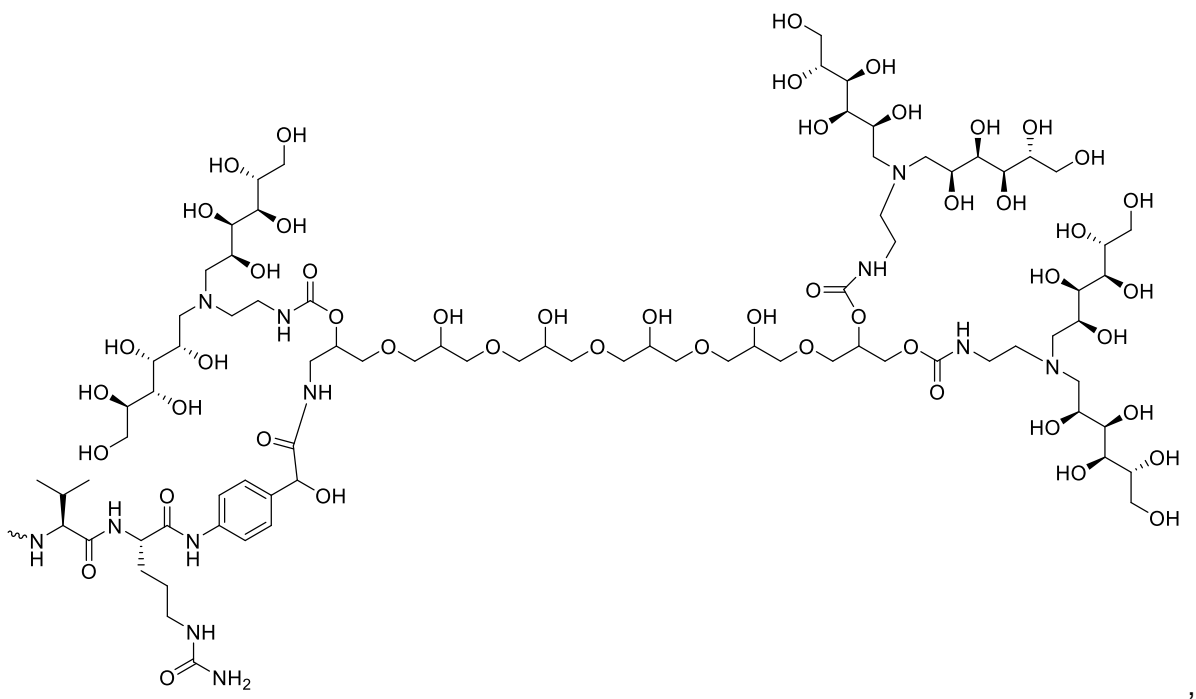
,



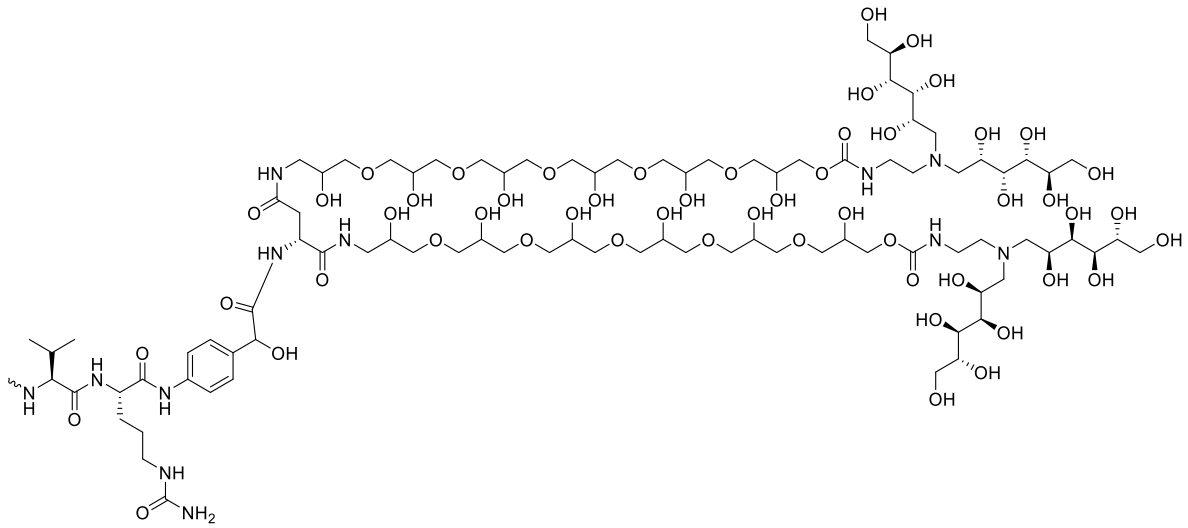
,



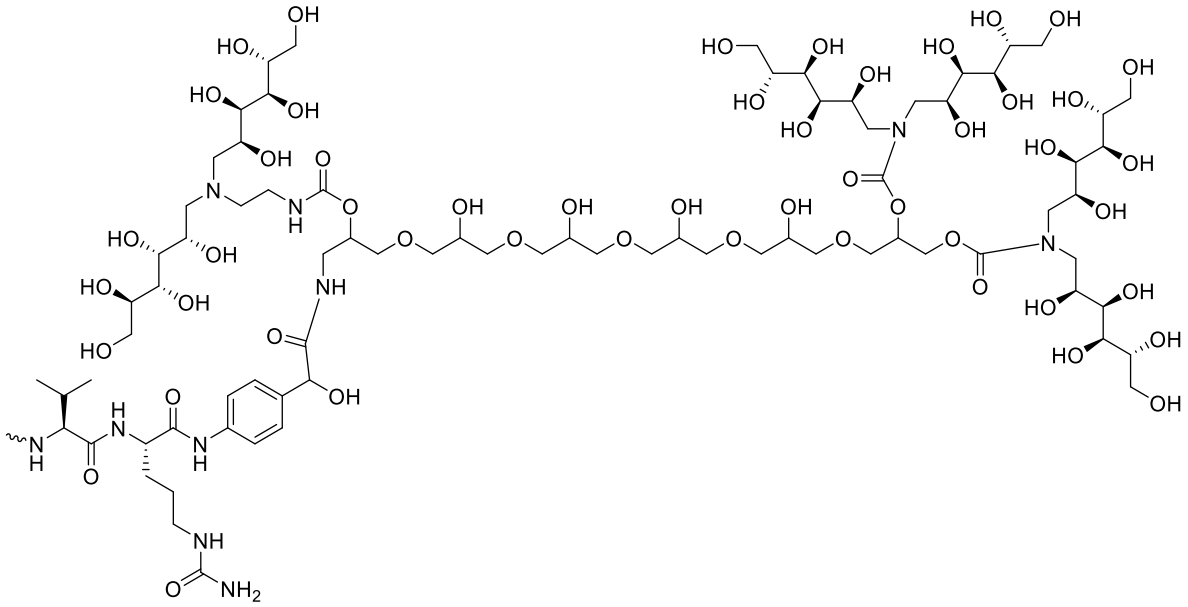
,



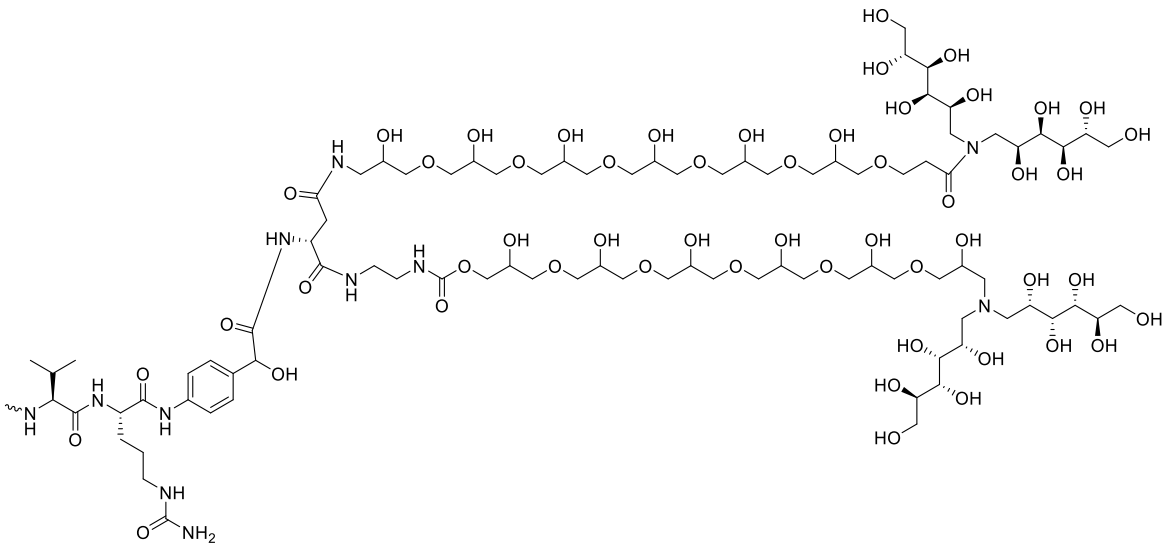
,



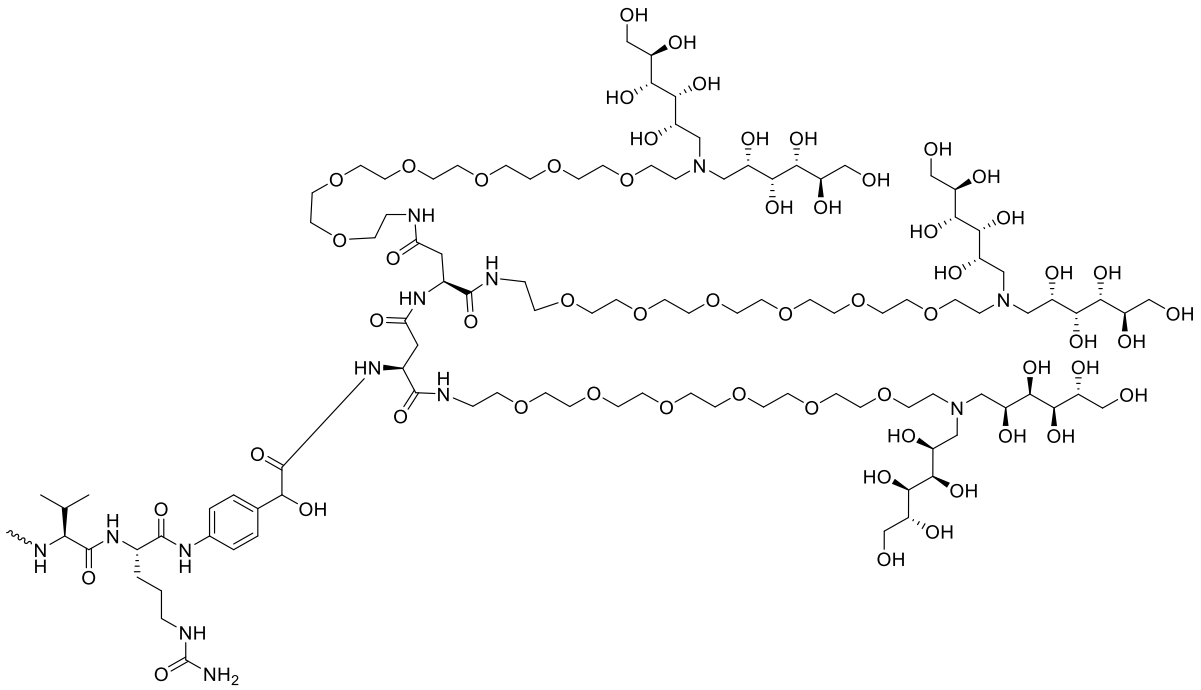
,



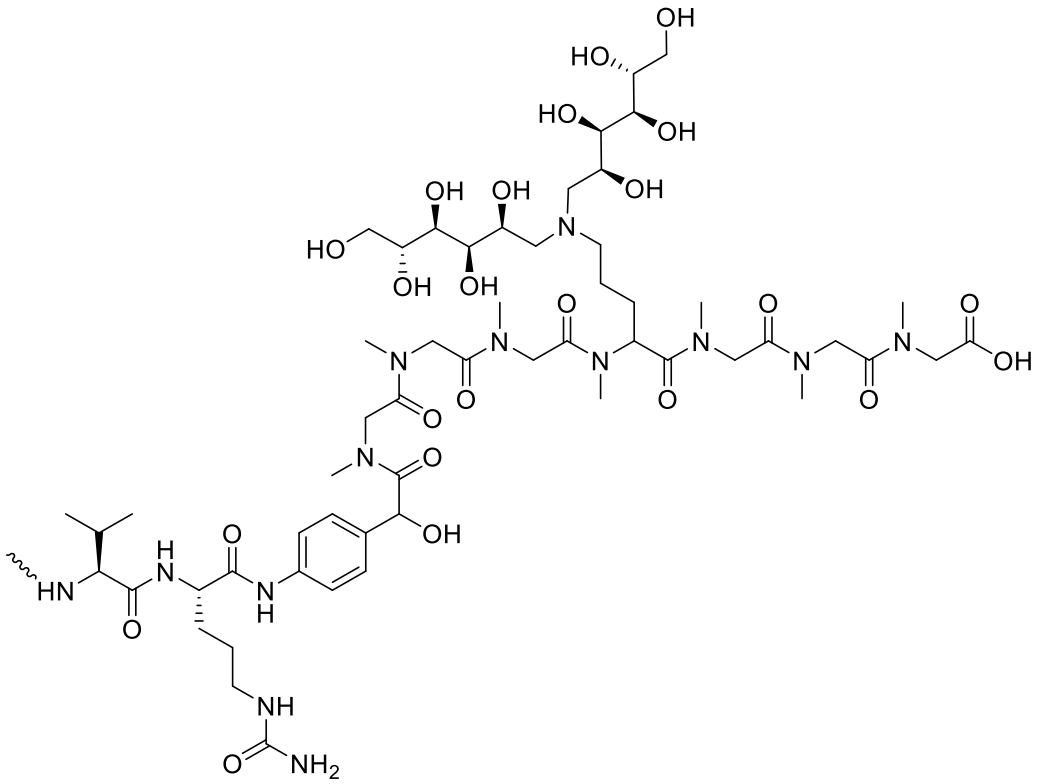
,



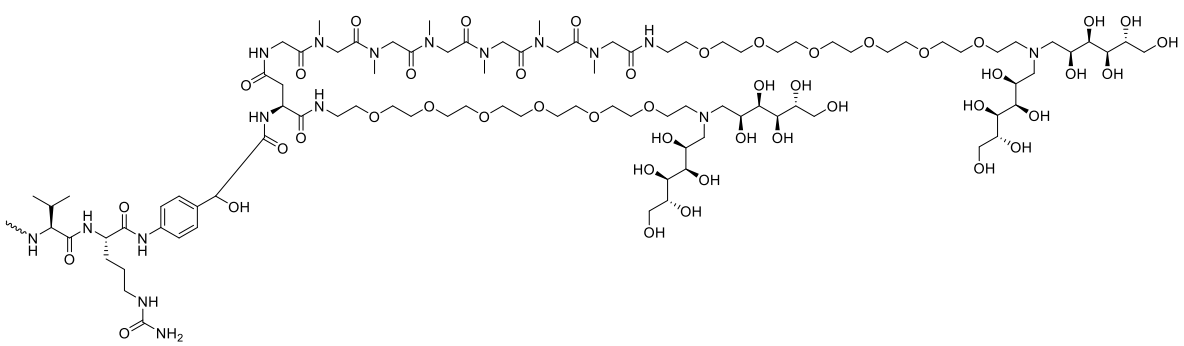
,



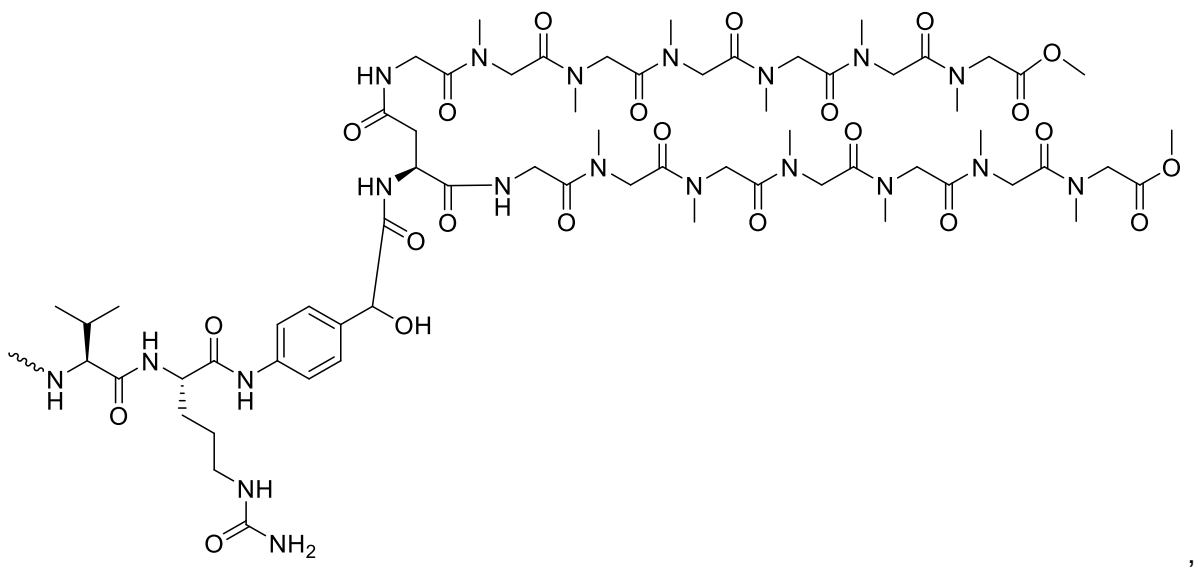
,



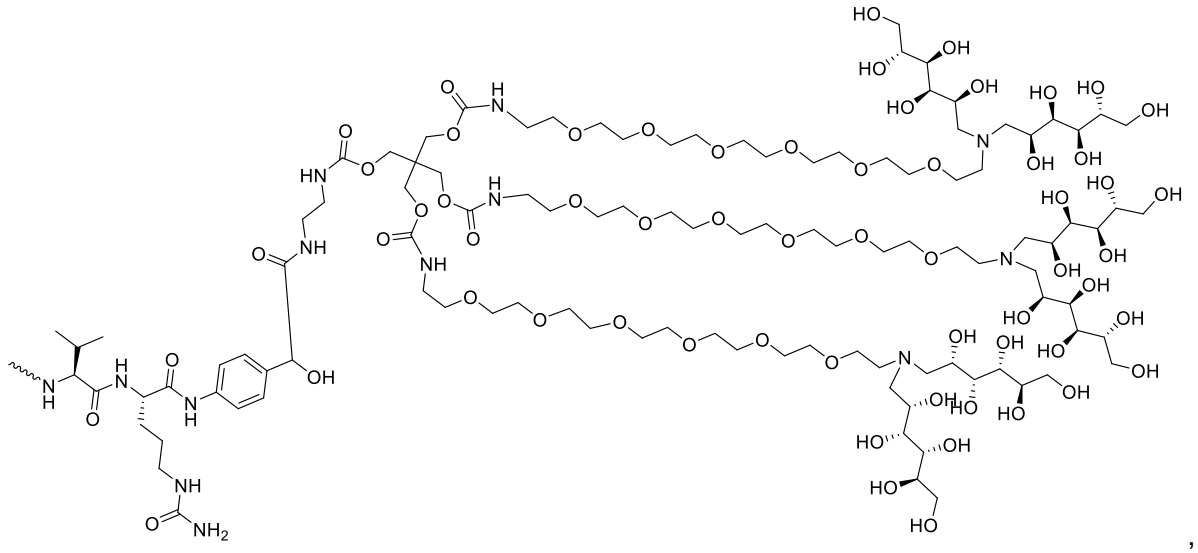
,



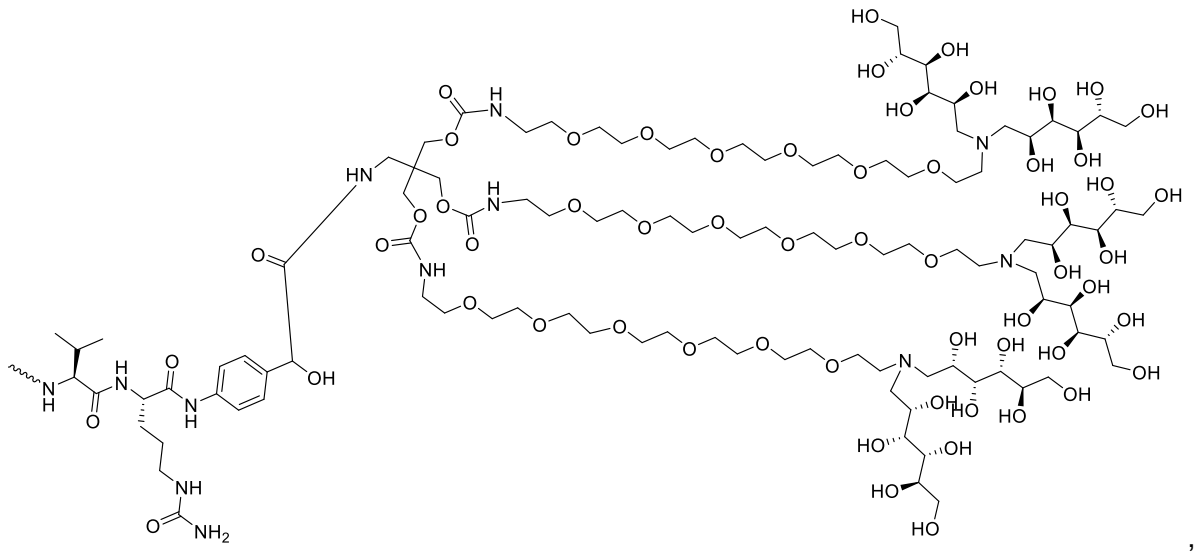
,



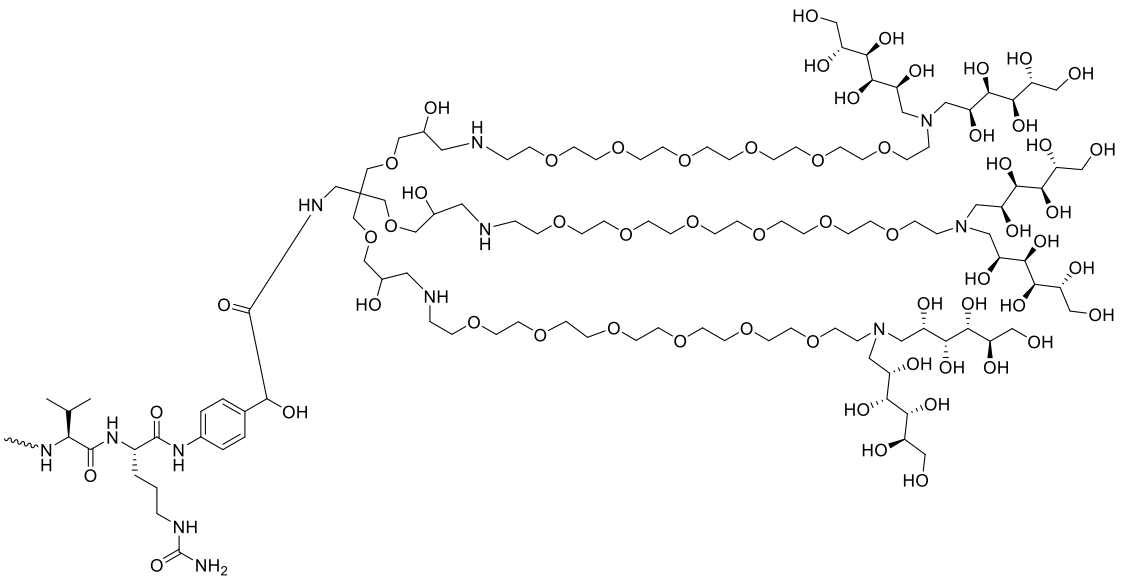
,



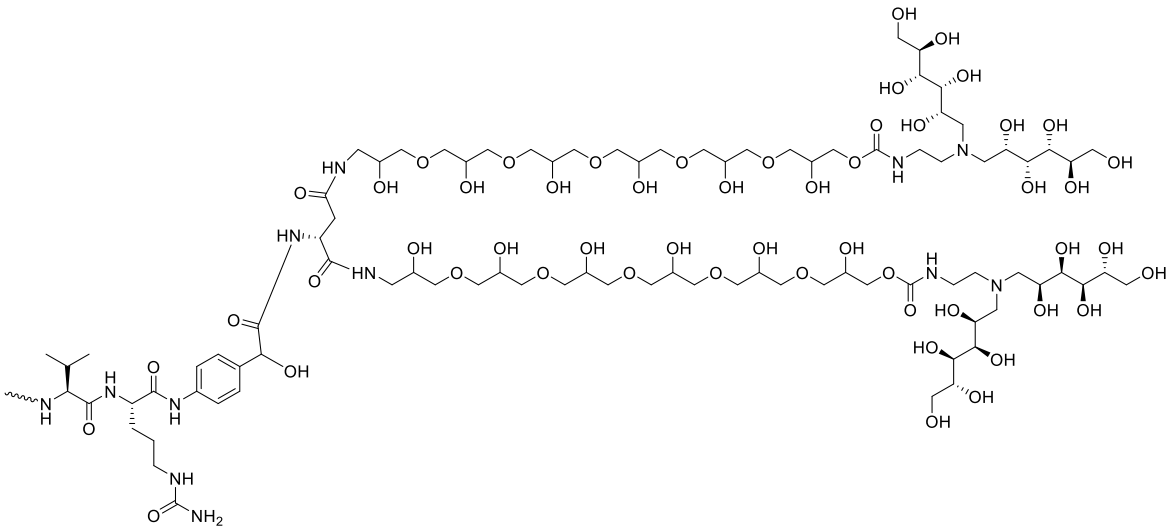
,



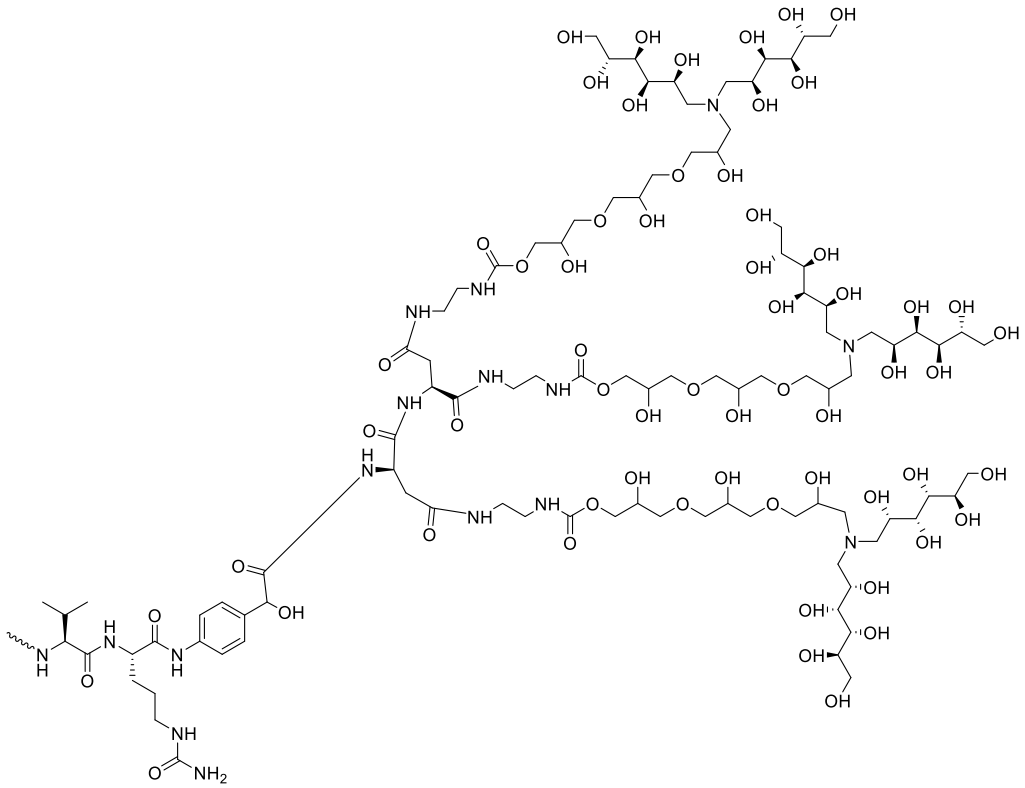
,



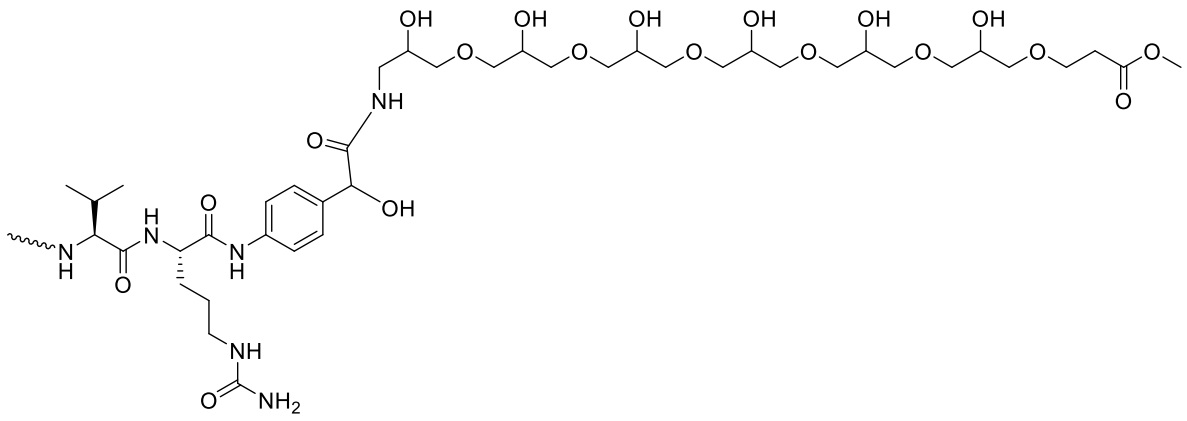
,



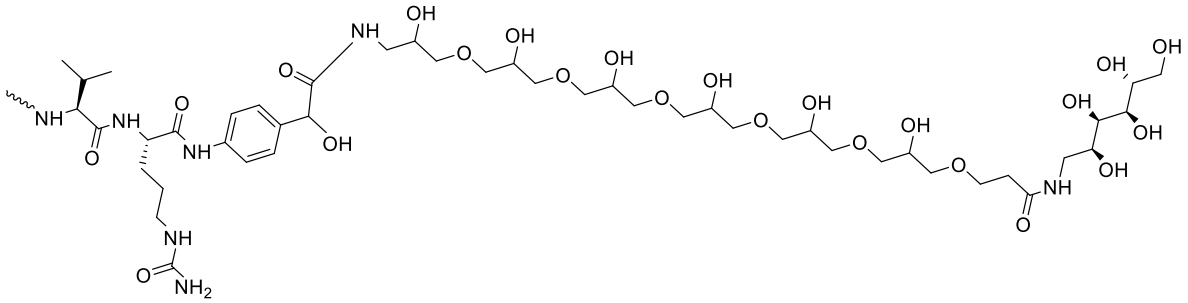
,



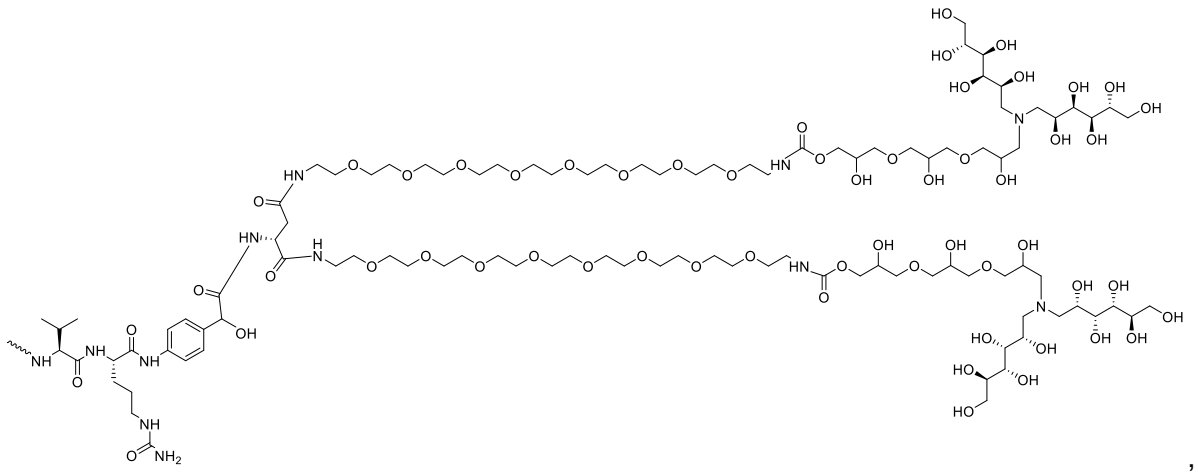
,



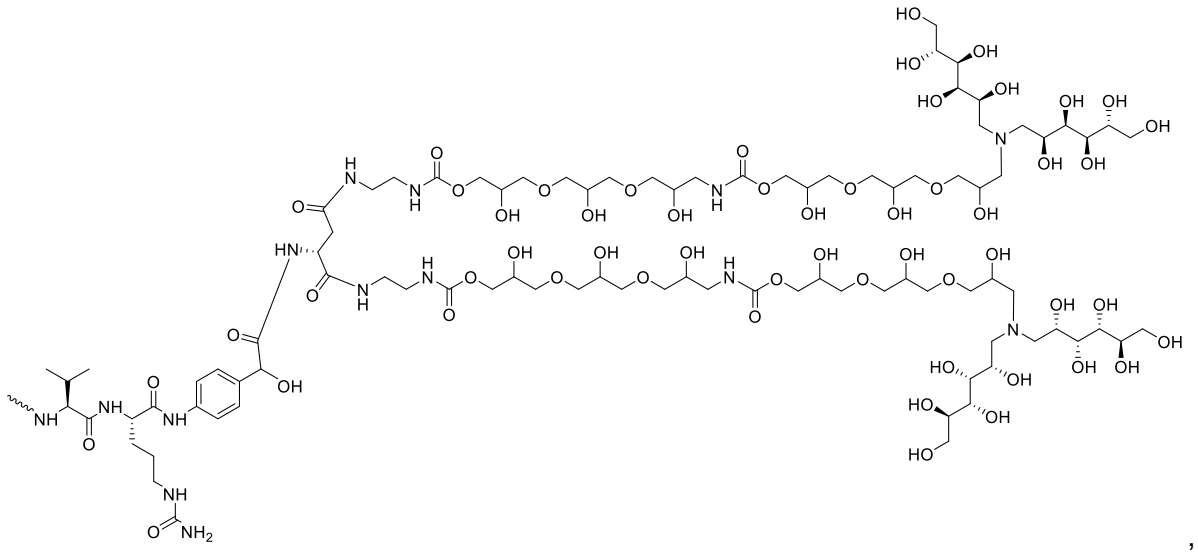
,



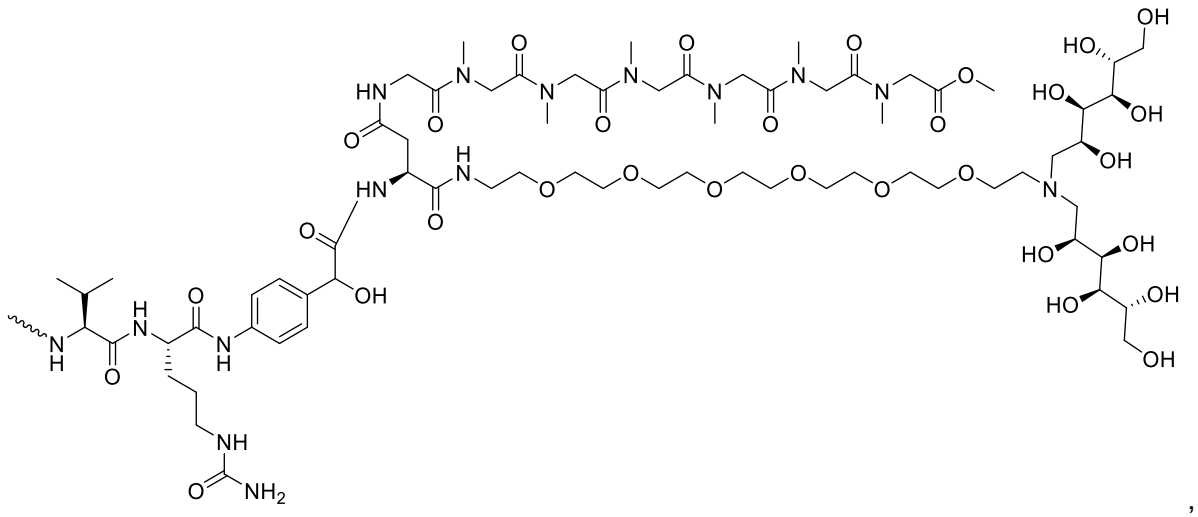
,



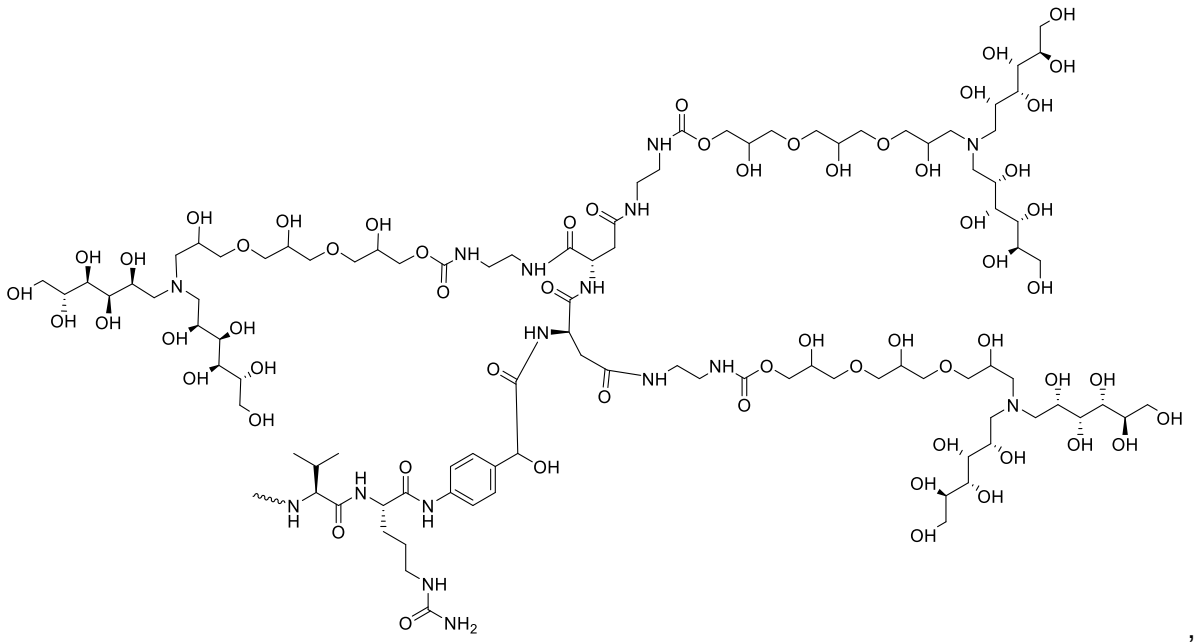
,



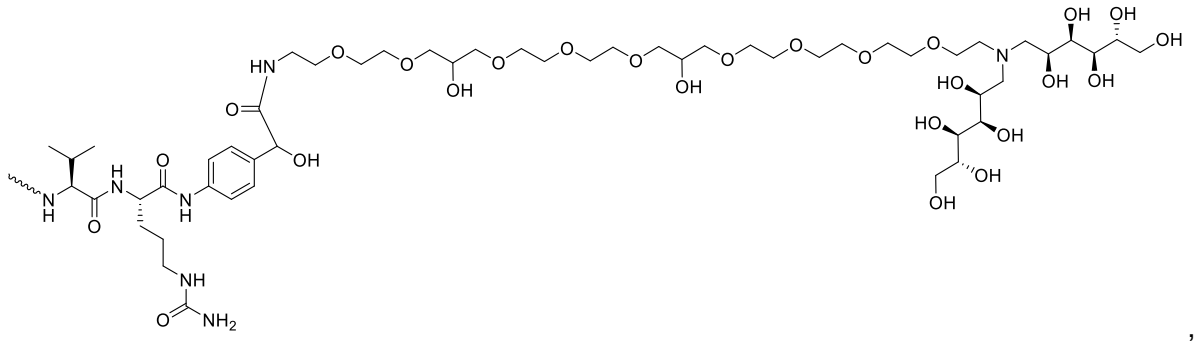
,



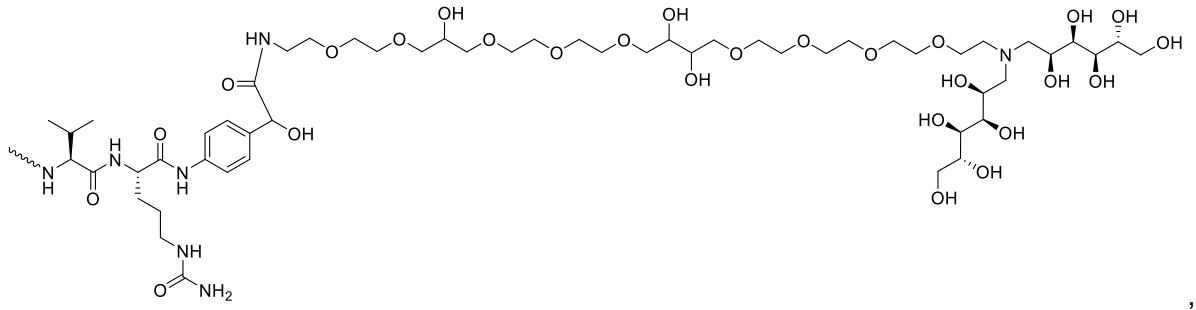
,



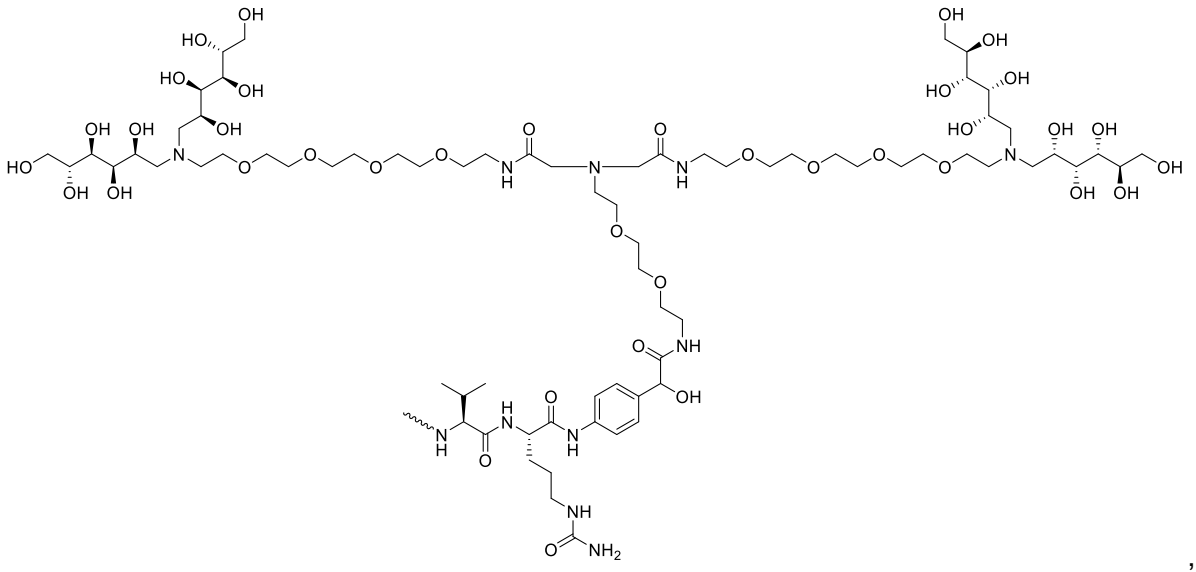
,



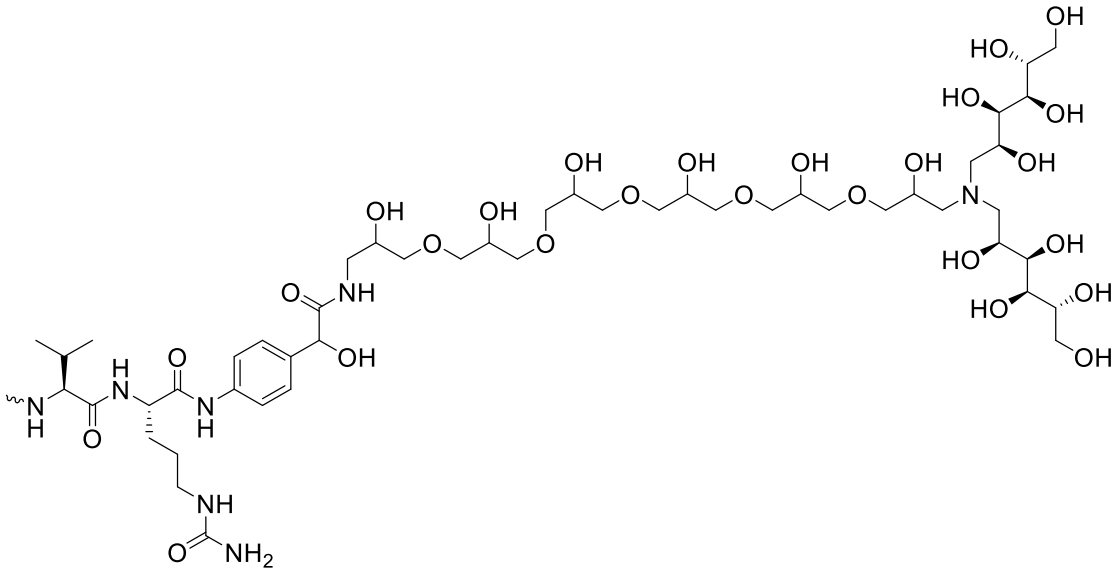
,



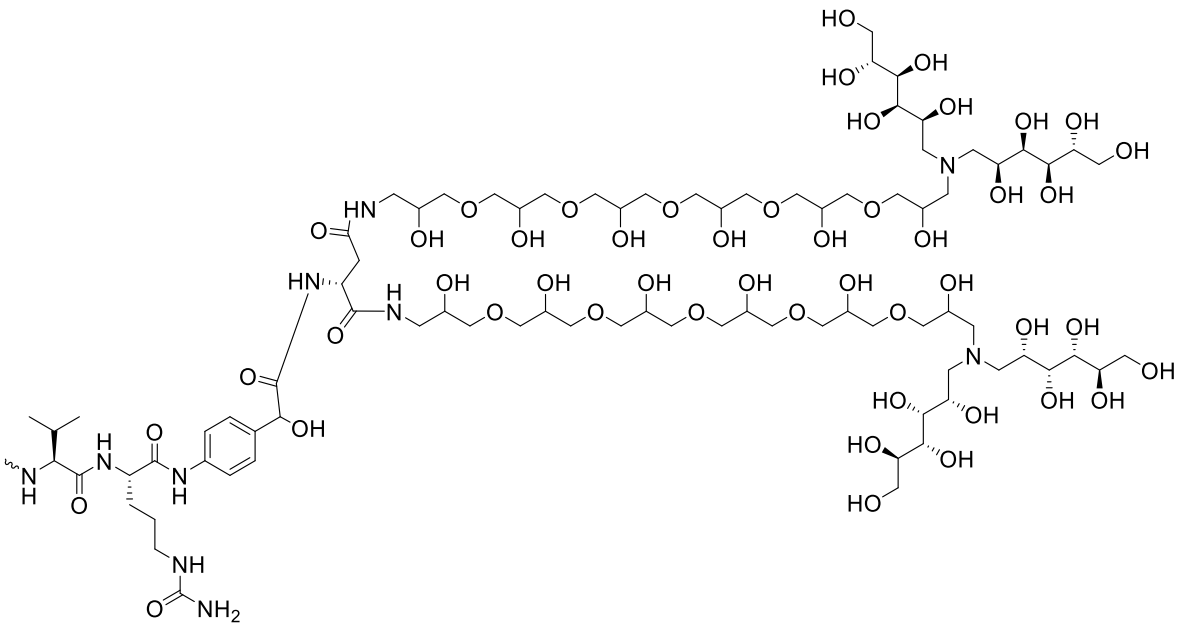
,



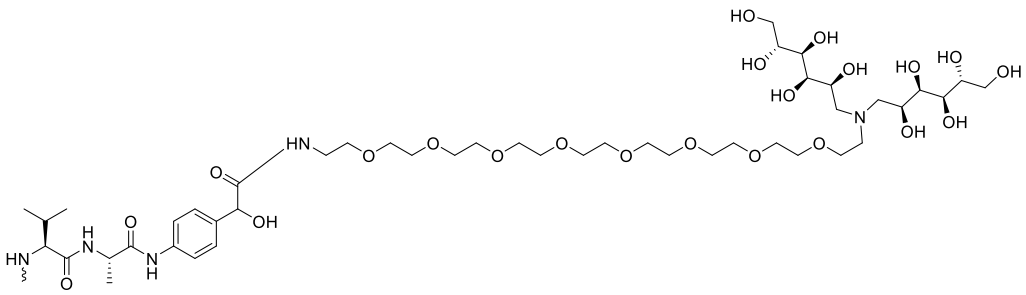
,



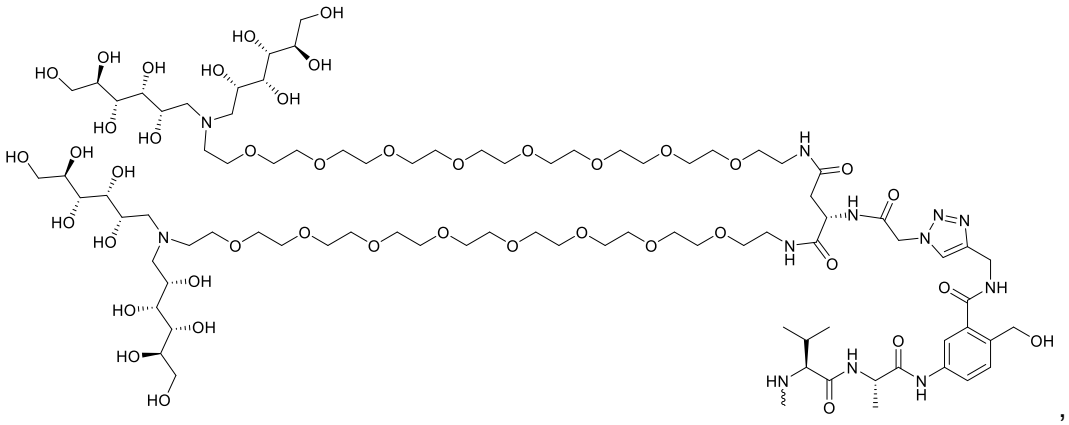
,



,



,



donde la línea ondulada en el grupo amino indica un sitio de unión al grupo extensor; o, antes de unirse al grupo extensor, indica H, y el H en el OH bencílico opcionalmente se reemplaza por un enlace a por lo menos una de las unidades de fármaco.

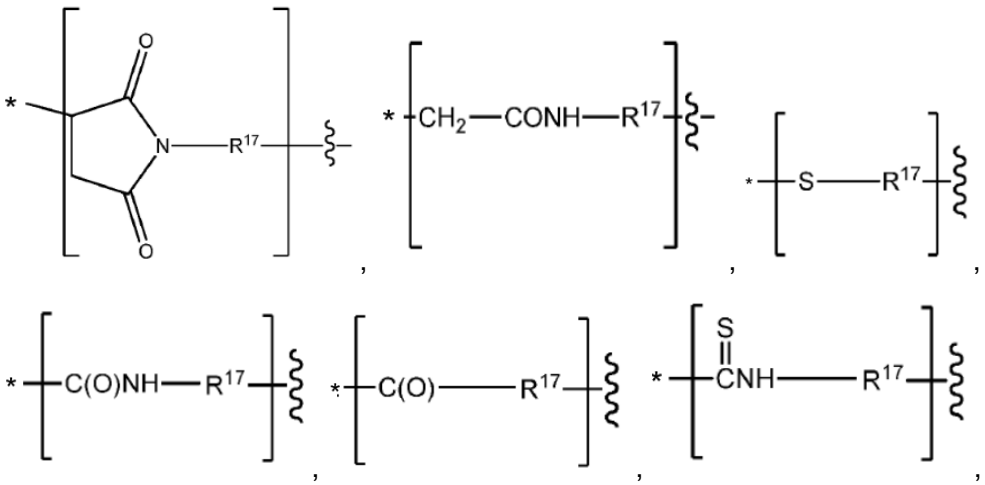
[0430] Forma de realización 78. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 72 a 75, donde la unidad conectora se une a una cadena lateral de una subunidad del grupo enzimáticamente escindible.

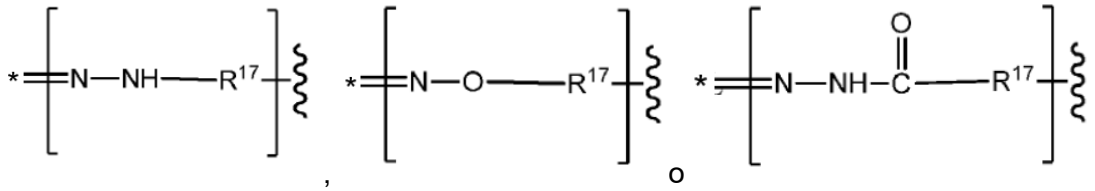
[0431] Forma de realización 79. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1 a 75, donde el grupo enzimáticamente escindible se une a la unidad extensora por medio de un grupo conector no peptídico.

[0432] Forma de realización 80. El compuesto conector de la forma de realización 79, donde el grupo conector no peptídico se selecciona entre C_1-C_{10} alquileno opcionalmente sustituido, C_2-C_{10} alquenileno opcionalmente sustituido, C_2-C_{10} alquinileno opcionalmente sustituido, o polietilenglicol opcionalmente sustituido.

[0433] Forma de realización 81. El compuesto conector de cualquiera de las Formas de realización 1-80, que comprende el grupo extensor unido al grupo enzimáticamente escindible.

[0434] Forma de realización 82. El compuesto conector de la forma de realización 81, donde el grupo extensor se selecciona entre los siguientes:





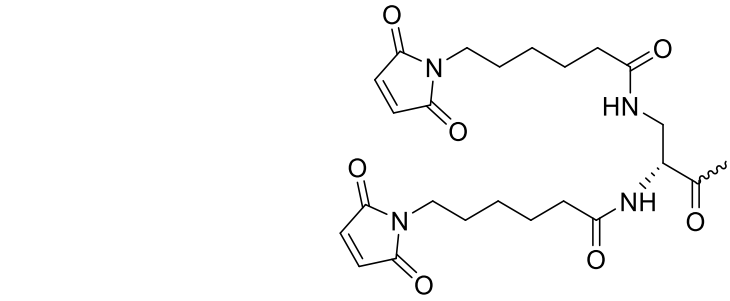
donde R^{17} es -C_1-C_{10} alquileno-, -C_1-C_{10} heteroalquileno-, -C_3-C_8 carbociclo-, -O-(C_1-C_8 alquileno)-, -(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno- (donde b es entre 1 y 26), -arileno-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-, -C_3-C_8 heterociclo-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-, -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-, -C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10}alquileno-C(O)NH-C_1-C_8alquileno-[O-CH_2-CH_2]$_n$-C(O)- (donde n es entre 1 y 26), C_1-C_{10} heteroalquileno-C(=O)-, -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C(=O)- (donde b es entre 1 y 26), -(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-C(=O)- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-C(=O)- (donde b es entre 1 y 26), -C_3-C_8 carbociclo-C(=O)-, -O-(C_1-C_8 alquil)-C(=O)-, -arileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-C(=O)-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-C(=O)-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_3-C_8 heterociclo-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-C(=O)-, -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-C(=O)-, -C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_1-C_{10} heteroalquileno-NH-, -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-NH- (donde b es entre 1 y 26), -(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-NH- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-NH- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(C(=O))-NH-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C(=O)- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-(C(=O))-NH-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-C(=O)- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-NH-(C(=O))-(CH_2-O-CH_2)$_b$-NH- (donde b es entre 1 y 26), -C_1-C_8 alquileno-NH-(C(=O))-(CH_2-O-CH_2)$_b$-C_1-C_8 alquileno-NH- (donde b es entre 1 y 26), -C_3-C_8 carbociclo-NH-, -O-(C_1-C_8 alquil)-NH-, -arileno-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-NH-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-NH-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_3-C_8 heterociclo-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-NH-, -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-NH-, -C_1-C_{10} alquileno-S-, C_1-C_{10} heteroalquileno-S-, -C_3-C_8 carbociclo-S-, -O-(C_1-C_8 alquil)-S-, -arileno-S-, -C_1-C_{10} alquileno-arileno-S-, -arileno-C_1-C_{10} alquileno-S-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 carbociclo)-S-, -(C_3-C_8 carbociclo)-C_1-C_{10} alquileno-S-, -C_3-C_8 heterociclo-S-, -C_1-C_{10} alquileno-(C_3-C_8 heterociclo)-S-, o -(C_3-C_8 heterociclo)-C_1-C_{10} alquileno-S-; o

donde el grupo extensor comprende maleimido(C_1-C_{10}alquileno-C(O)-, maleimido(CH_2OCH_2)$_{p2}$(C_1-C_{10}alquileno)C(O)-, maleimido(C_1-C_{10}alquileno)(CH_2OCH_2)$_{p2}$C(O)-, o una forma de anillo abierto de los mismos, donde p2 es entre 1

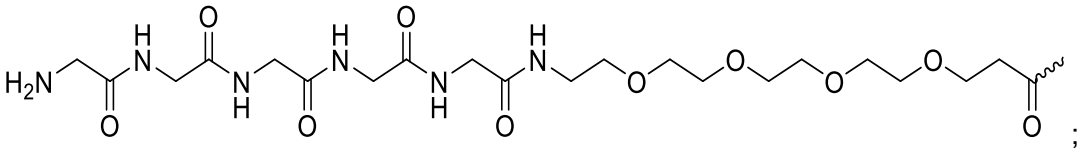
y 26;

y donde * es un sitio de unión al grupo de direccionamiento, y la línea ondulada es un sitio de unión al grupo enzimáticamente escindible.

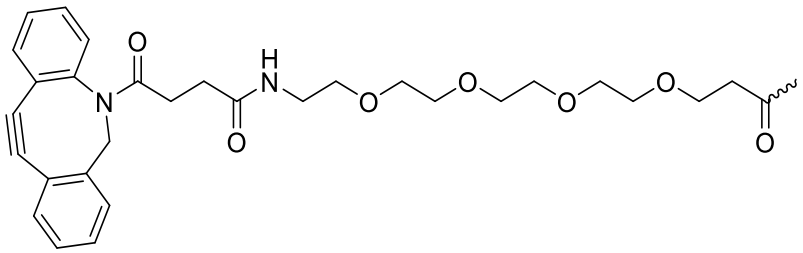
[0435] Forma de realización 83. El compuesto conector de la forma de realización 81, donde el grupo extensor se selecciona entre los siguientes:



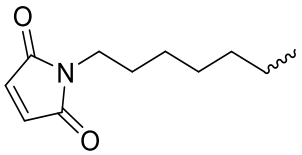
;



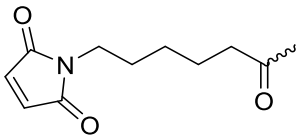
;



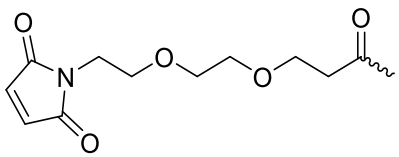
;



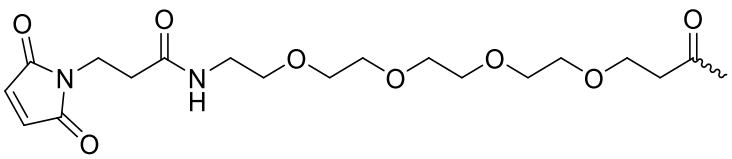
;



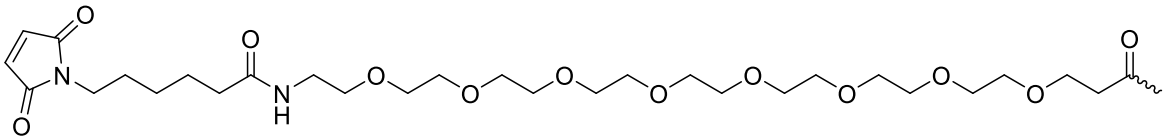
;



;



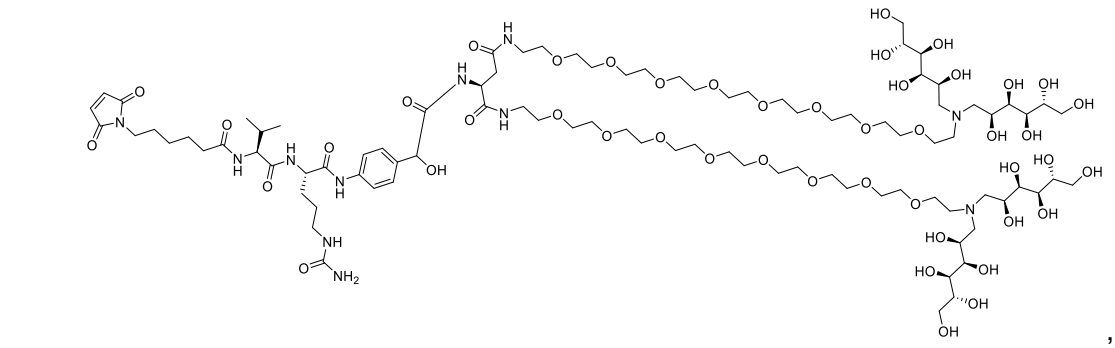
; y



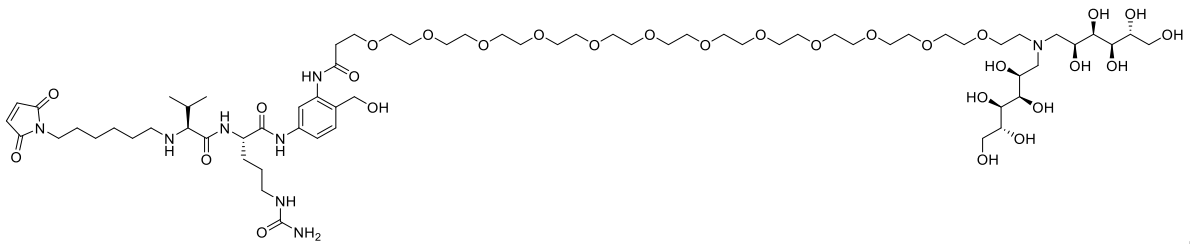
donde la línea ondulada 〰 indica un sitio de unión del grupo extensor al grupo

enzimáticamente escindible, y el sitio de unión al grupo de direccionamiento se encuentra en el grupo funcional maleimida, amina primaria o alquino.

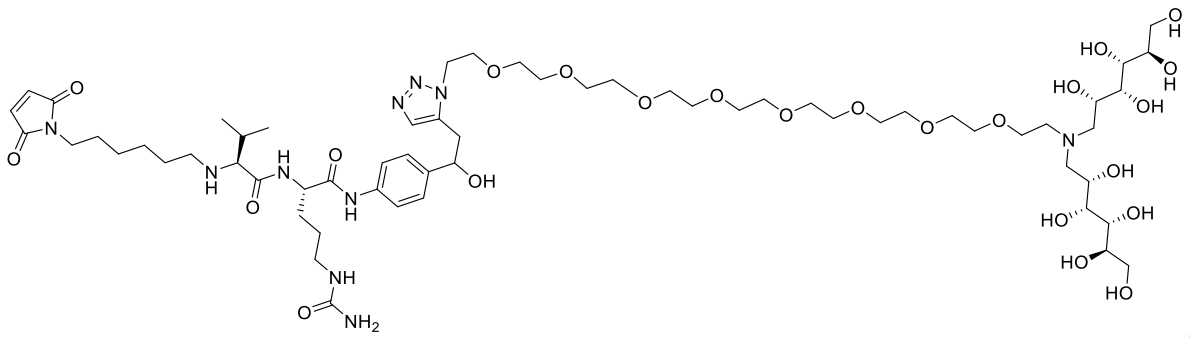
[0436] Forma de realización 84. El compuesto conector de la forma de realización 1, que tiene una de las siguientes estructuras:



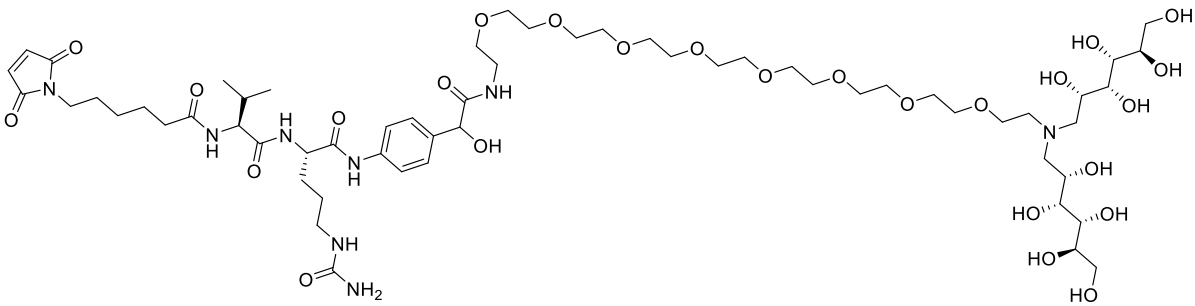
,



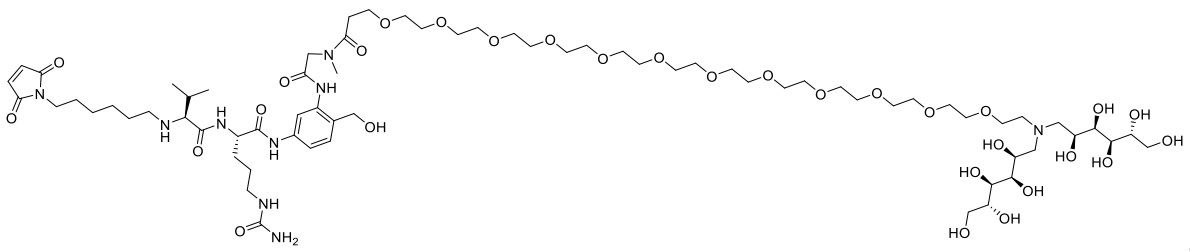
,



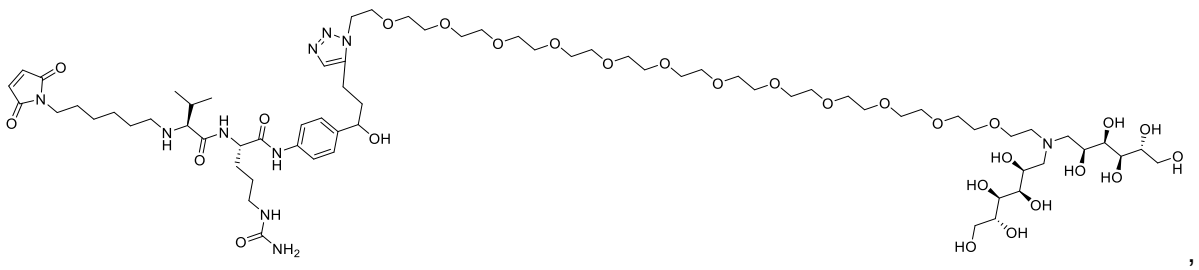
,



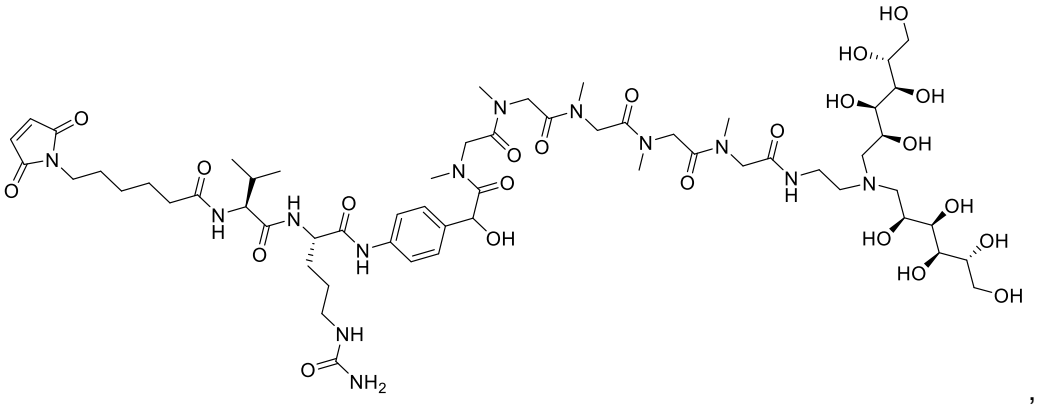
,



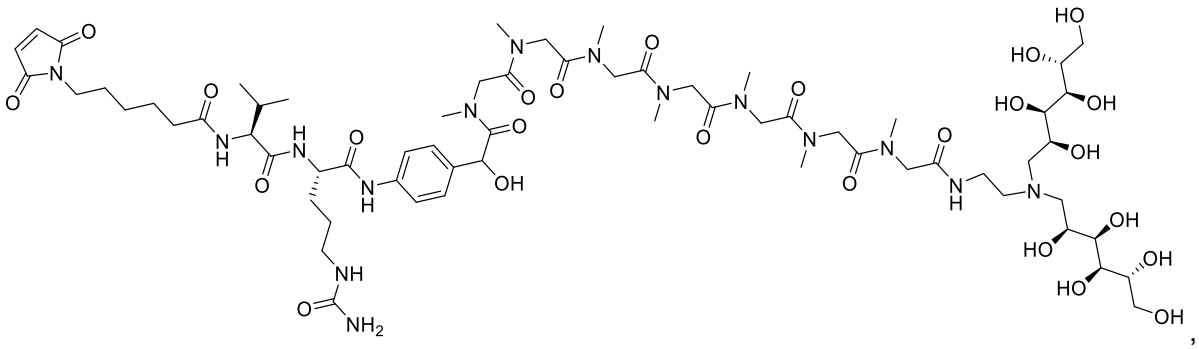
,



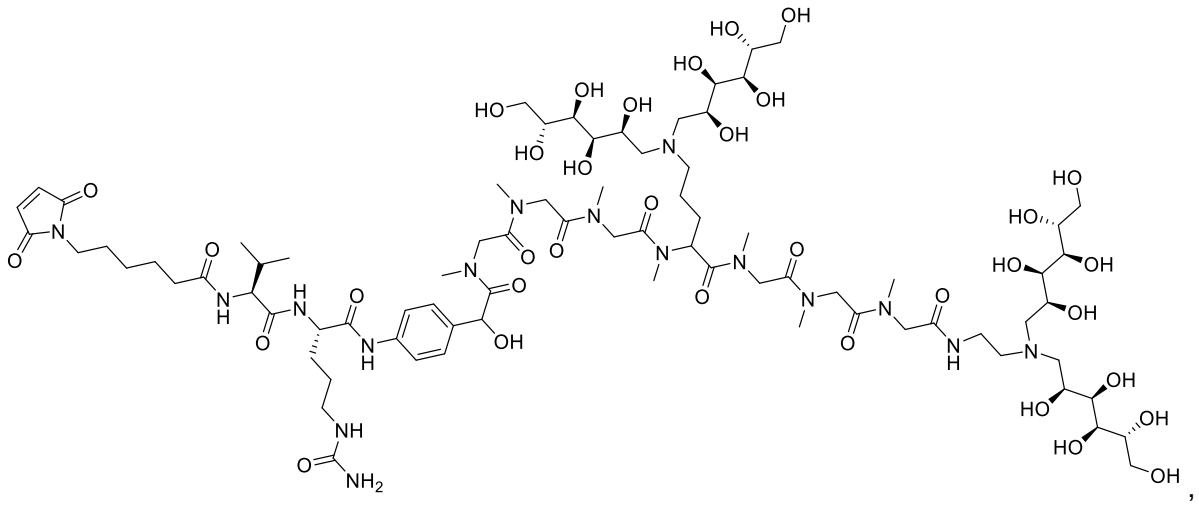
,



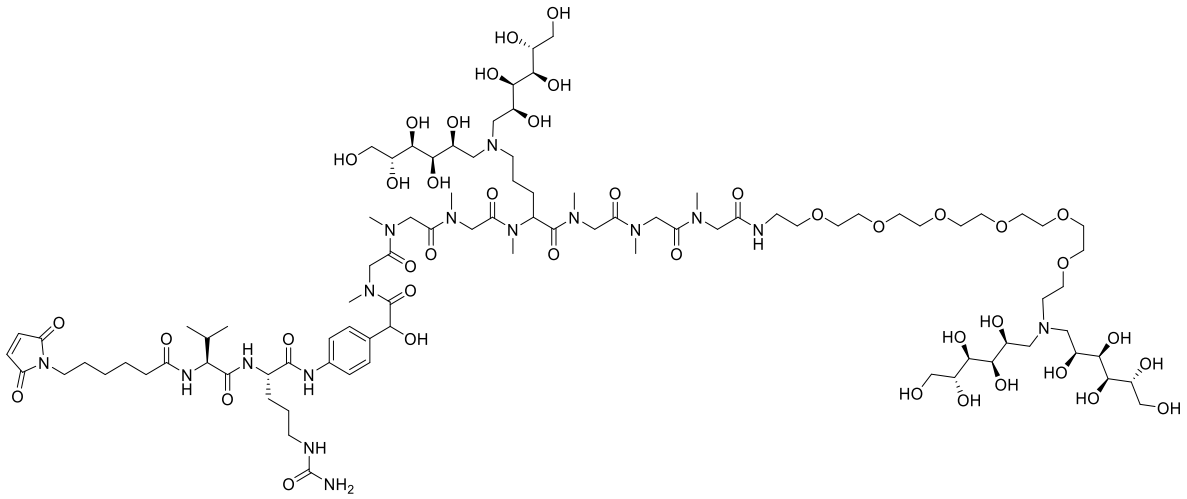
,



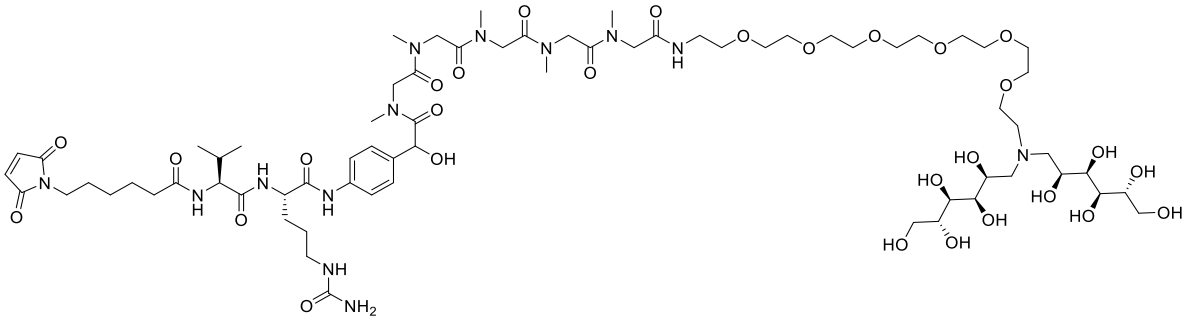
,



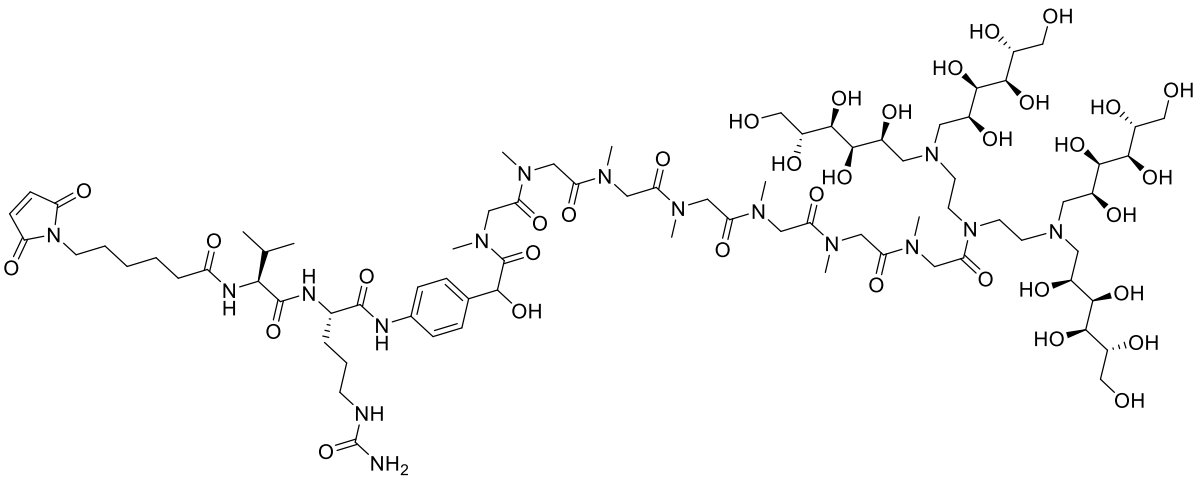
,

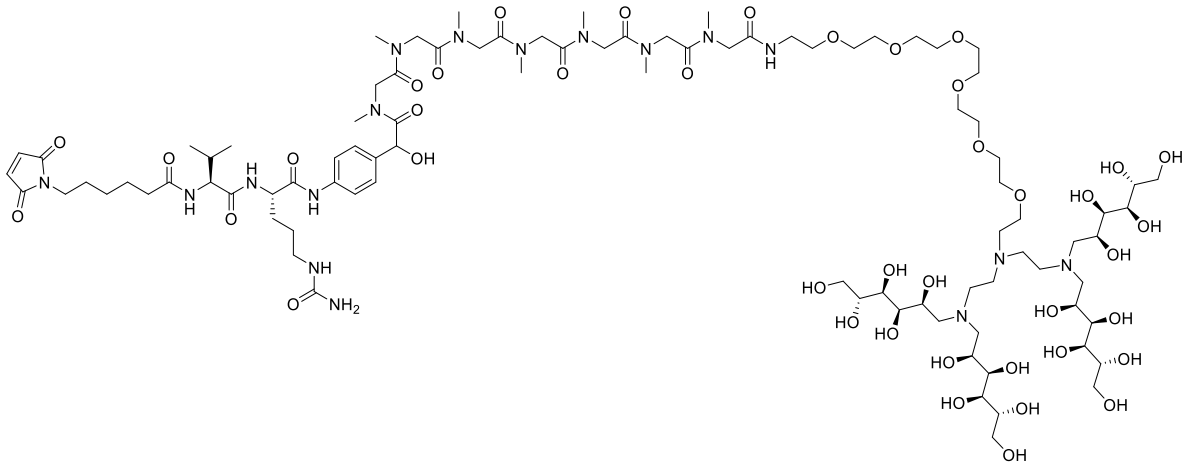


,

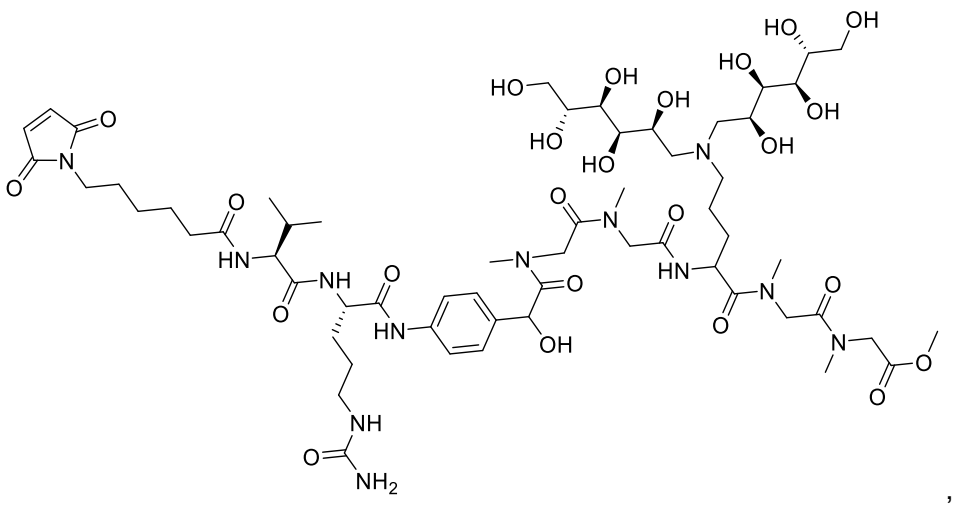


,

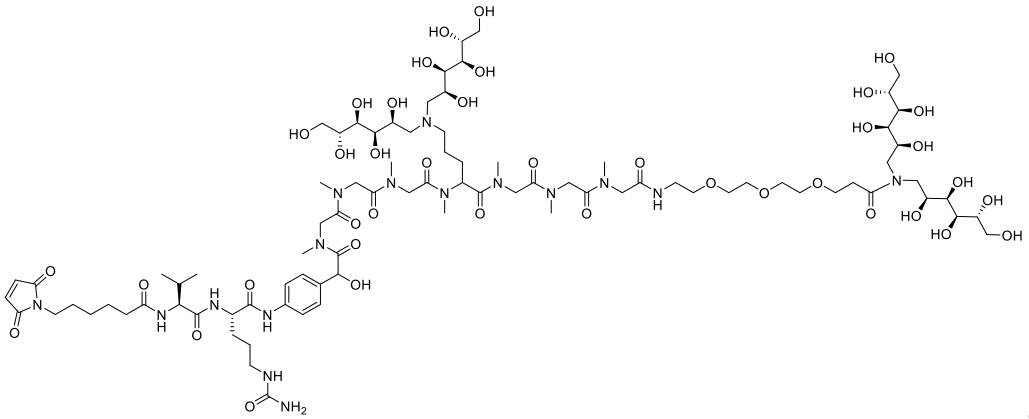




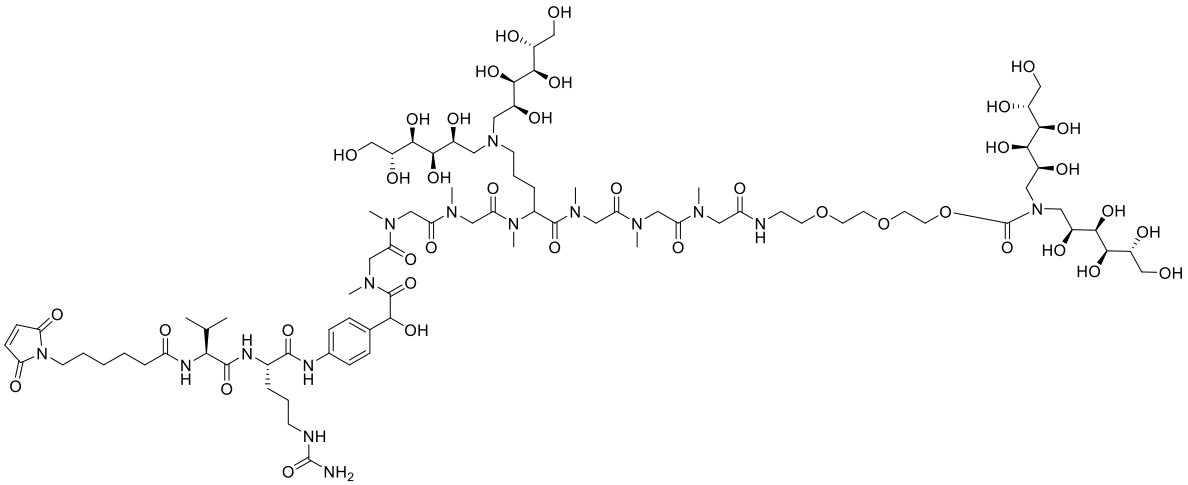
,



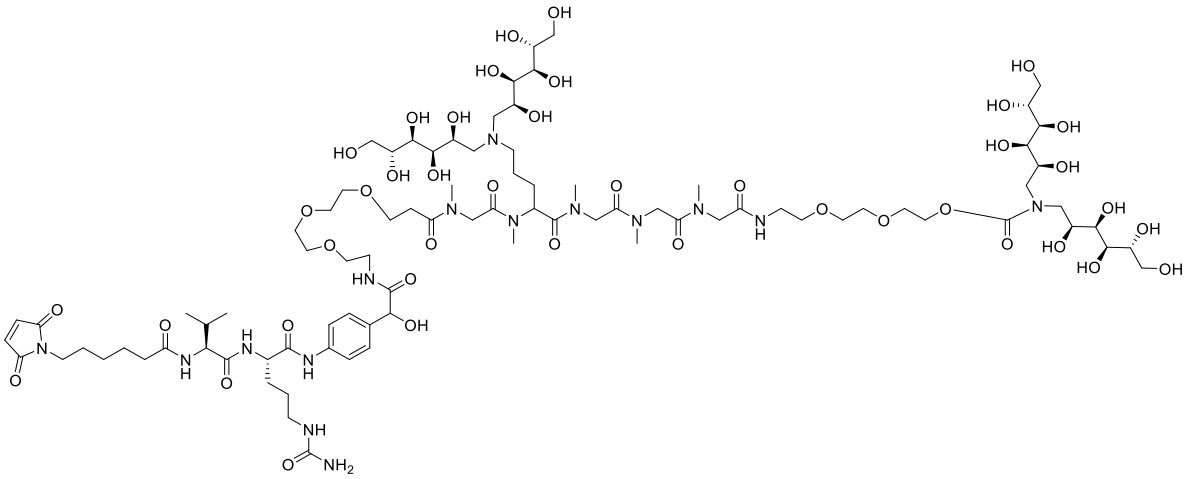
,



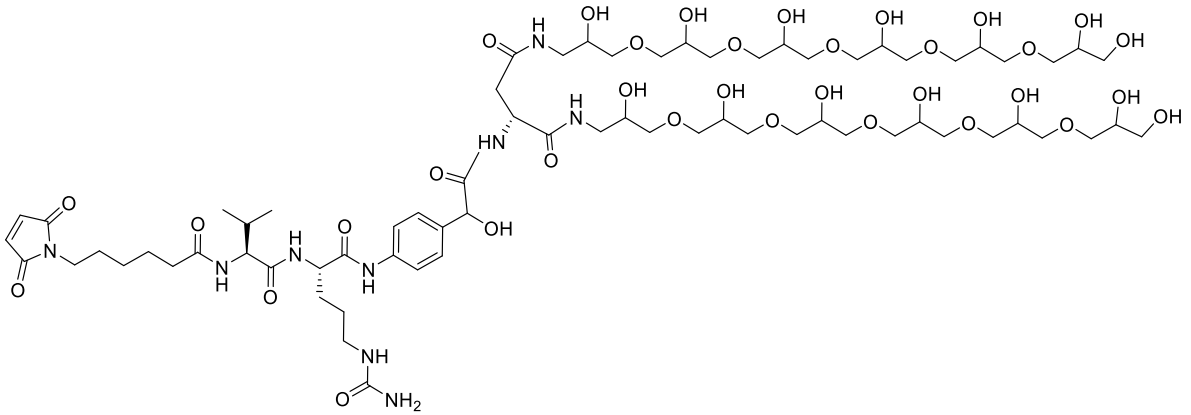
,



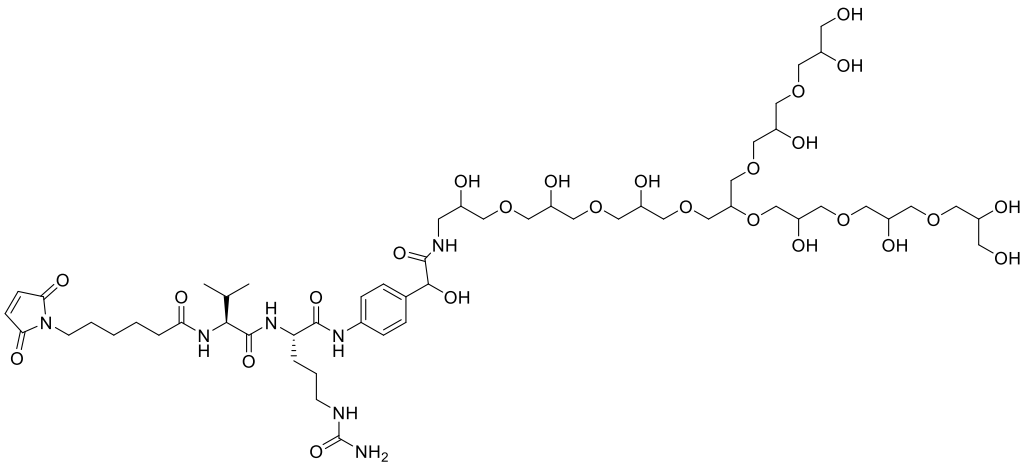
,



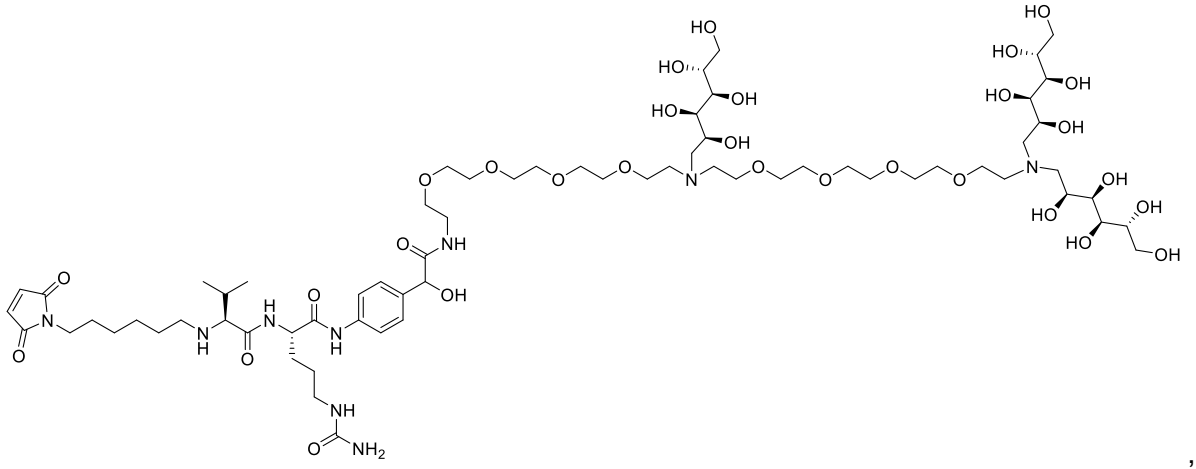
,



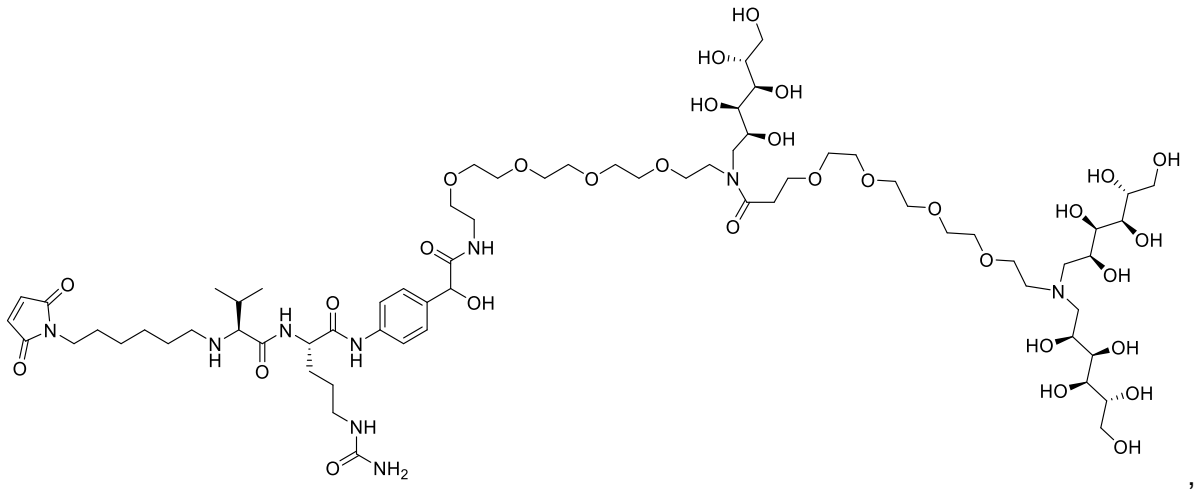
,



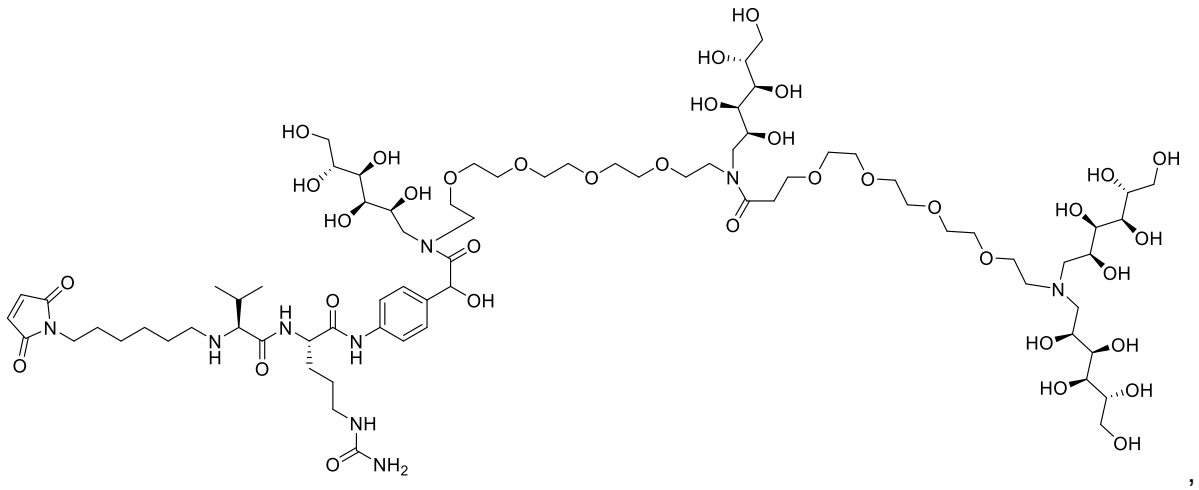
,



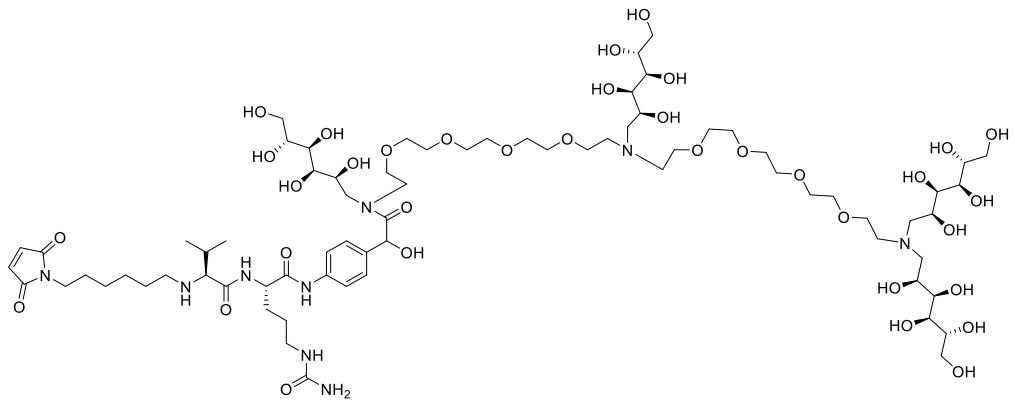
,



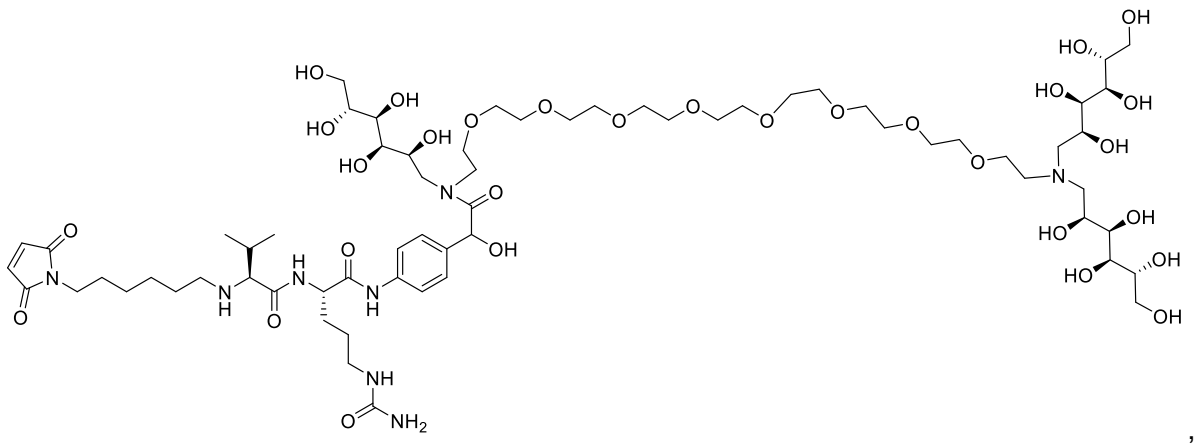
,



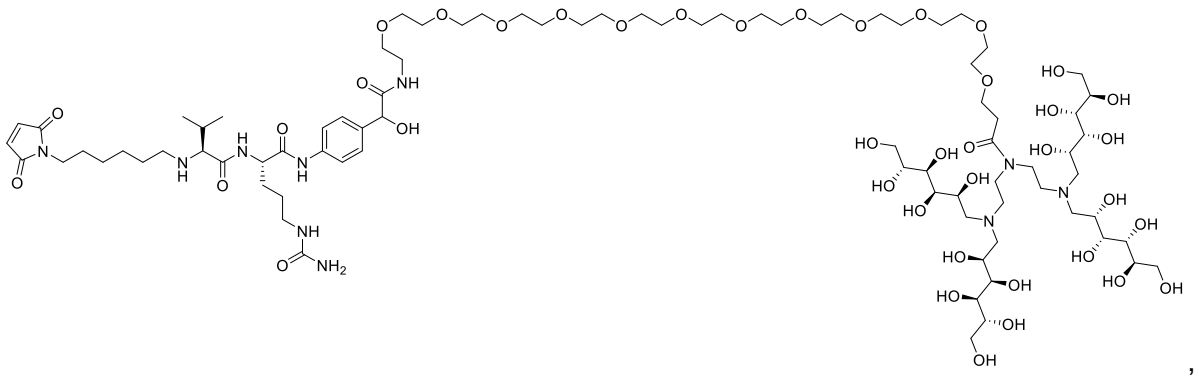
,



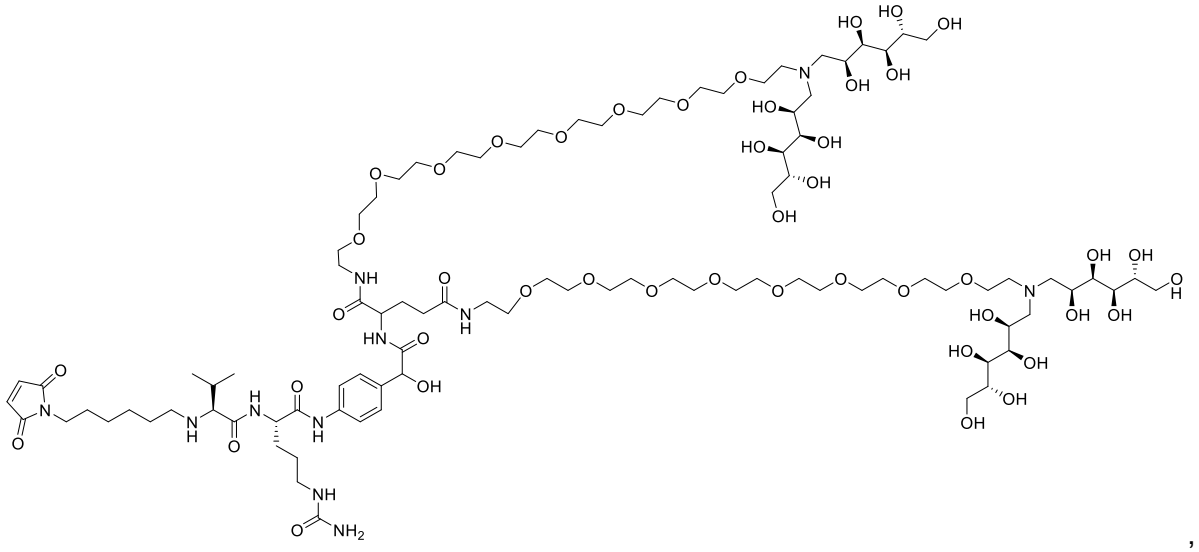
,



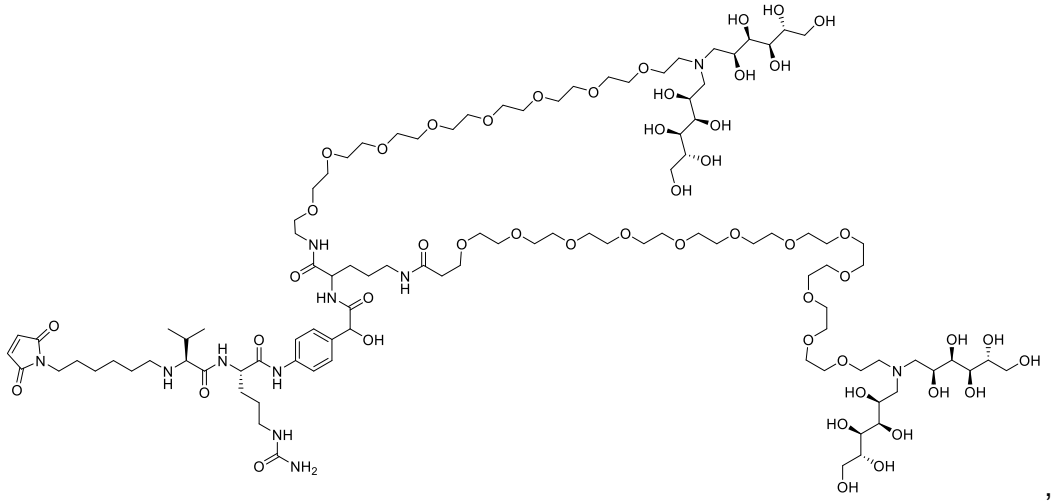
,



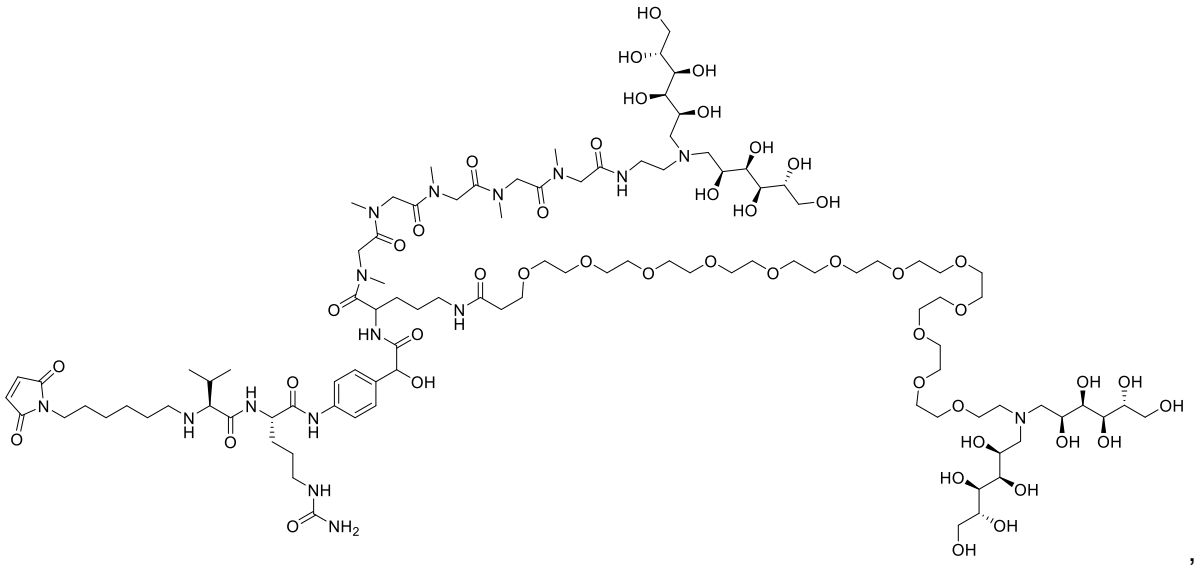
,



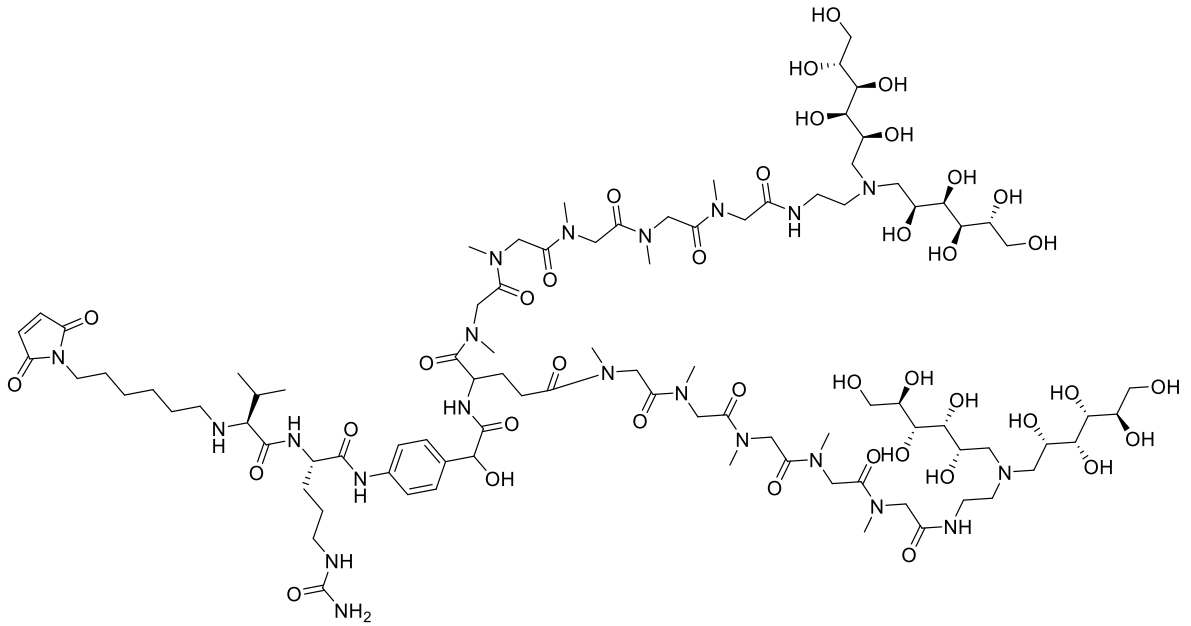
,



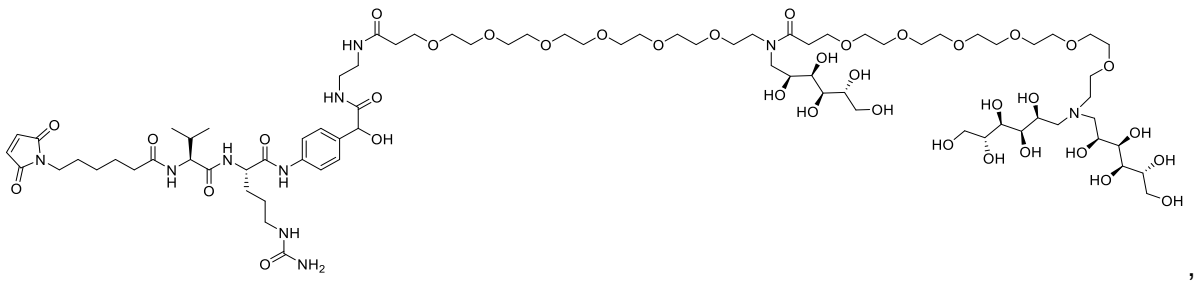
,



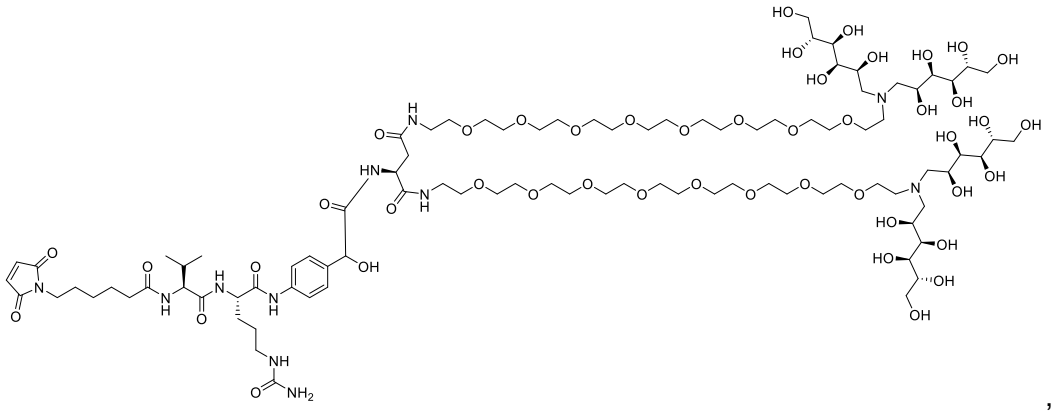
,



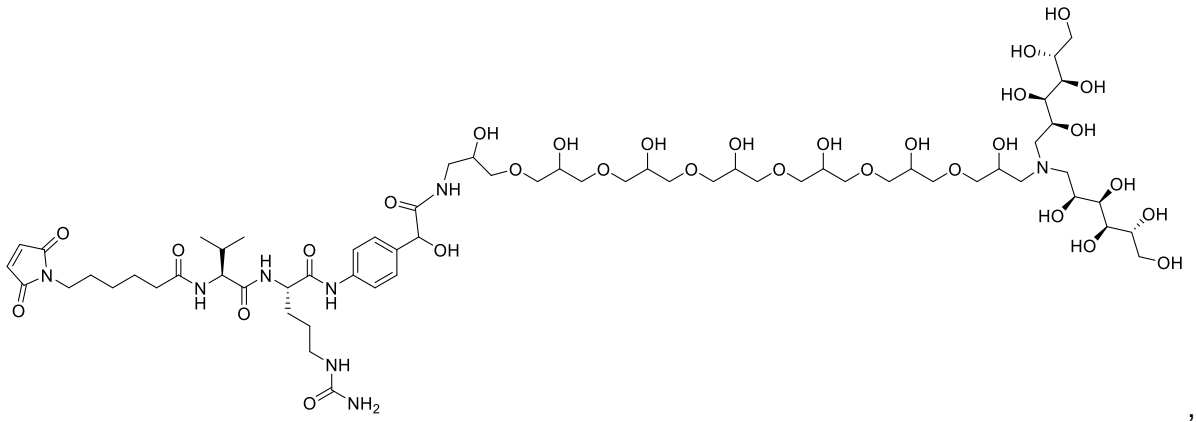
,



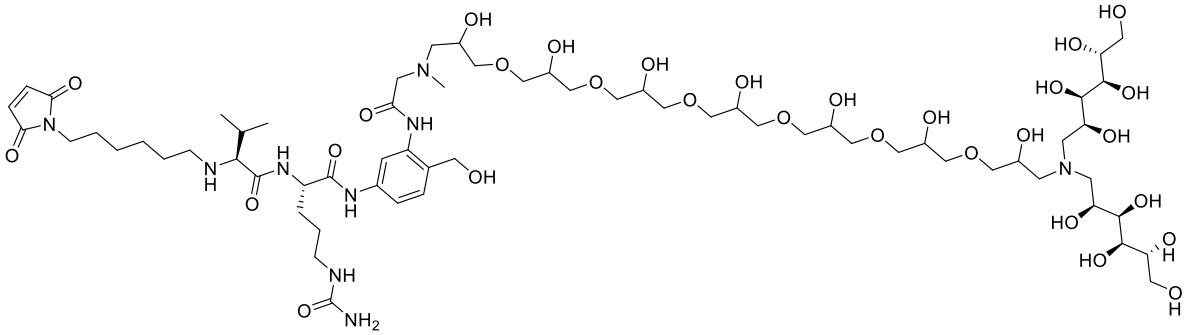
,



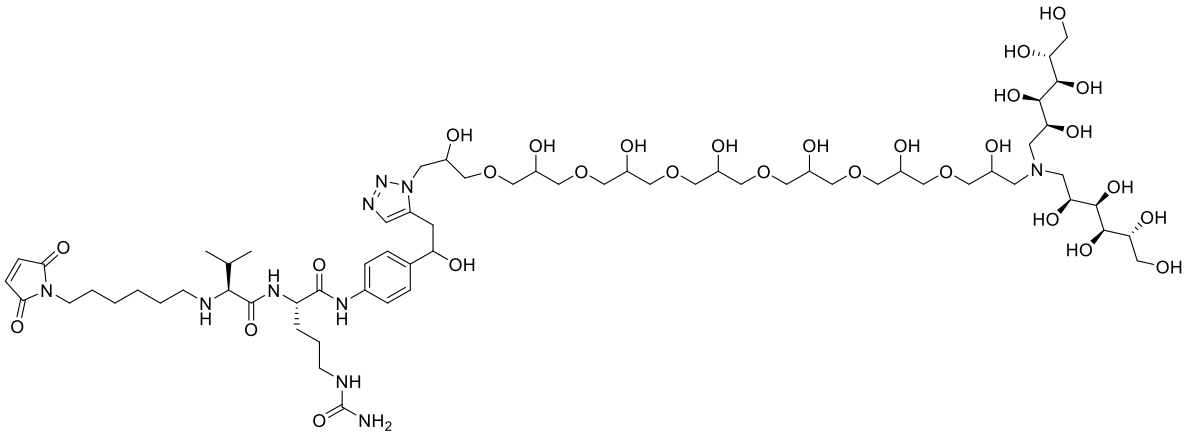
,



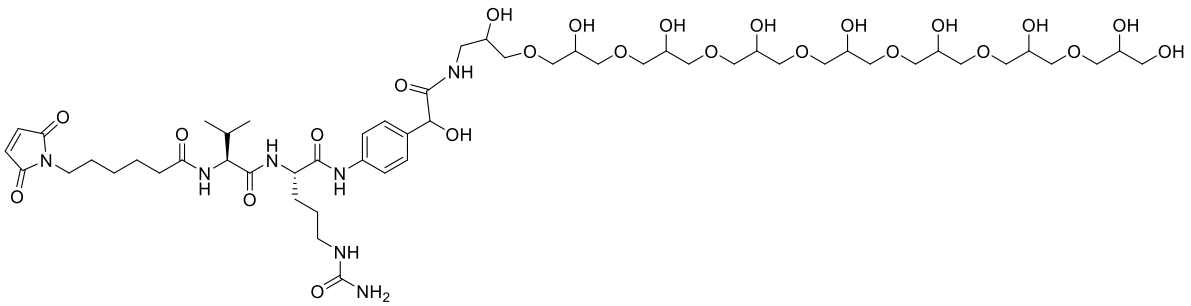
,



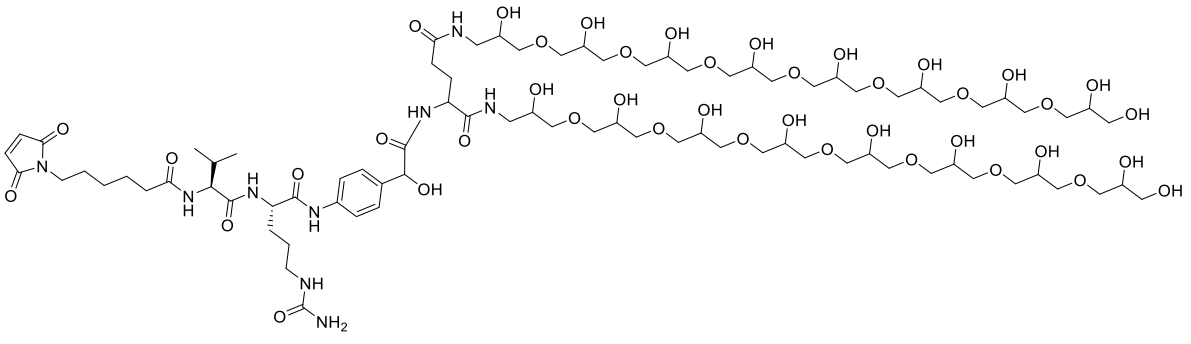
,



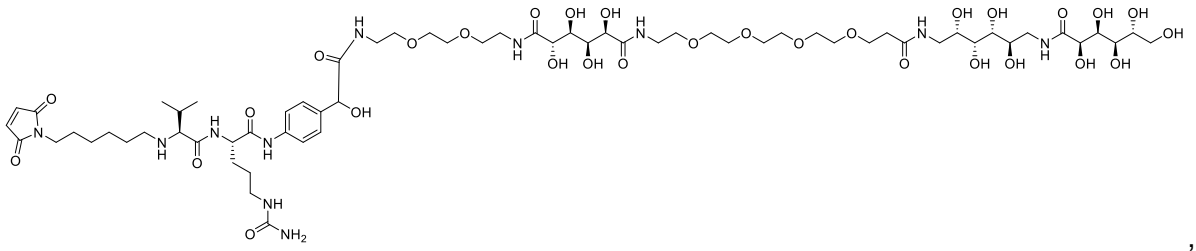
,



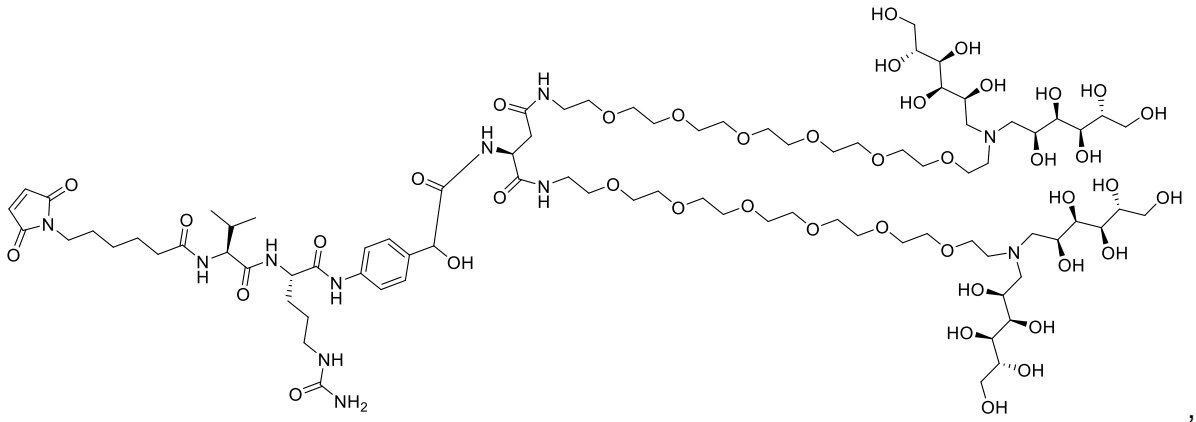
,



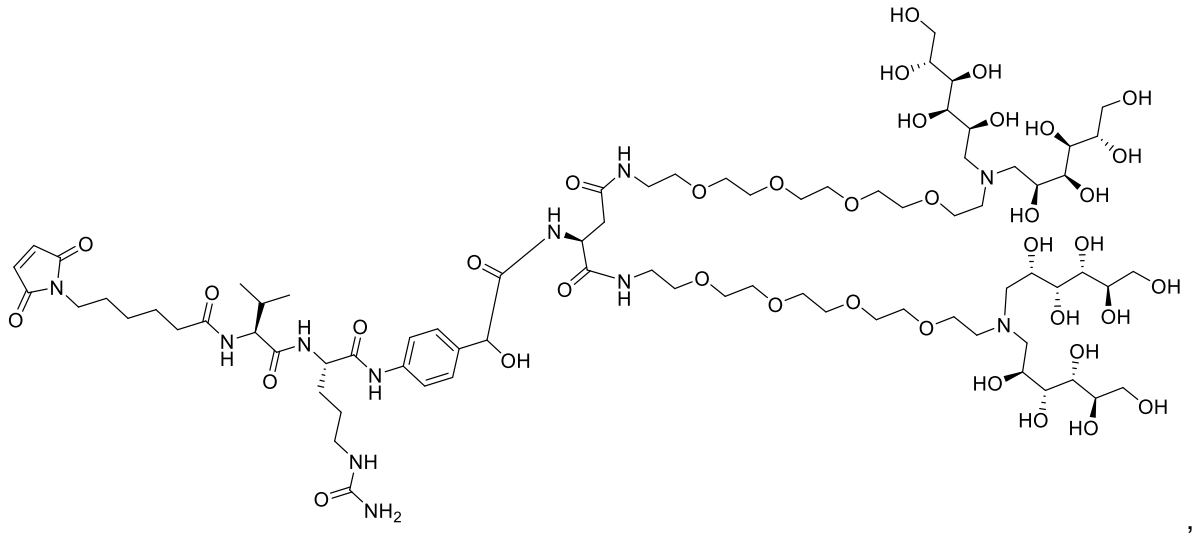
,



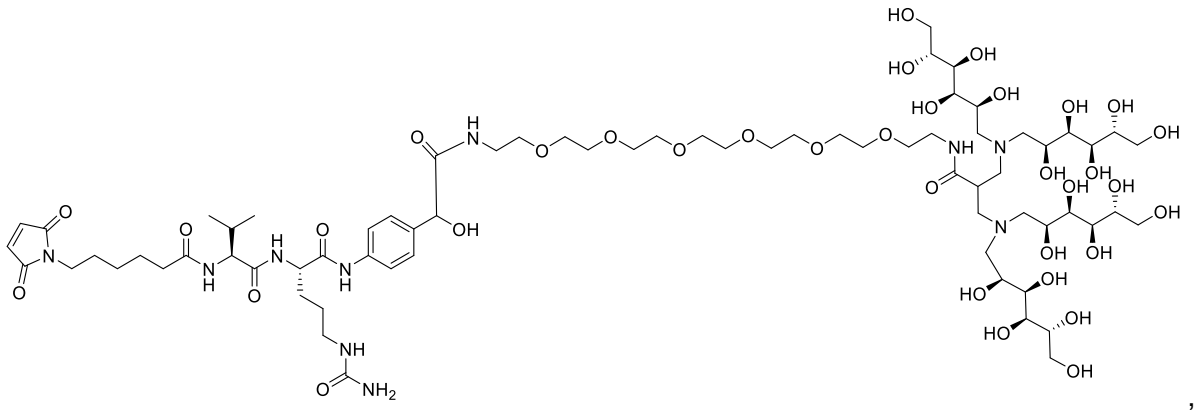
,



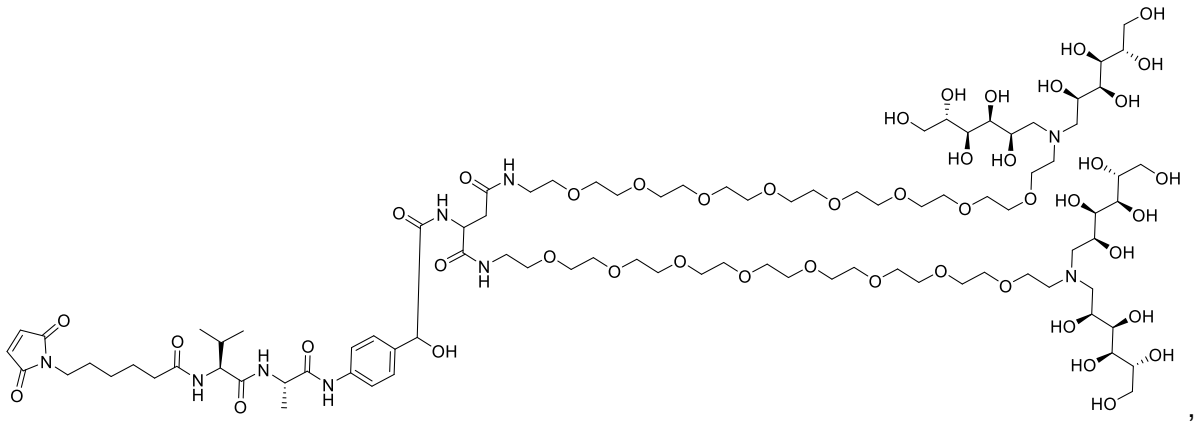
,



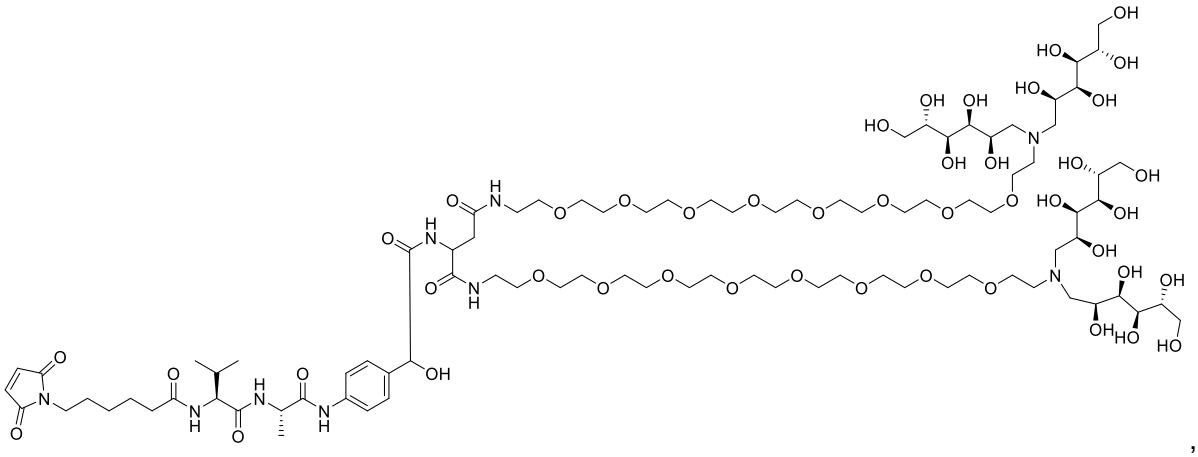
,



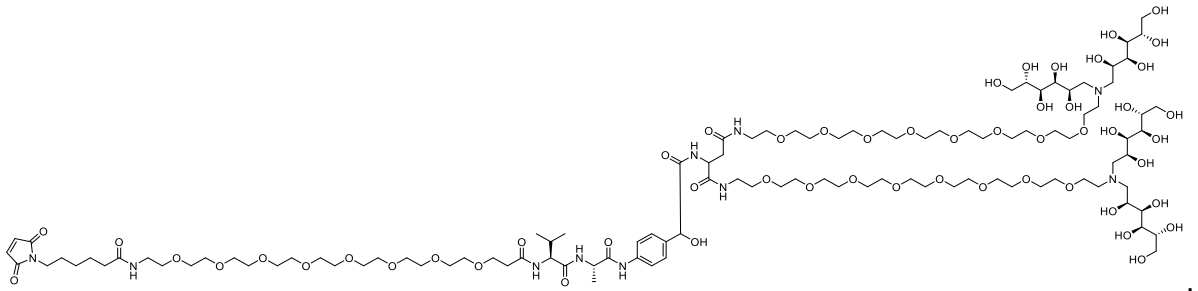
,



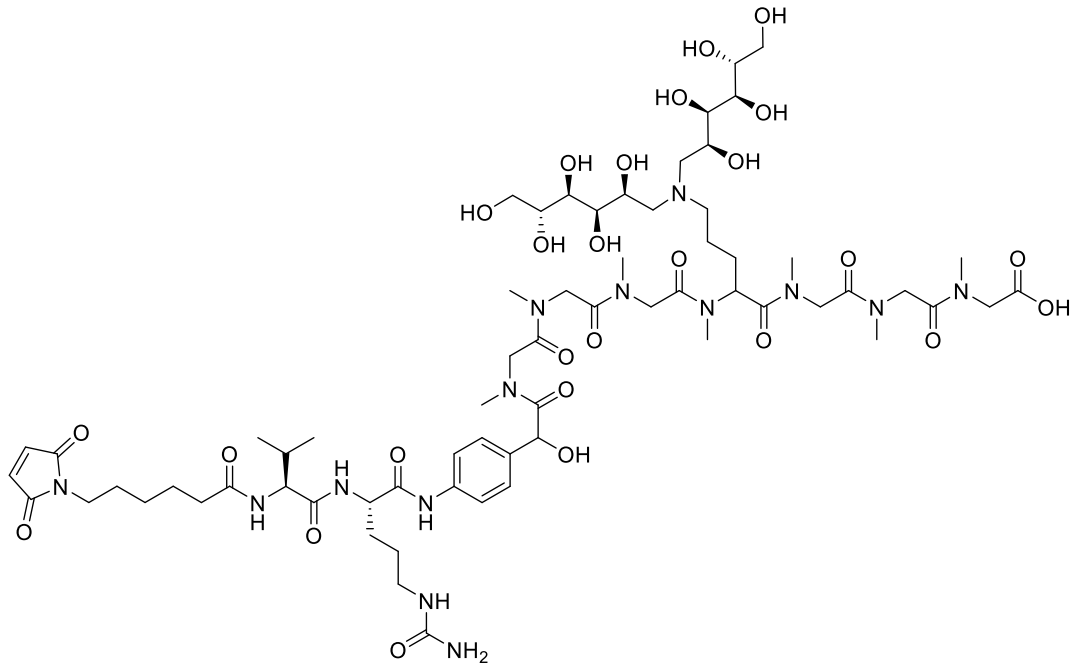
,



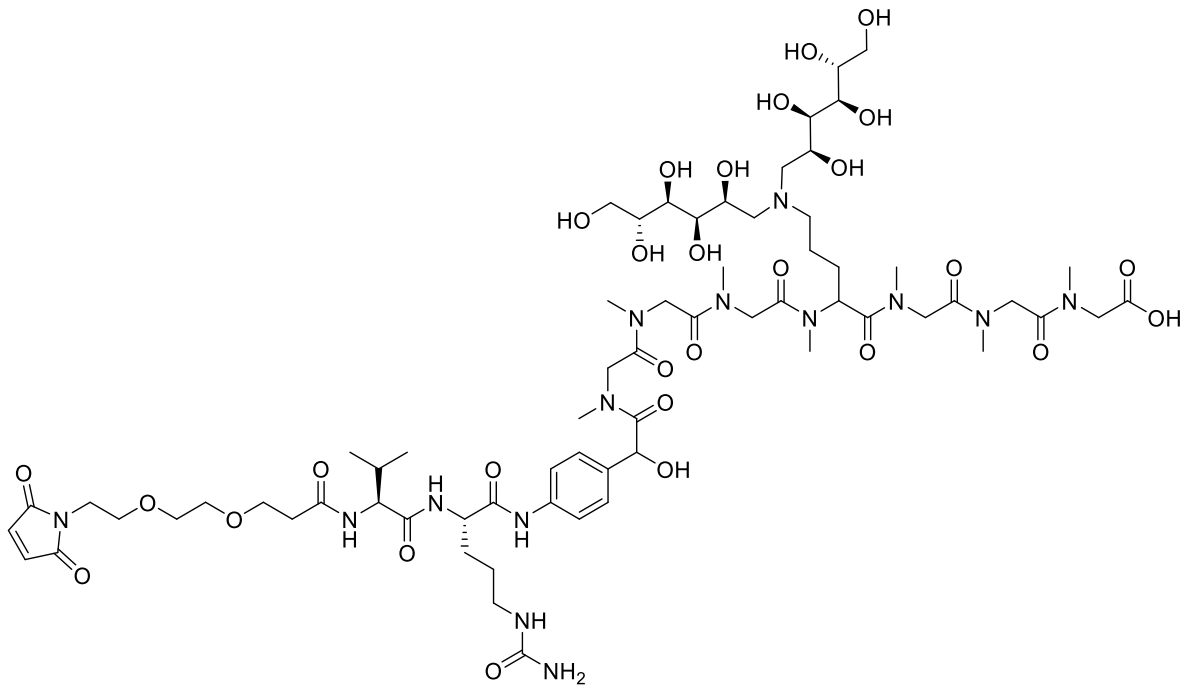
,



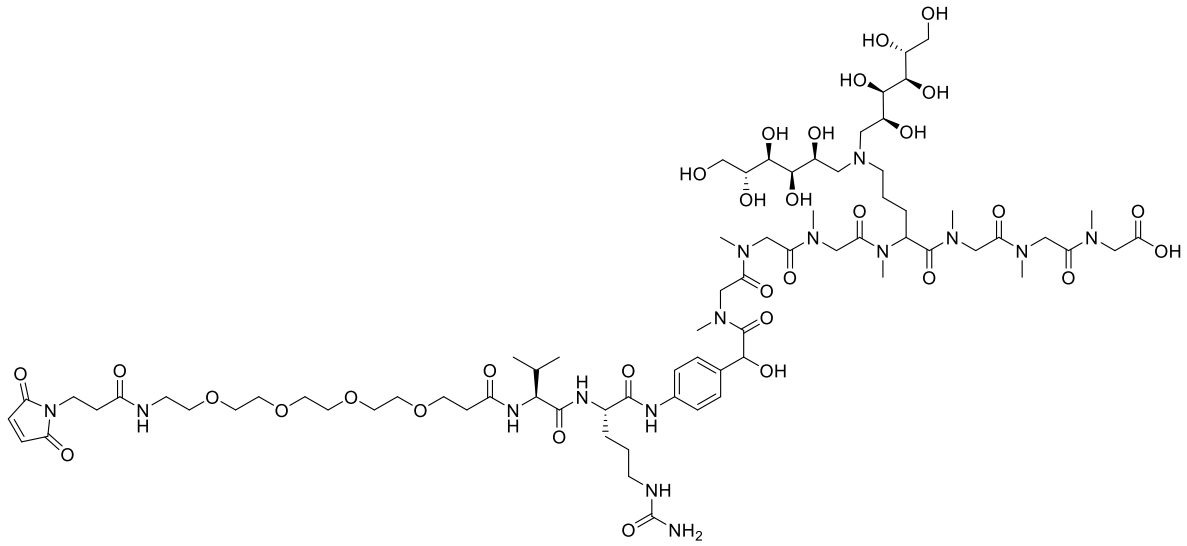
,



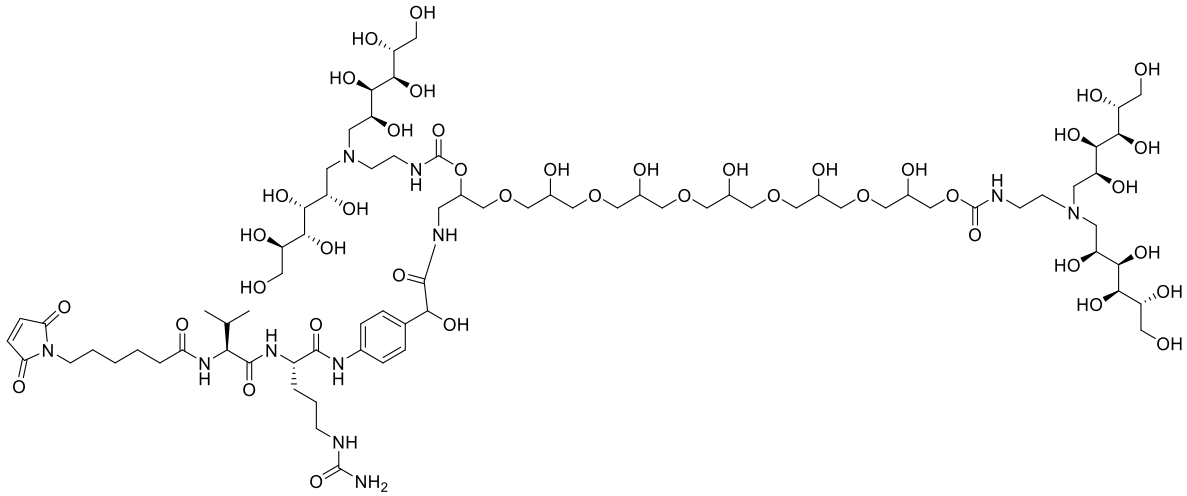
,



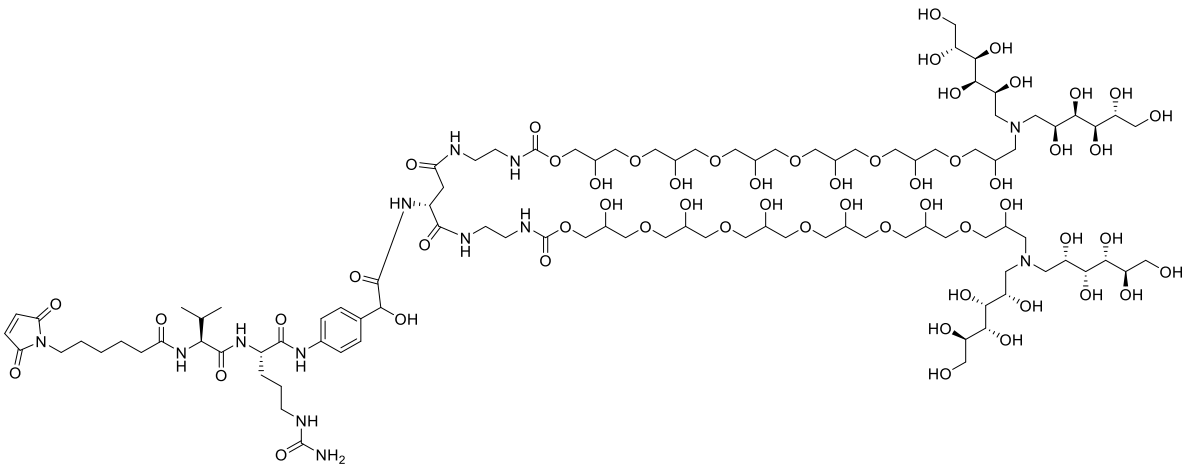
,



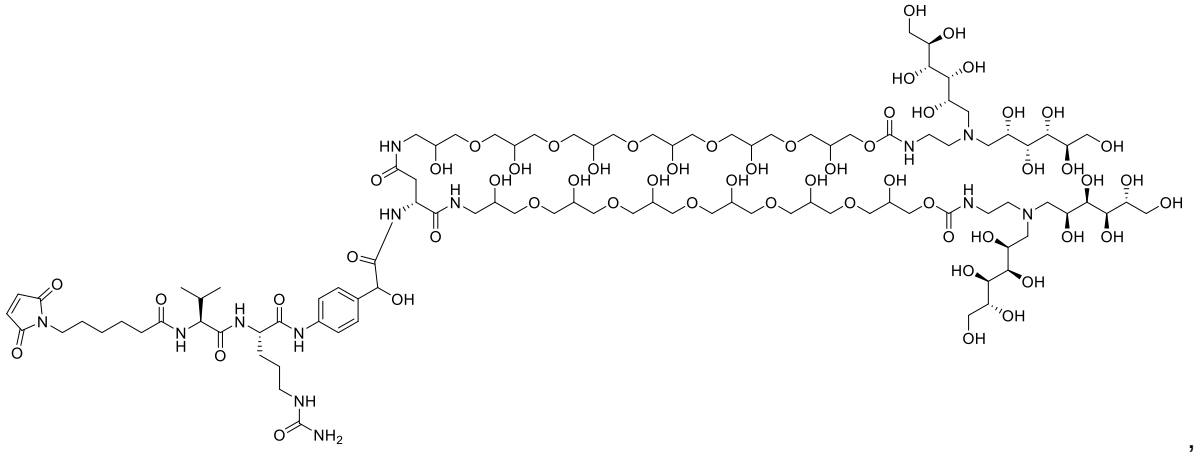
,



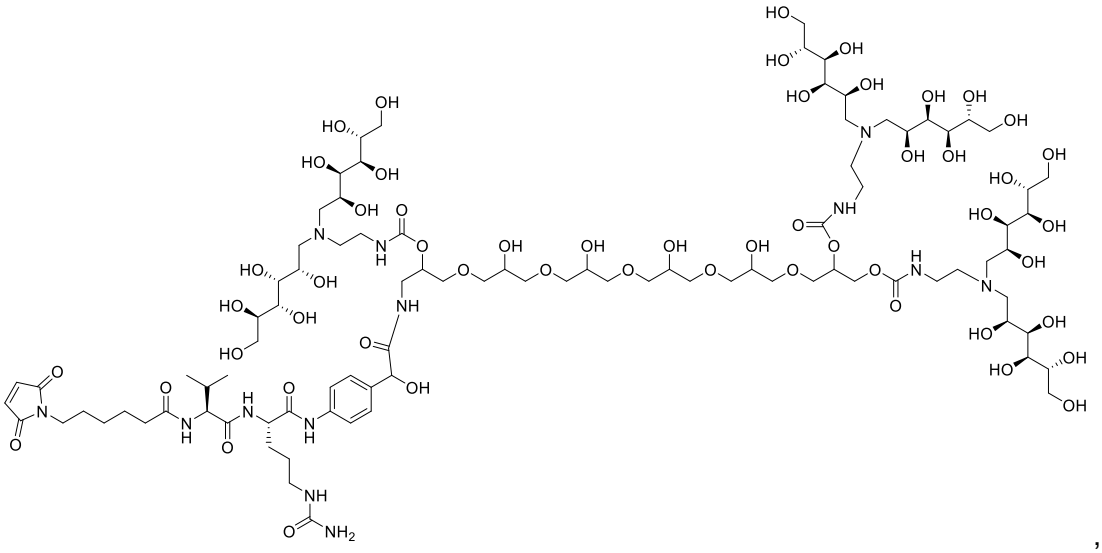
,



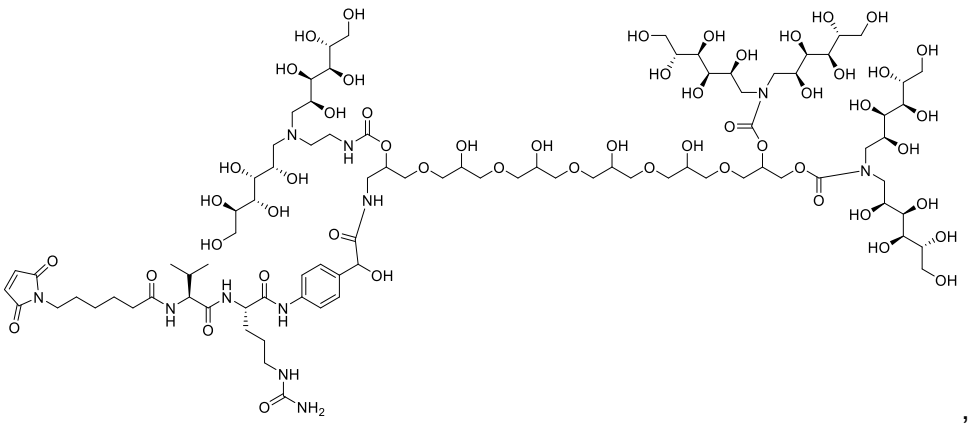
,



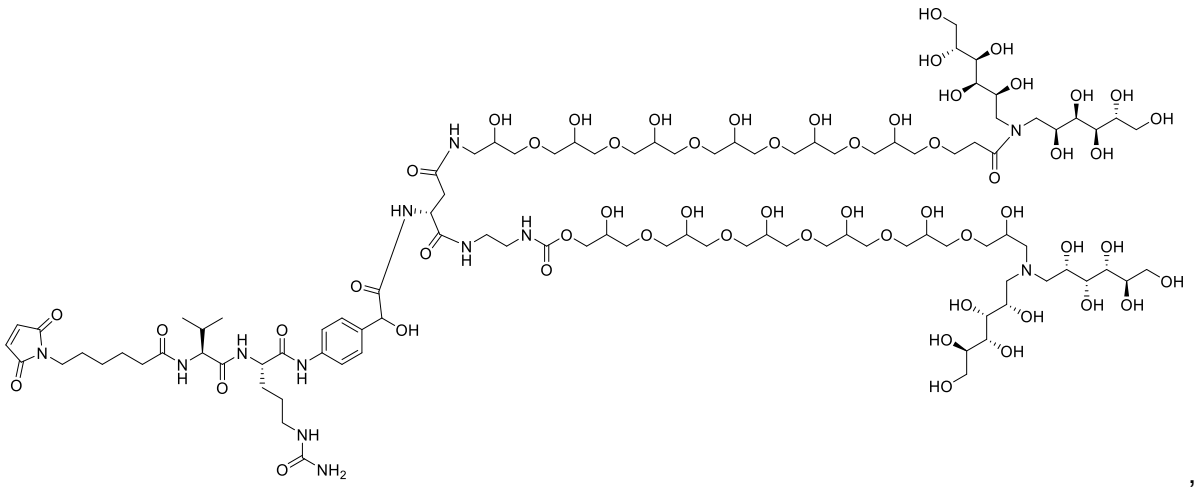
,



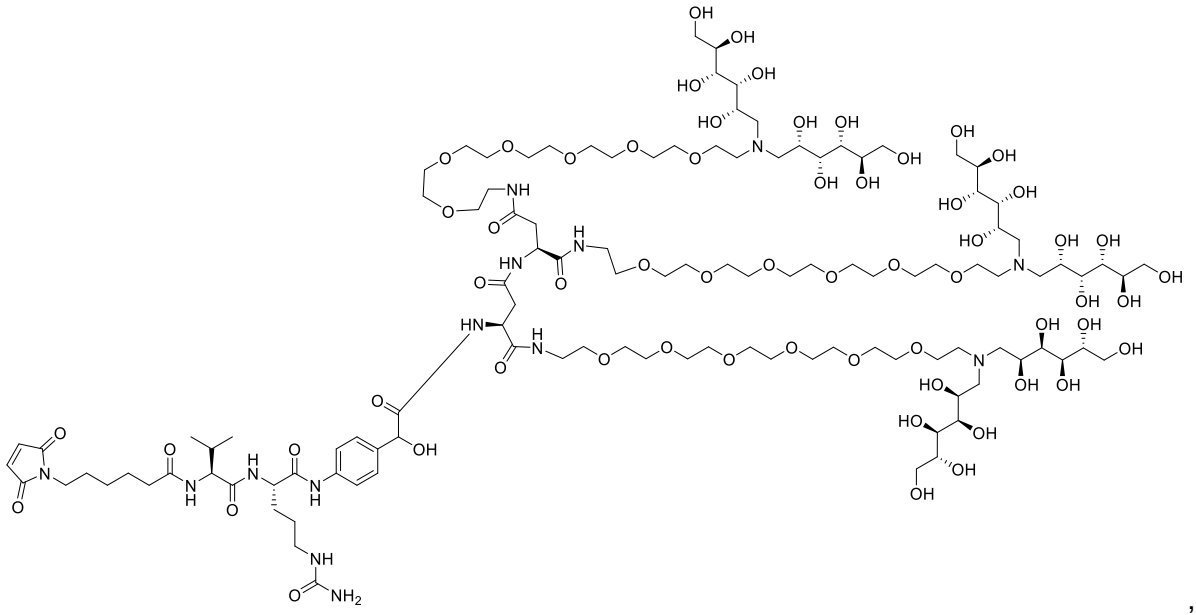
,



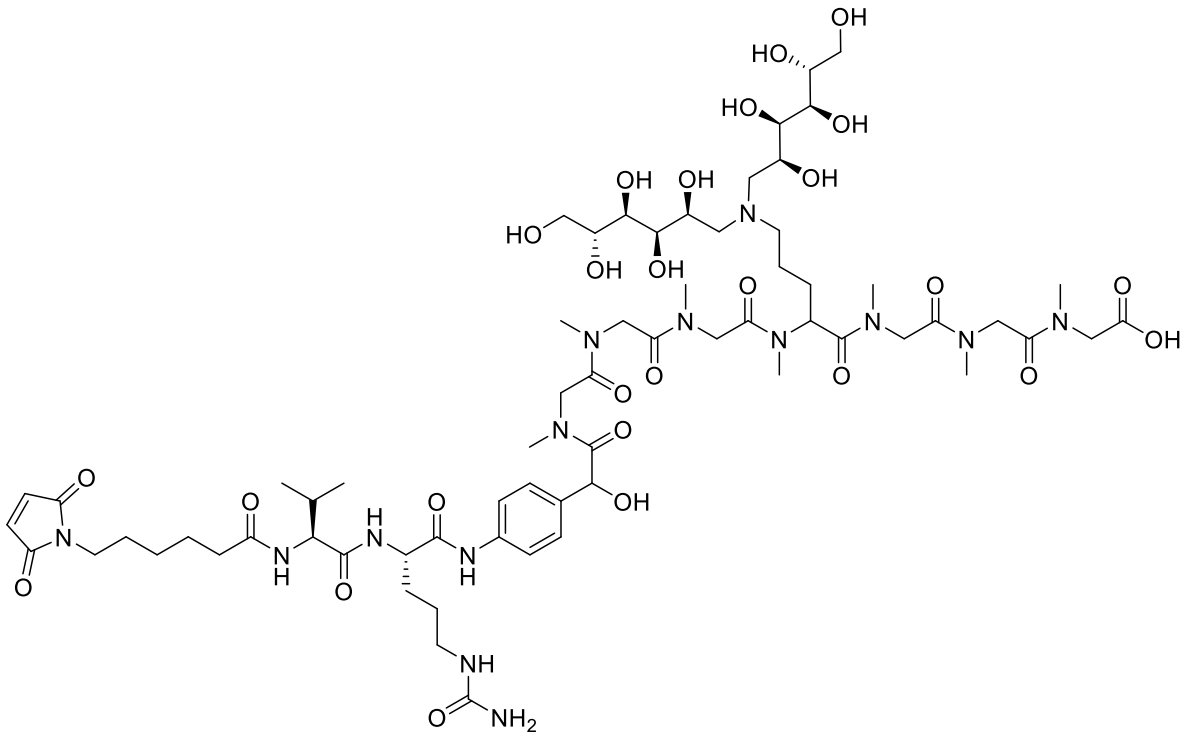
,



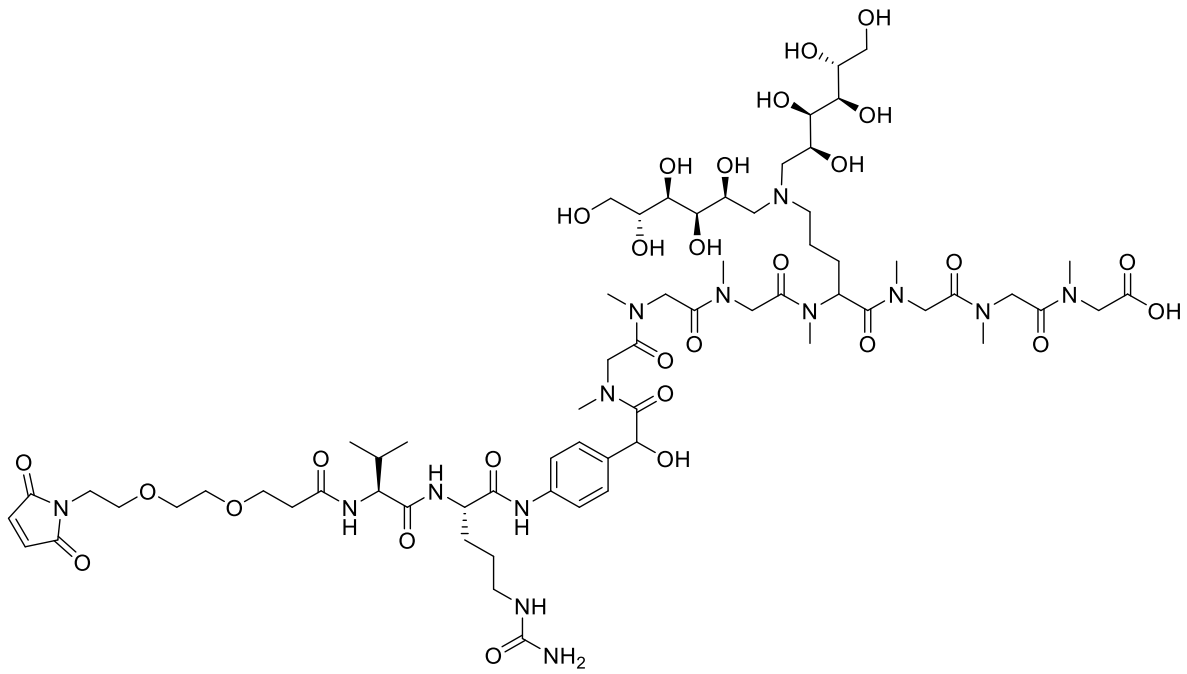
,



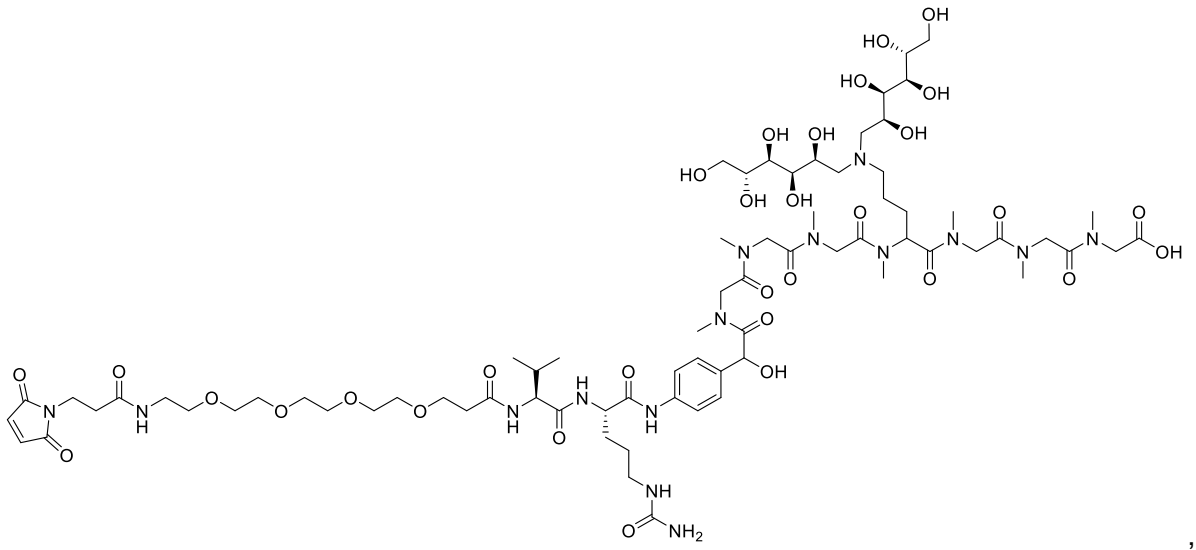
,



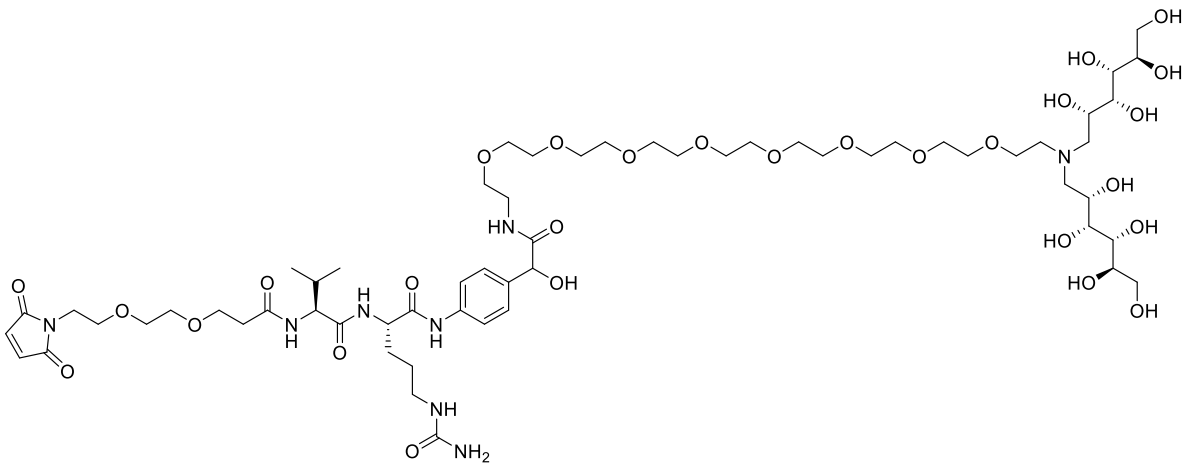
,



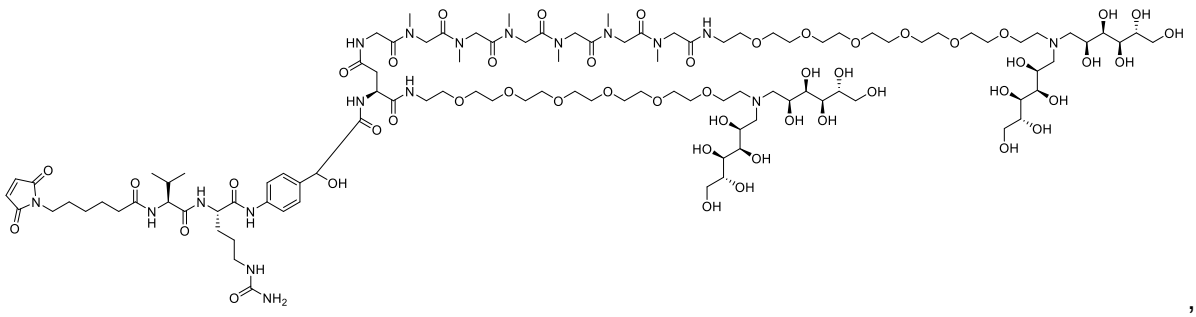
,



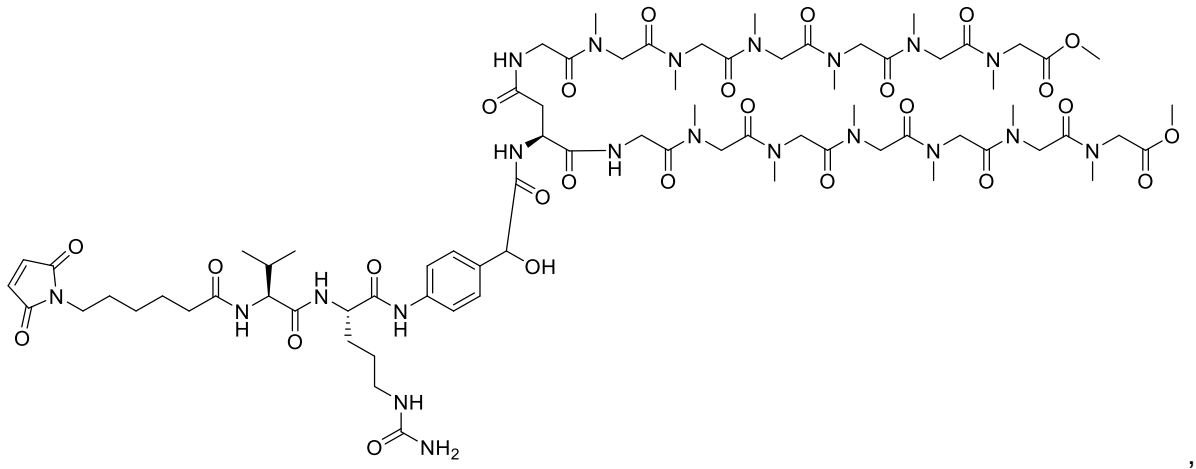
,



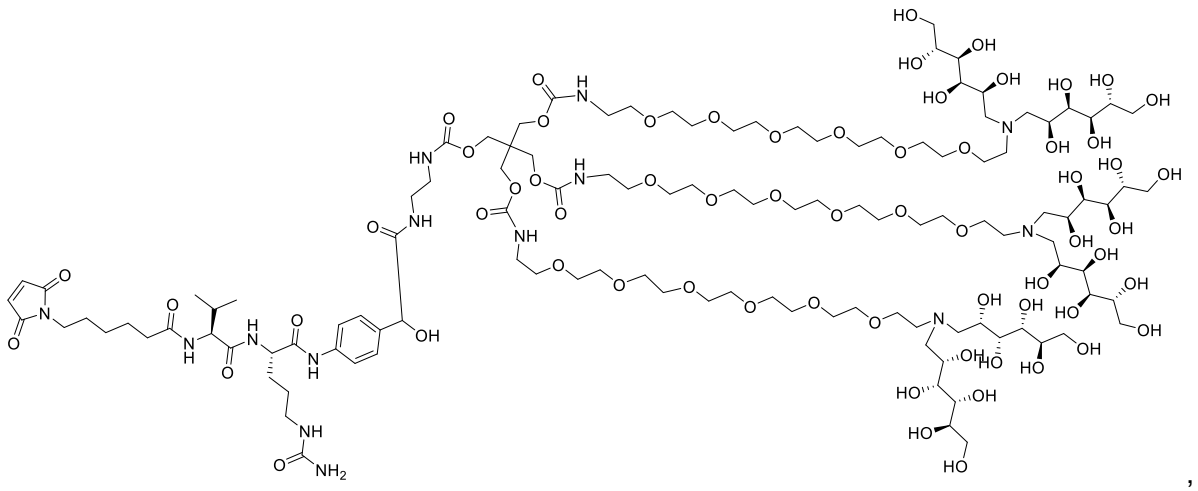
,



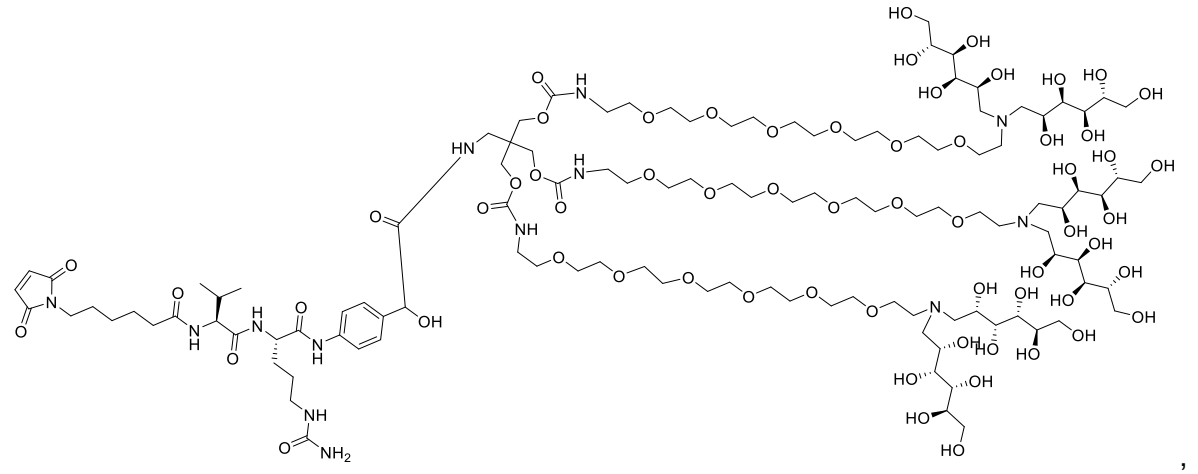
,



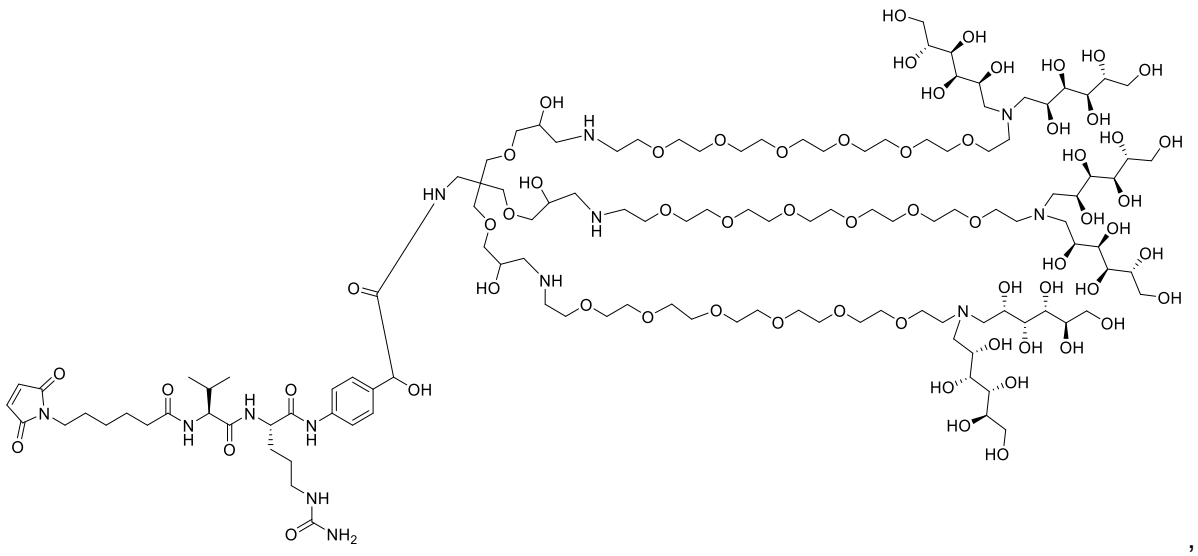
,



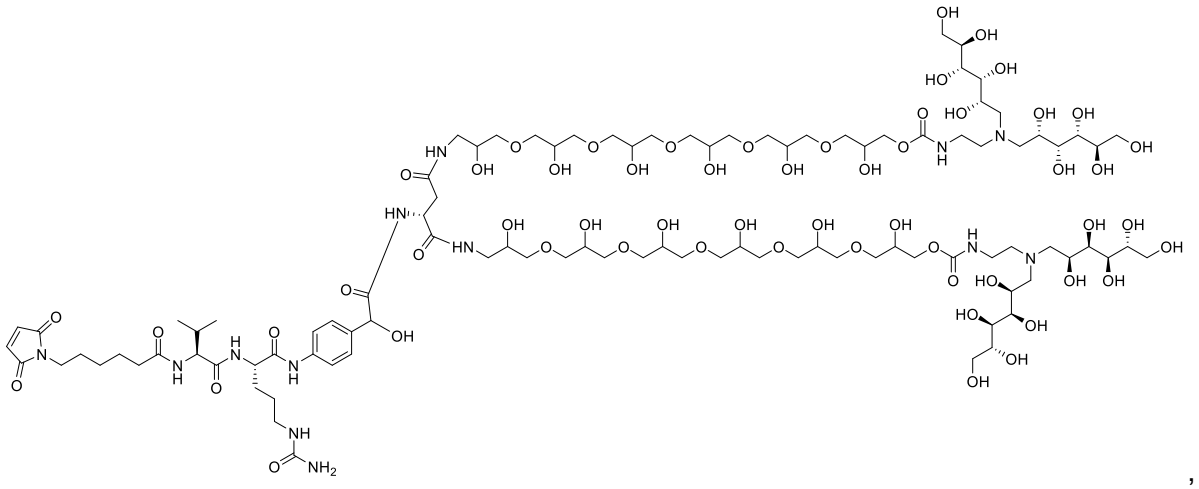
,



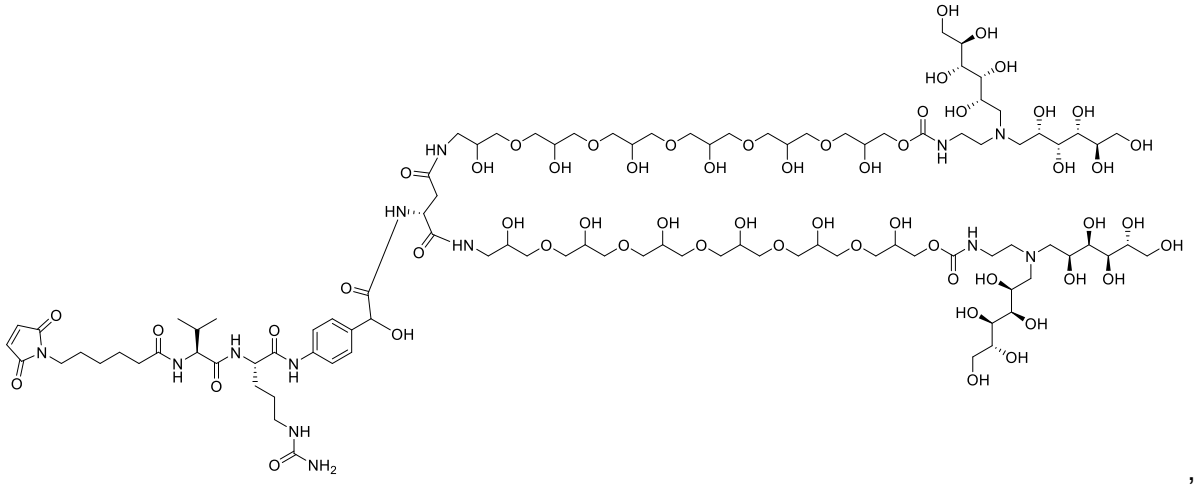
,



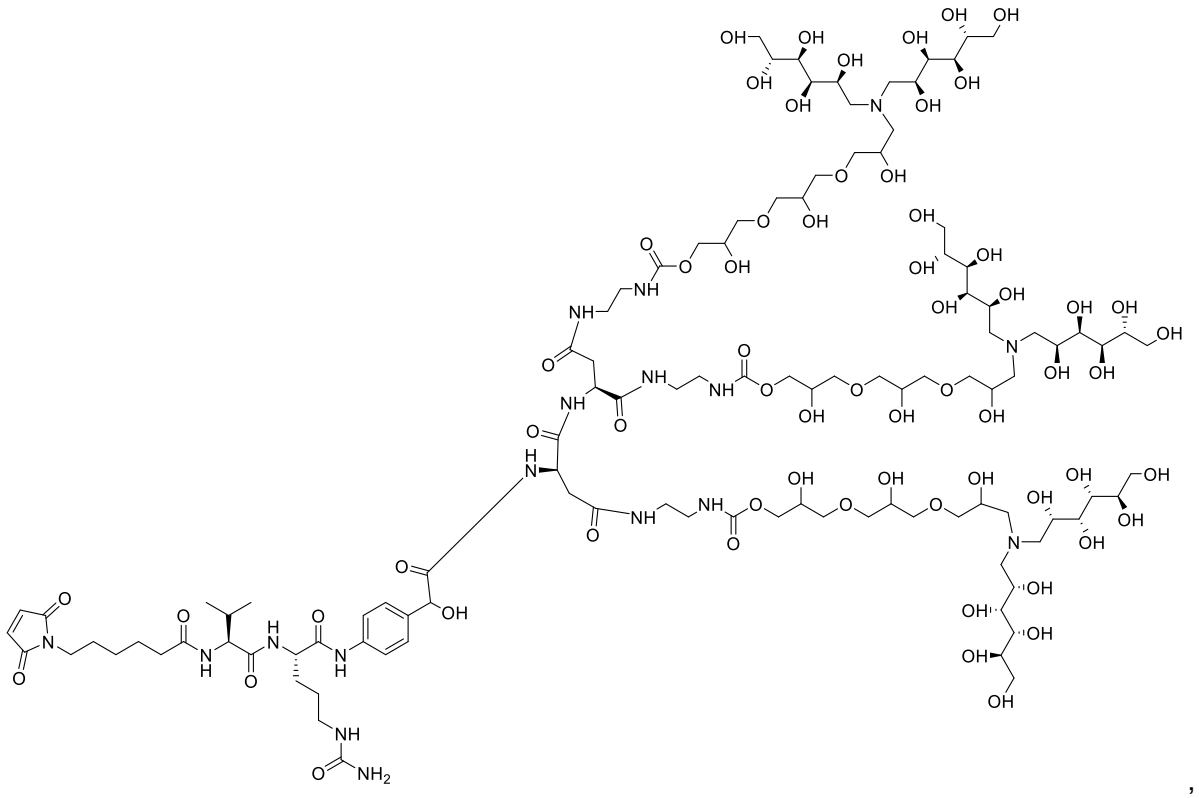
,



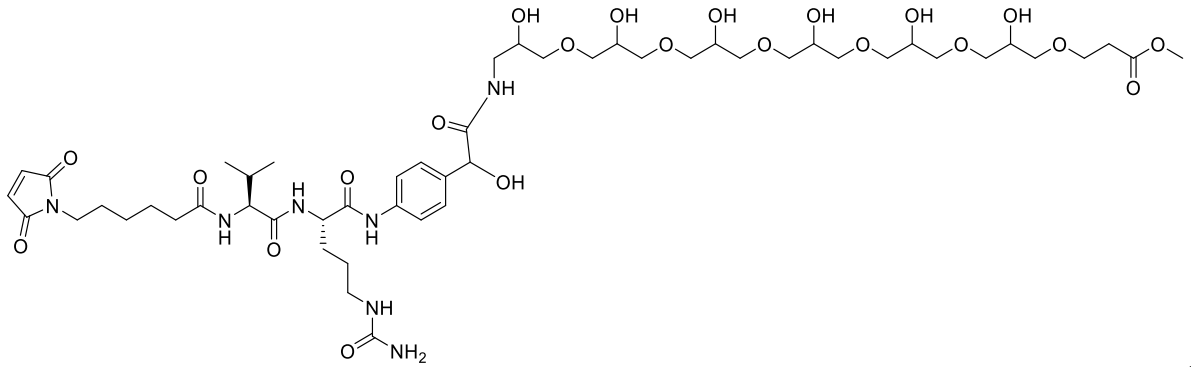
,



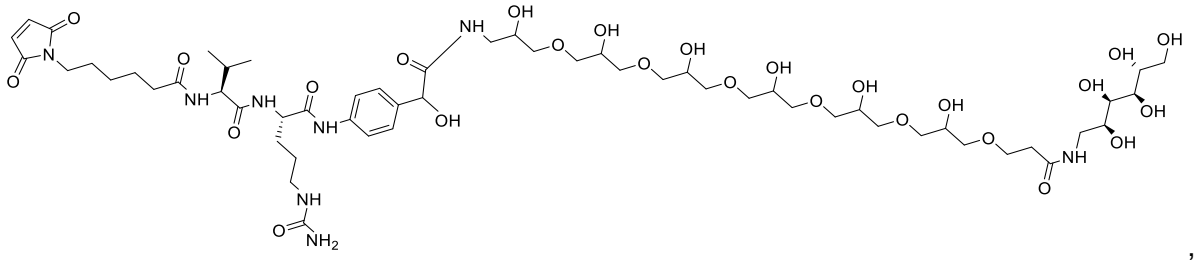
,



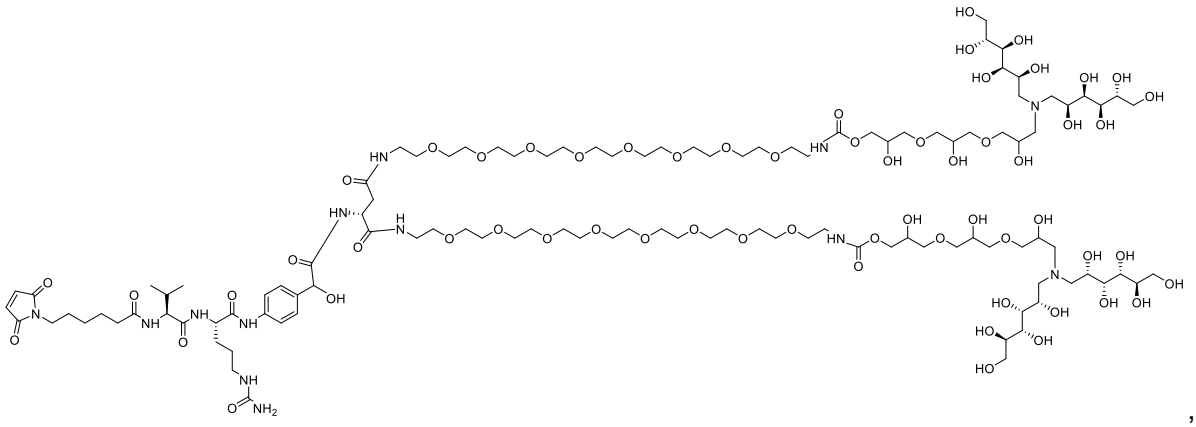
,



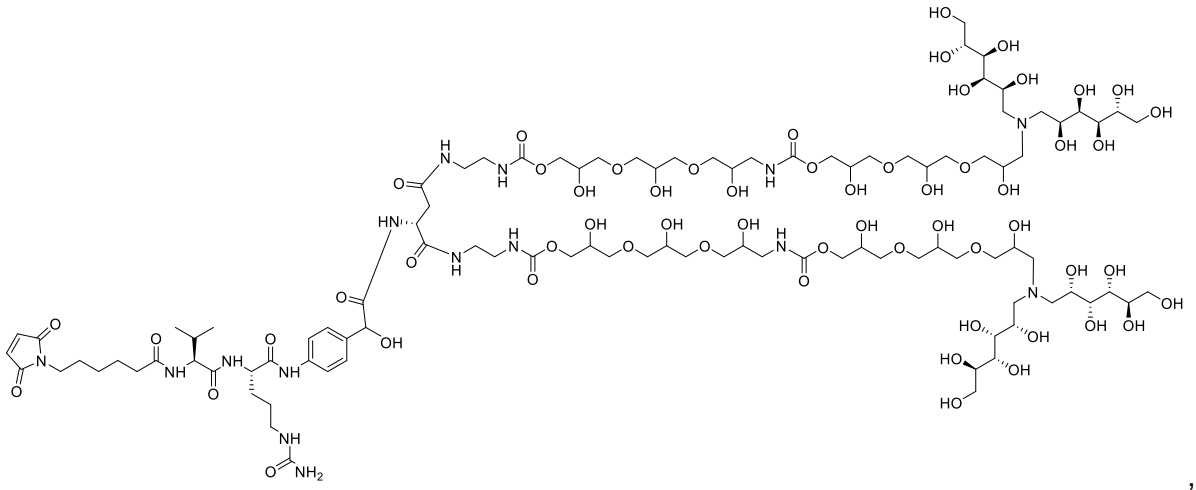
,



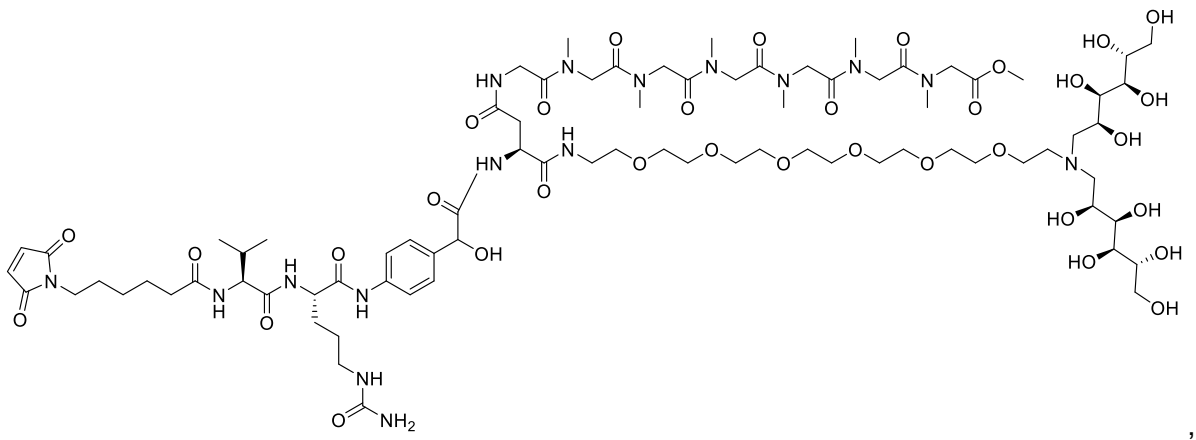
,



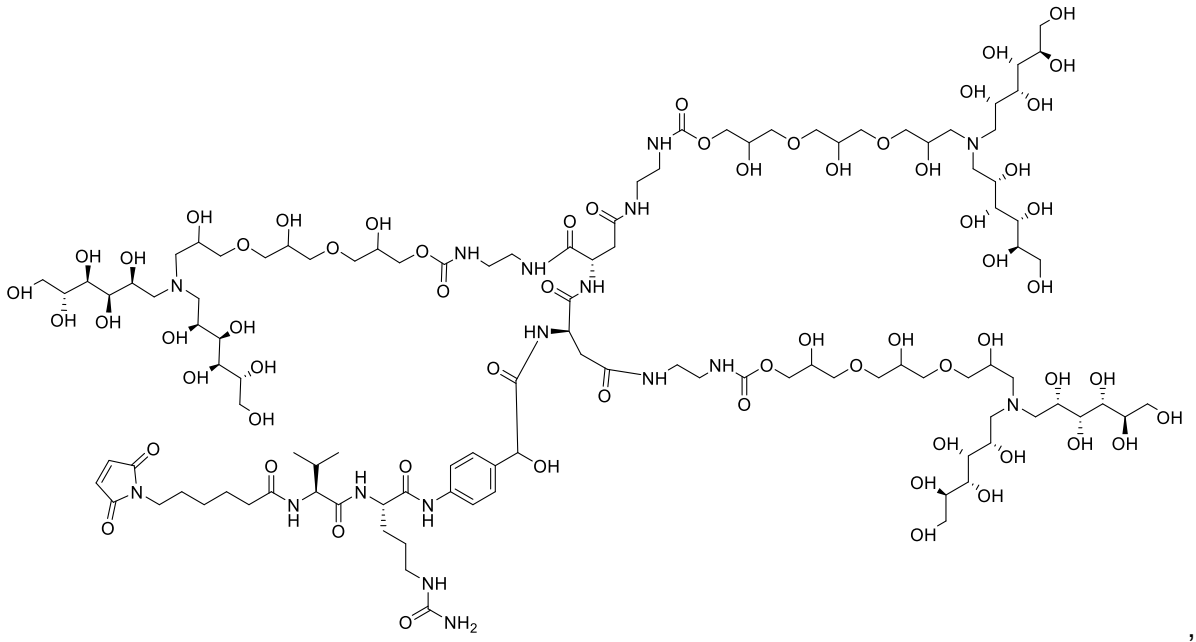
,



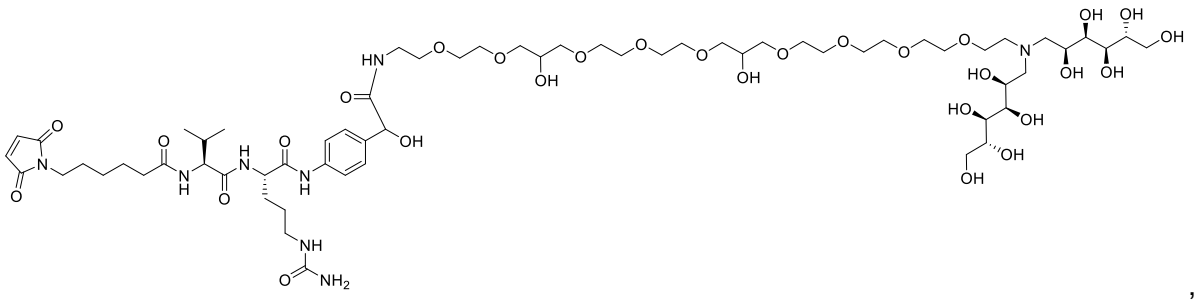
,



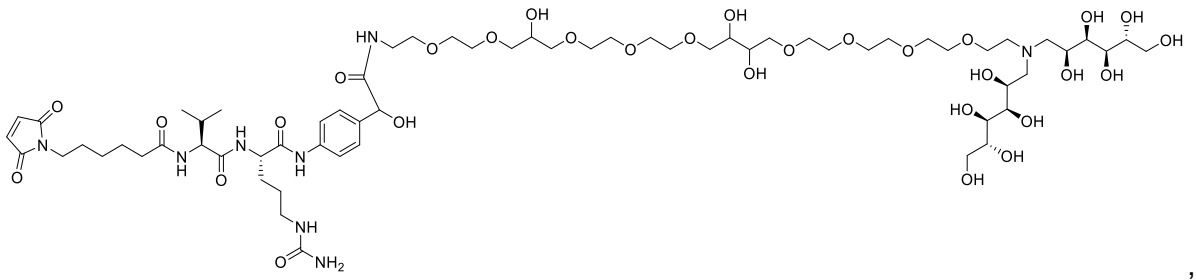
,



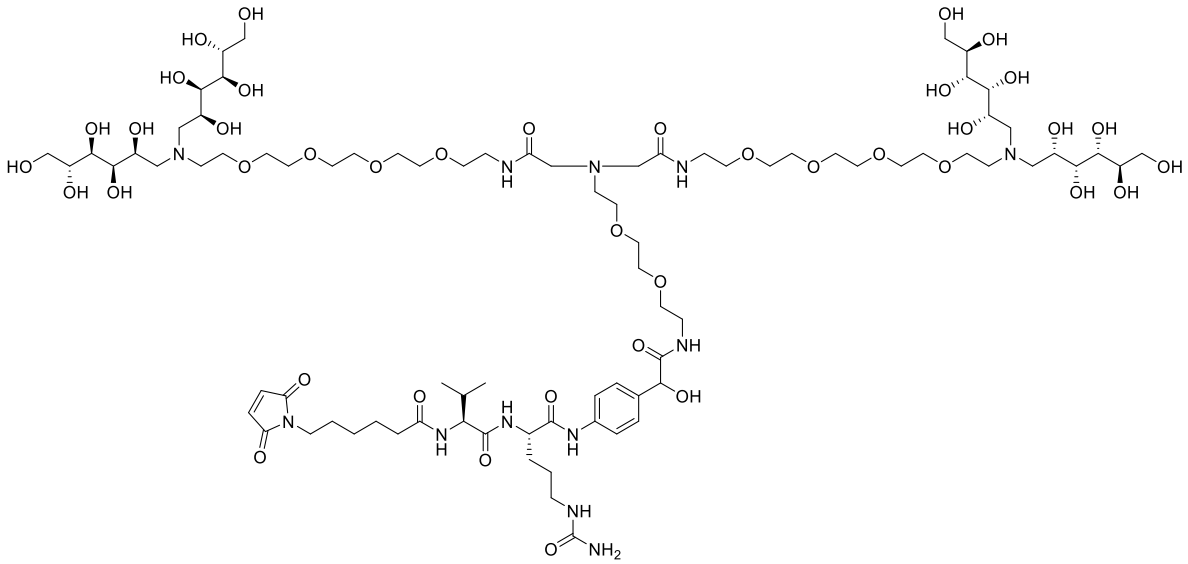
,



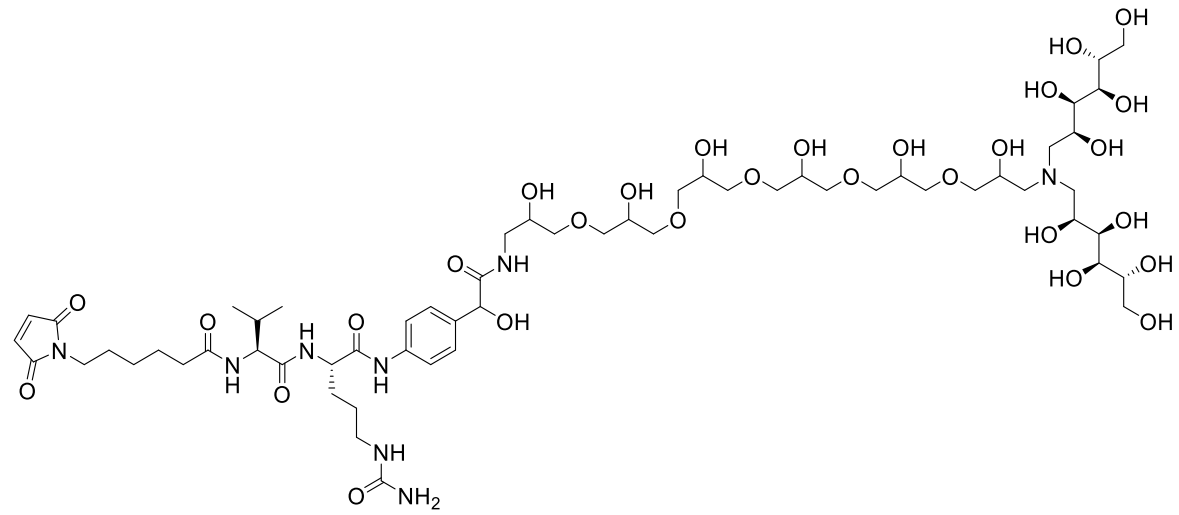
,



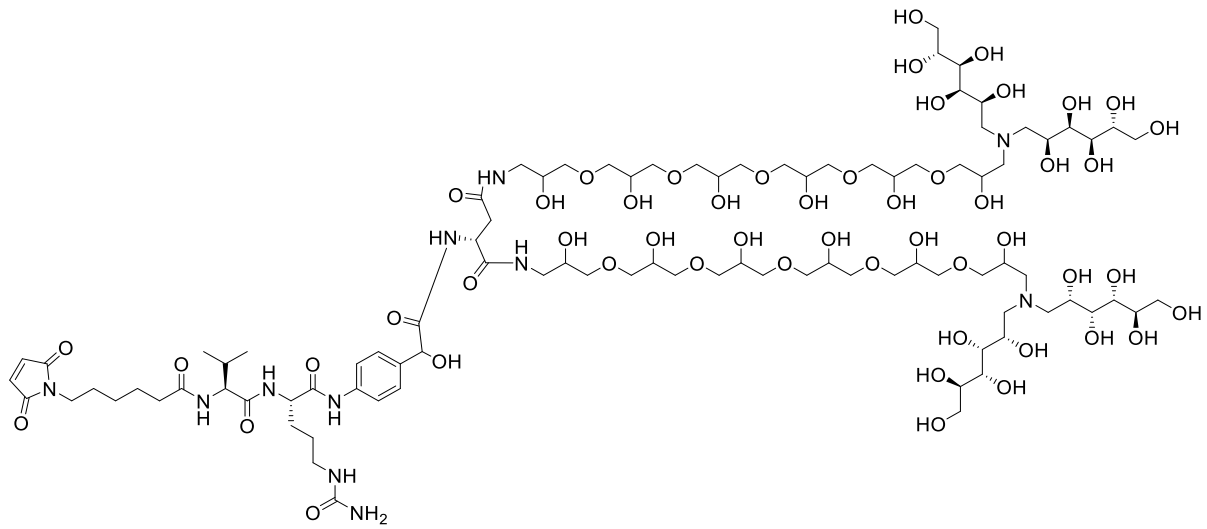
,



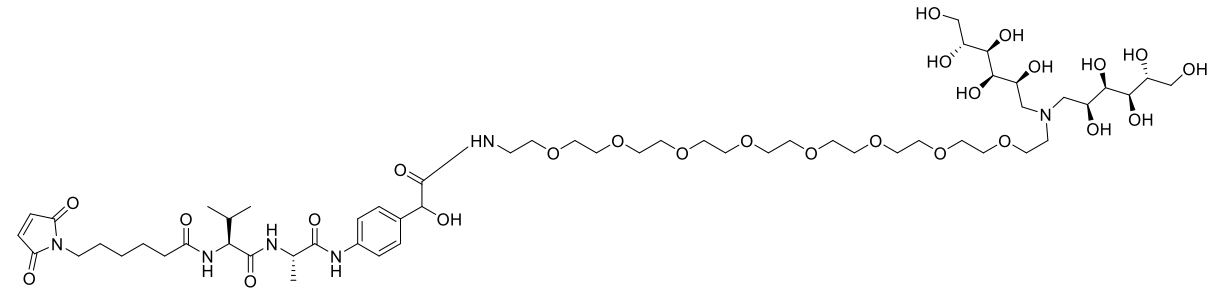
,



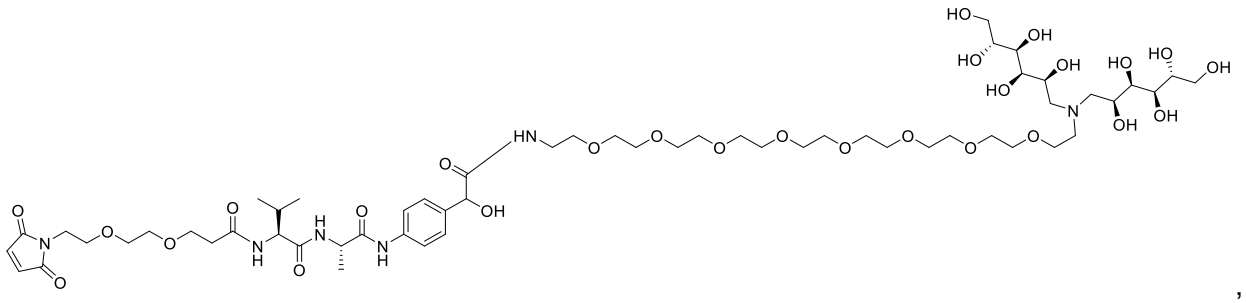
,



,

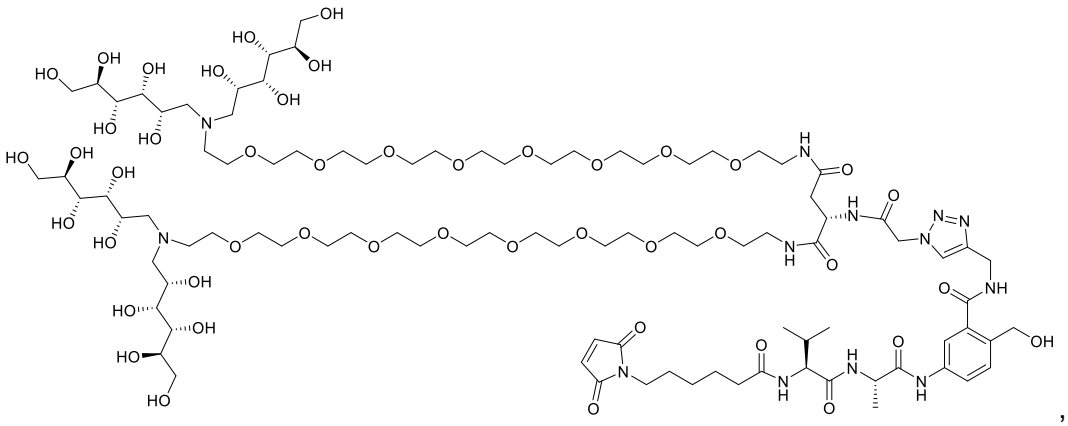


,



,

o



,

donde el H en el OH bencílico está reemplazado opcionalmente por un enlace a dicha por lo menos una unidad de fármaco o al grupo conector unido a dicha por lo menos una unidad de fármaco.

[437] Forma de realización 85: Un compuesto de fármaco-conector, que comprende un compuesto conector de cualquiera de las formas de realización 1-84 unido a por lo menos una unidad de fármaco, o unido al grupo conector unido a dicha por lo menos una unidad de fármaco, en el sitio de unión.

[438] Forma de realización 86: El fármaco-conector de la forma de realización 85, en donde la unidad de fármaco se selecciona entre un agente citotóxico, un agente inmunomodulador, un ácido nucleico, un agente inhibidor del crecimiento, una PROTAC, una toxina, un isótopo radioactivo y un ligando quelante.

[439] Forma de realización 87: El fármaco-conector de la forma de realización 86, en donde la unidad de fármaco es un agente citotóxico.

[440] Forma de realización 88: El fármaco-conector de la forma de realización 87, en donde el agente citotóxico se selecciona del grupo que consiste en una auristatina, un maitansinoide, una camprotecina, una duocarmicina y una calqueamicina.

[441] Forma de realización 89: El fármaco-conector de la forma de realización 88, en donde el agente citotóxico es una auristatina.

[442] Forma de realización 90: El fármaco-conector de la forma de realización 89, en donde el agente citotóxico es MMAE o MMAF.

[443] Forma de realización 91: El fármaco-conector de la forma de realización 88, en donde el agente citotóxico es una camprotecina.

[444] Forma de realización 92: El fármaco-conector de la forma de realización 91, en donde el agente citotóxico es exatecano o SN-38 o DxD.

[445] Forma de realización 93: El fármaco-conector de la forma de realización 92, en donde el agente citotóxico es exatecano.

[446] Forma de realización 94: El fármaco-conector de la forma de realización 88, en donde el agente citotóxico es una calqueamicina.

[447] Forma de realización 95: El fármaco-conector de la forma de realización 88, en donde el agente citotóxico es un maitansinoide.

[448] Forma de realización 96: El fármaco-conector de la forma de realización 95, en donde dicho maitansinoide es maitansina, maitansinol o ansamatocina-2.

[449] Forma de realización 97: El fármaco-conector de la forma de realización 86, en donde la unidad de fármaco es un agente inmunomodulador.

[450] Forma de realización 98: El fármaco-conector de la forma de realización 97, en donde el agente inmunomodulador se selecciona entre un agonista de TRL7, un agonista de TLR8, un agonista de STING o un agonista de RIG-I.

[451] Forma de realización 99: El fármaco-conector de la forma de realización 98, en donde el agente inmunomodulador es un agonista de TLR7.

[452] Forma de realización 100: El fármaco-conector de la forma de realización 99, en donde el agonista de TLR7 es una imidazoquinolina, una amina imidazoquinolina, una tiazoquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido [3,2-d]pirimidin-2,4-diamina, pirimidin-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina, heteroarotiadiazida-2,2-dióxido, una benzonaftiridina, un análogo de guanosina, un análogo de adenosina, un homopolímero de timidina, ARNhs, CpG-A, PoliG10 o PoliG3.

[453] Forma de realización 101: El fármaco-conector de la forma de realización 98, en donde el agente inmunomodulador es un agonista de TLR8.

[454] Forma de realización 102: El fármaco-conector de la forma de realización 101, en donde el agonista de TLR8 se selecciona entre una imidazoquinolina, una tiazoloquinolina, una aminoquinolina, una aminoquinazolina, una pirido [3,2-d]pirimidin-2,4-diamina, pirimidin-2,4-diamina, 2-aminoimidazol, 1-alquil-1H-benzimidazol-2-amina, tetrahidropiridopirimidina o un ARNhs.

[455] Forma de realización 103: El fármaco-conector de la forma de realización 97, en donde el agente inmunomodulador es un agonista de STING.

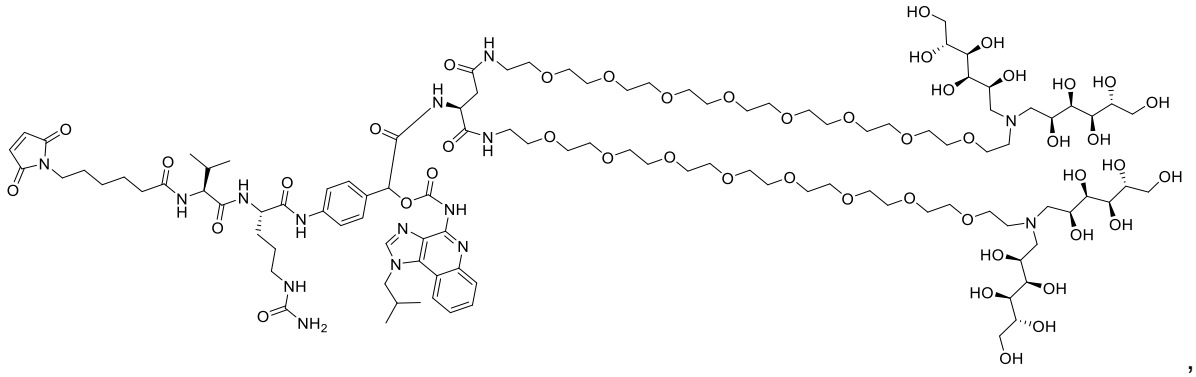
[456] Forma de realización 104: El fármaco-conector de la forma de realización 98, en donde el agente inmunomodulador es un agonista de RIG-I.

[457] Forma de realización 105: El fármaco-conector de la forma de realización 104, en donde el agonista RIG-I se selecciona entre KIN1148, SB-9200, KIN700, KIN600, KIN500, KIN100, KIN101, KIN400 y KIN2000.

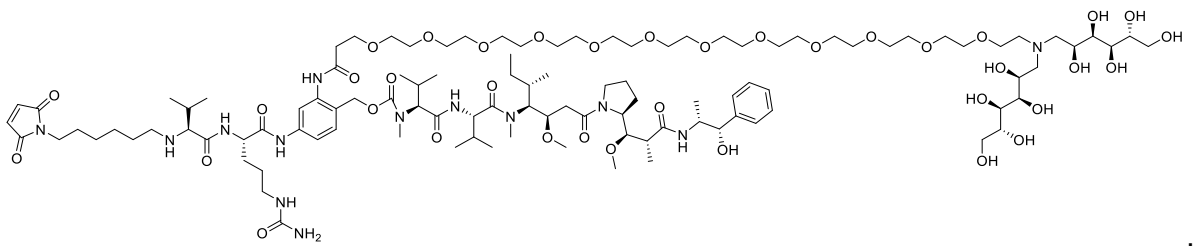
[458] Forma de realización 106: El fármaco-conector de la forma de realización 86, en donde la unidad de fármaco es un ligando quelante.

[459] Forma de realización 107: El fármaco-conector de la forma de realización 106, en donde el ligando quelante se selecciona entre platino (Pt), rutenio (Ru), rodio (Rh), oro (Au), plata (Ag), cobre (Cu), molibdeno (Mo), titanio (Ti), o iridio (Ir); un radioisótopo tal como itrio-88, itrio-90, tecnecio-99, cobre-67, renio-188, renio-186, galio-66, galio-67, indio-111, indio-114, indio-115, lutecio-177, estroncio-89, samario-153, y plomo-212.

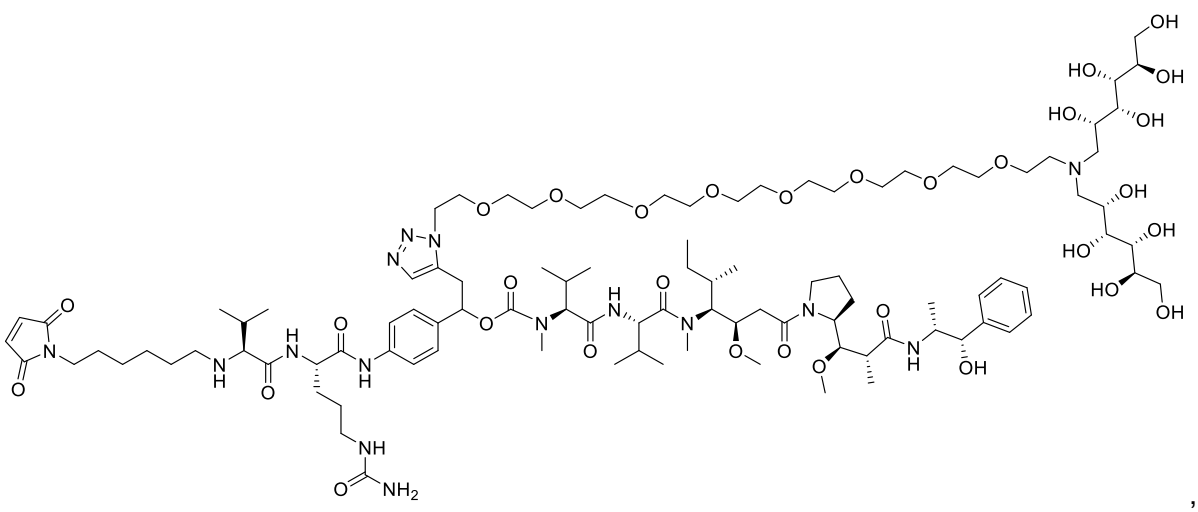
[460] Forma de realización 108: El fármaco-conector de la forma de realización 85, que presenta una de las siguientes estructuras:



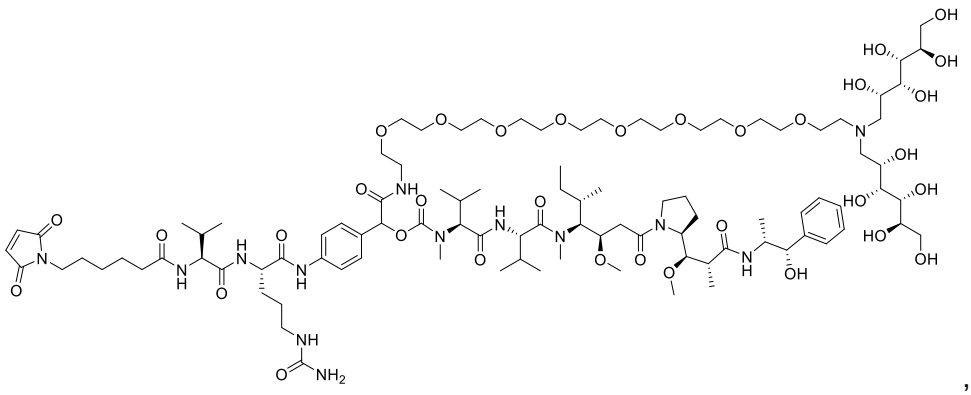
,



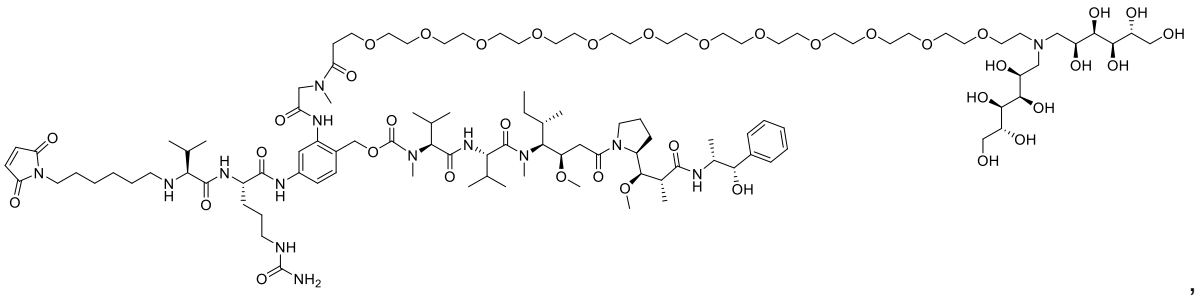
,



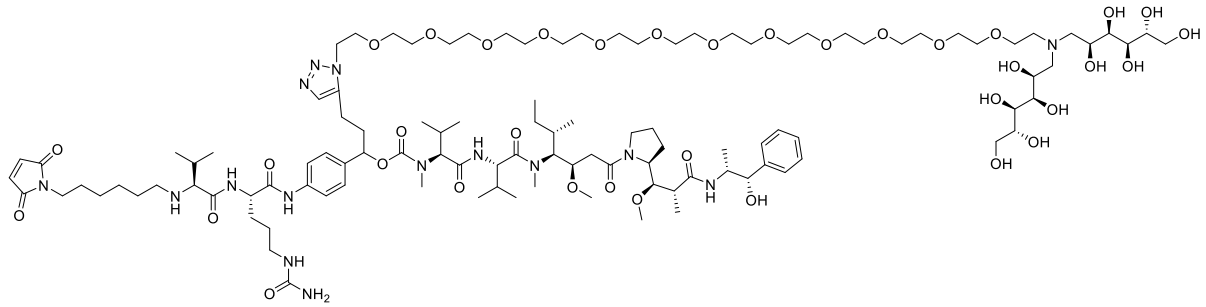
,



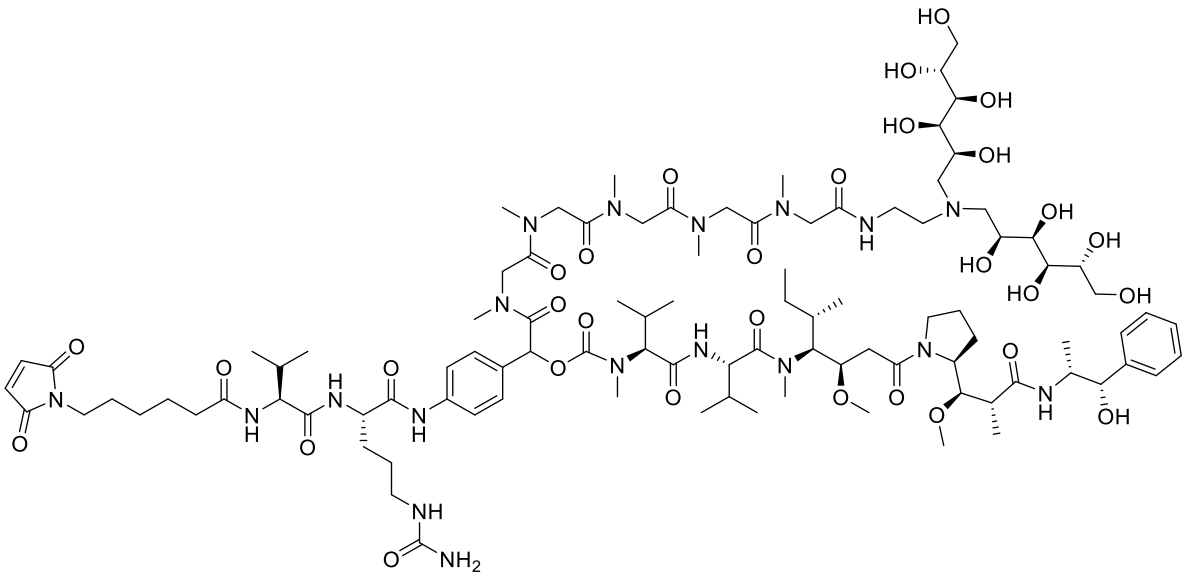
,



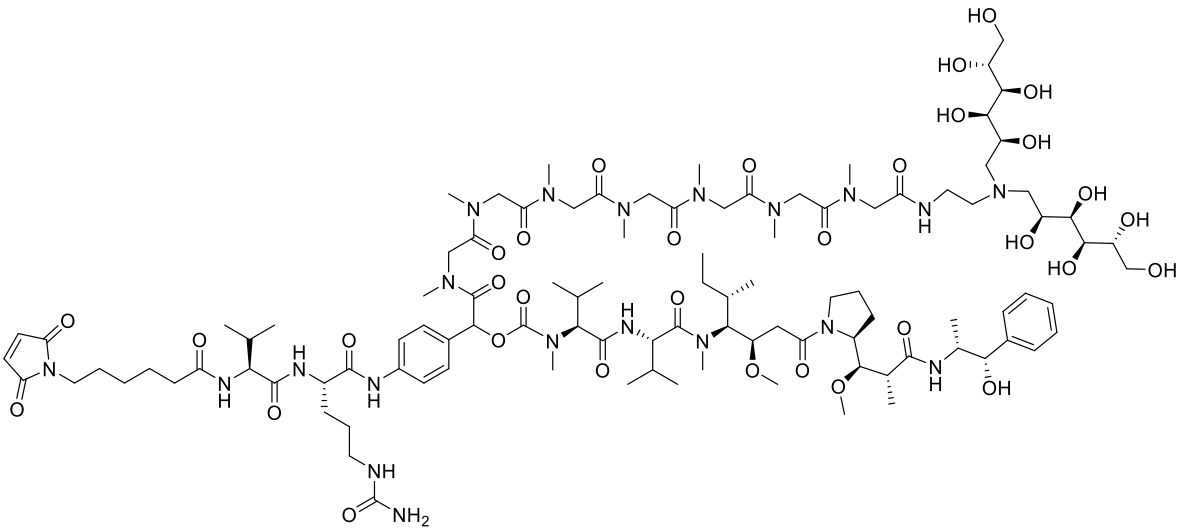
,



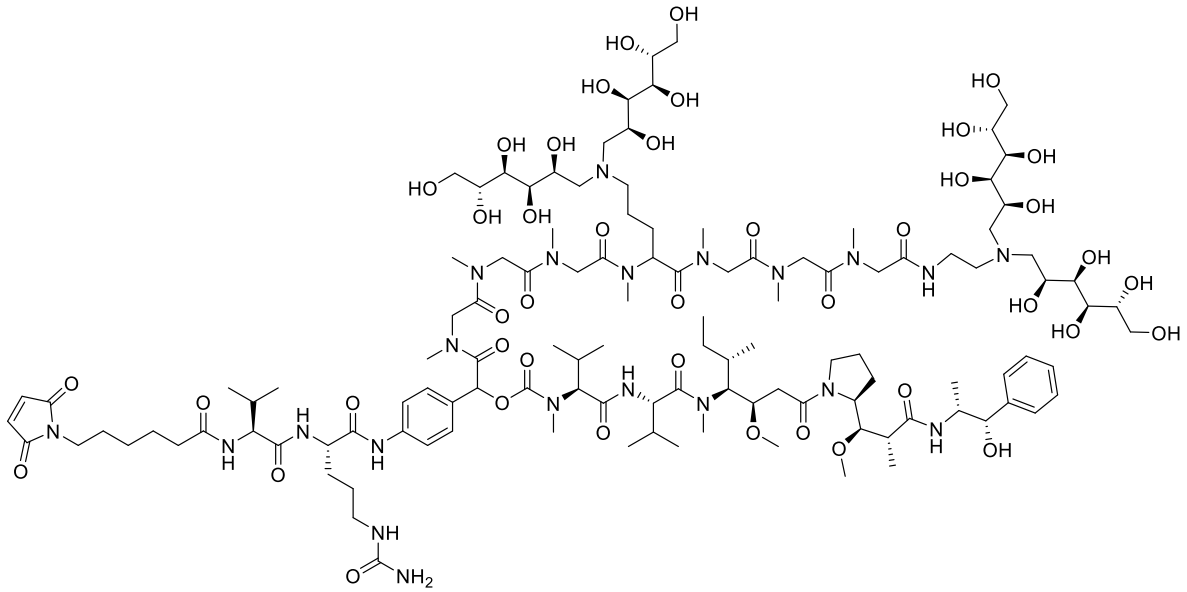
,



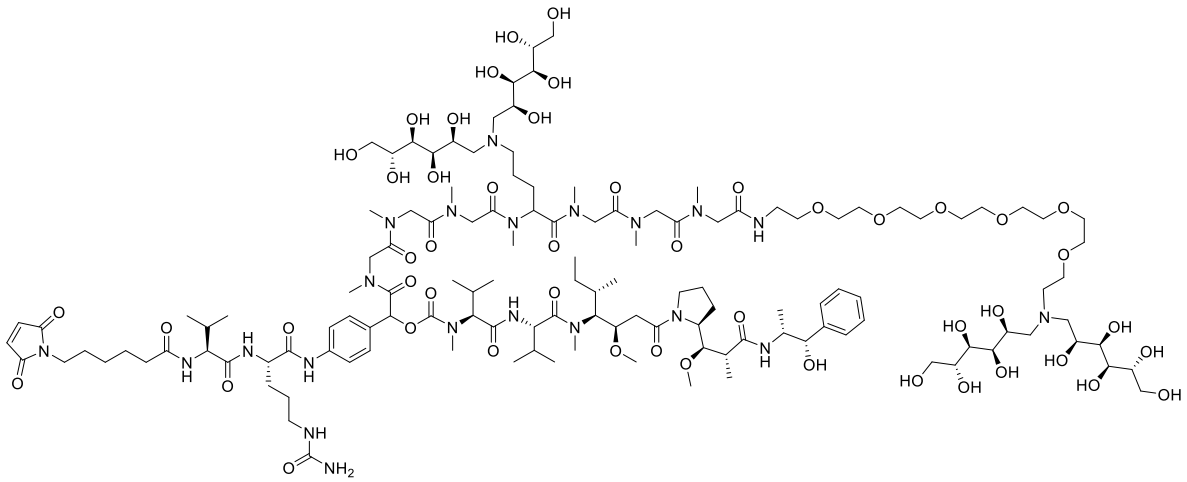
,



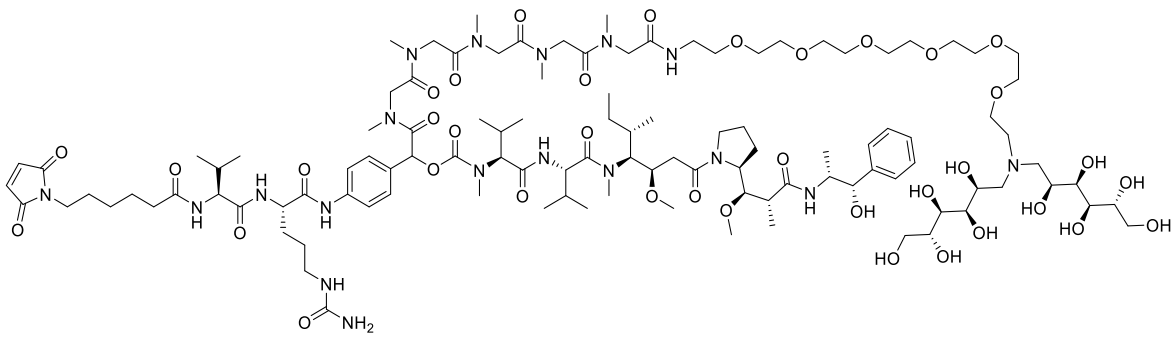
,



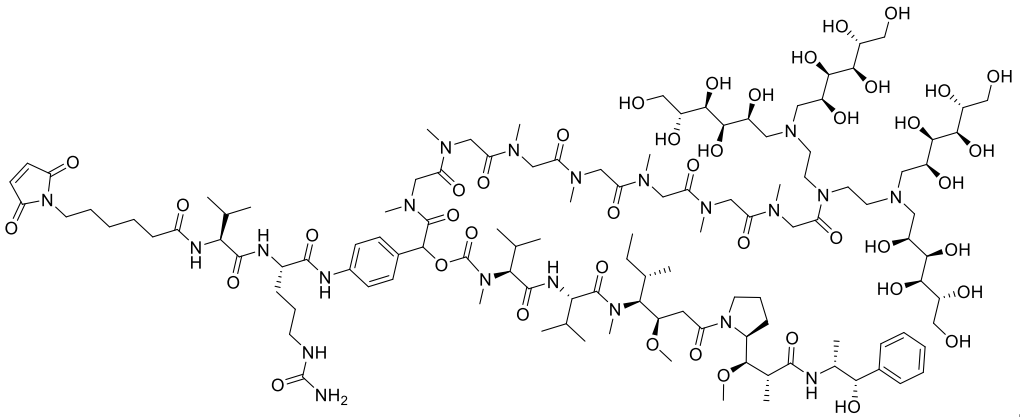
,



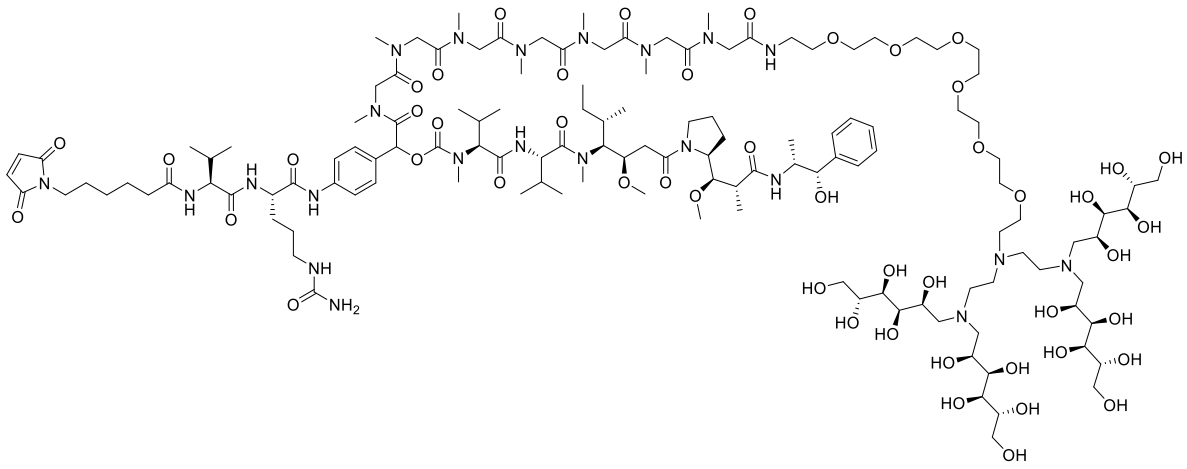
,



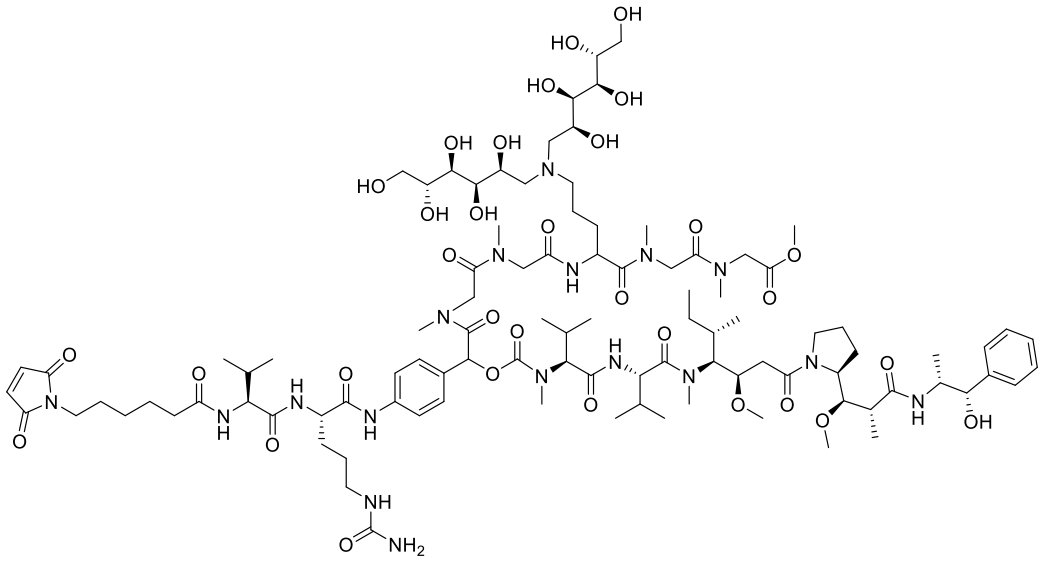
,



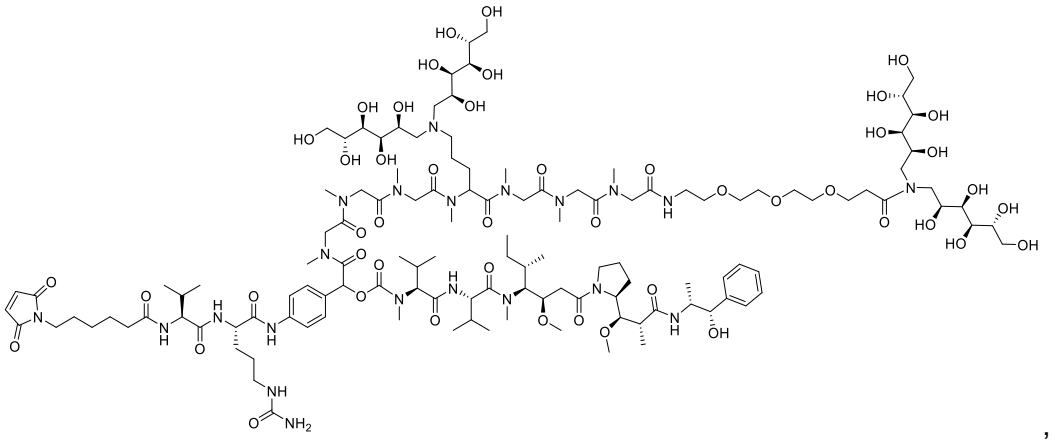
,



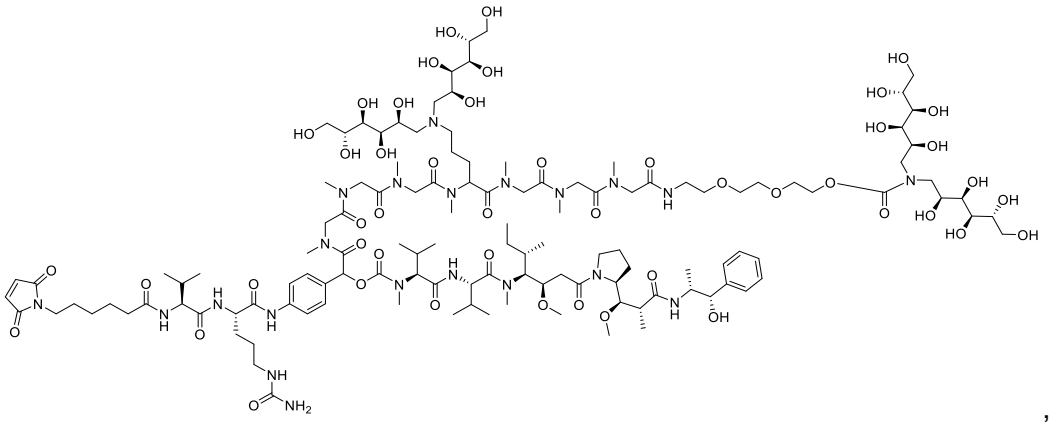
,



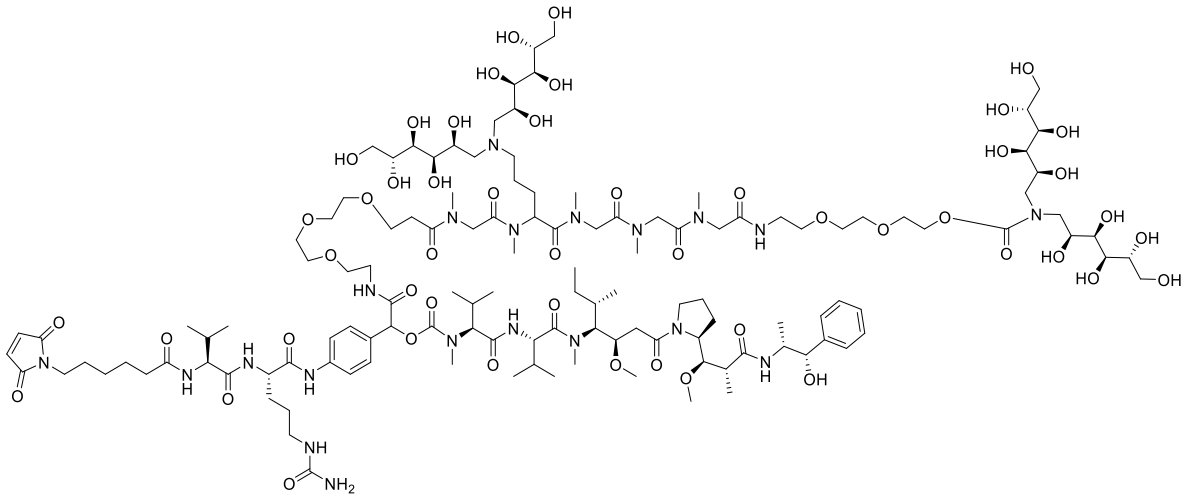
,



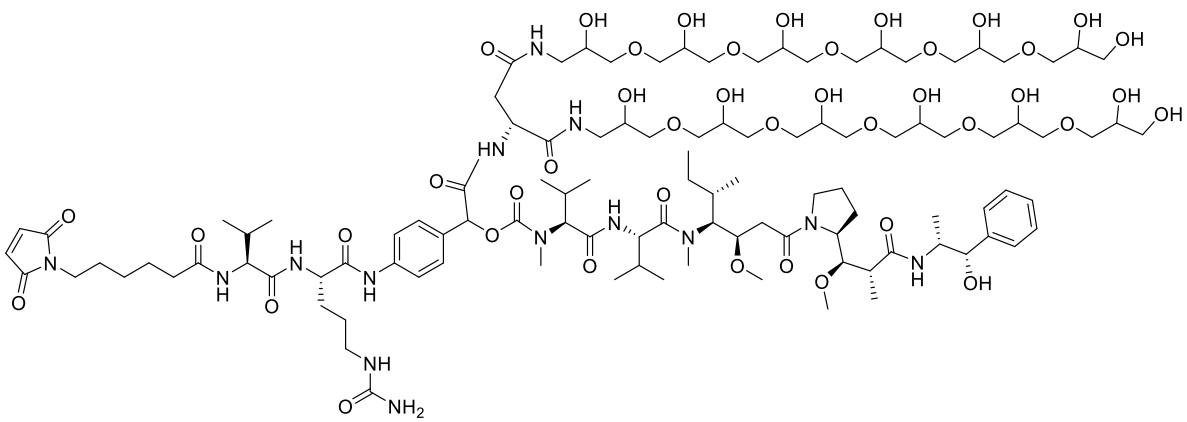
,



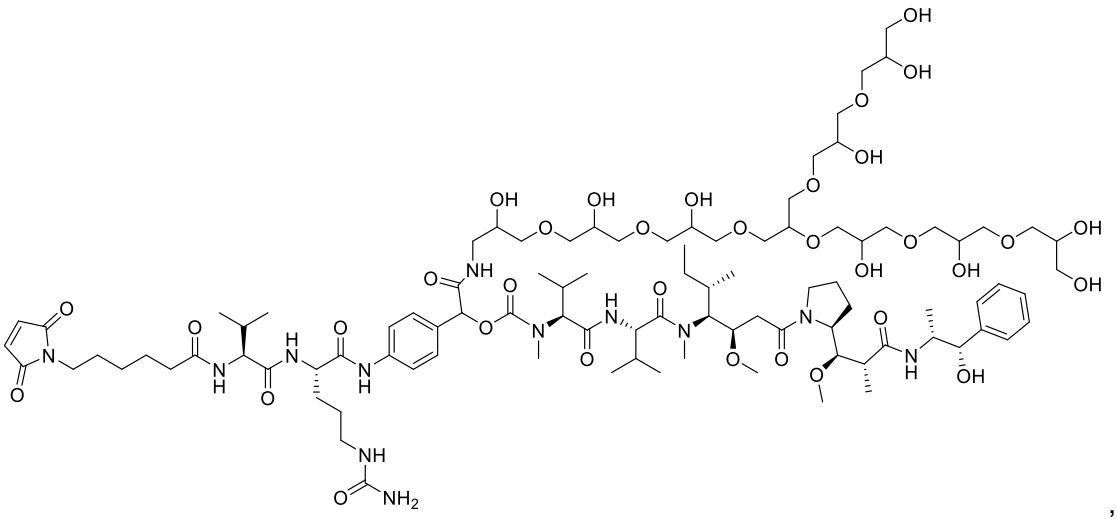
,



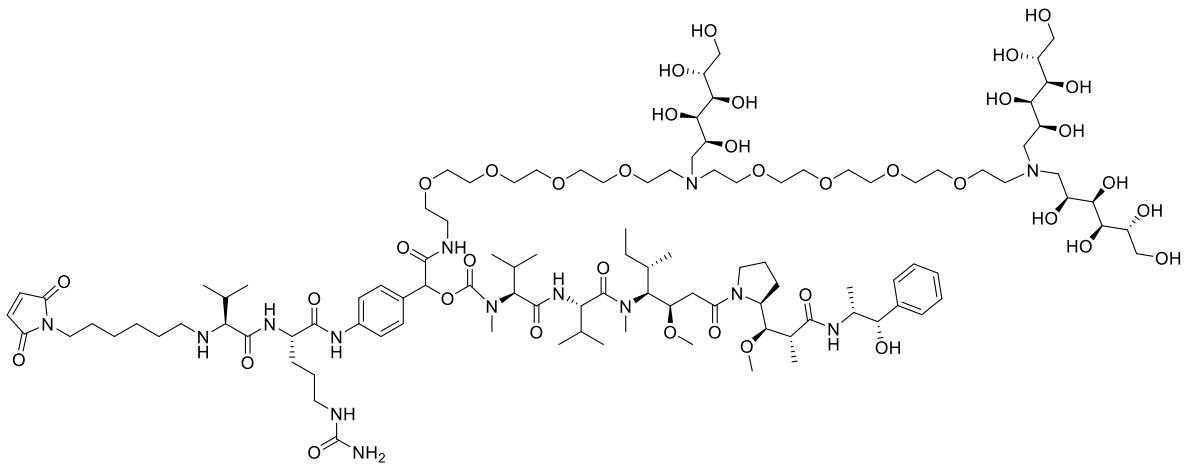
,



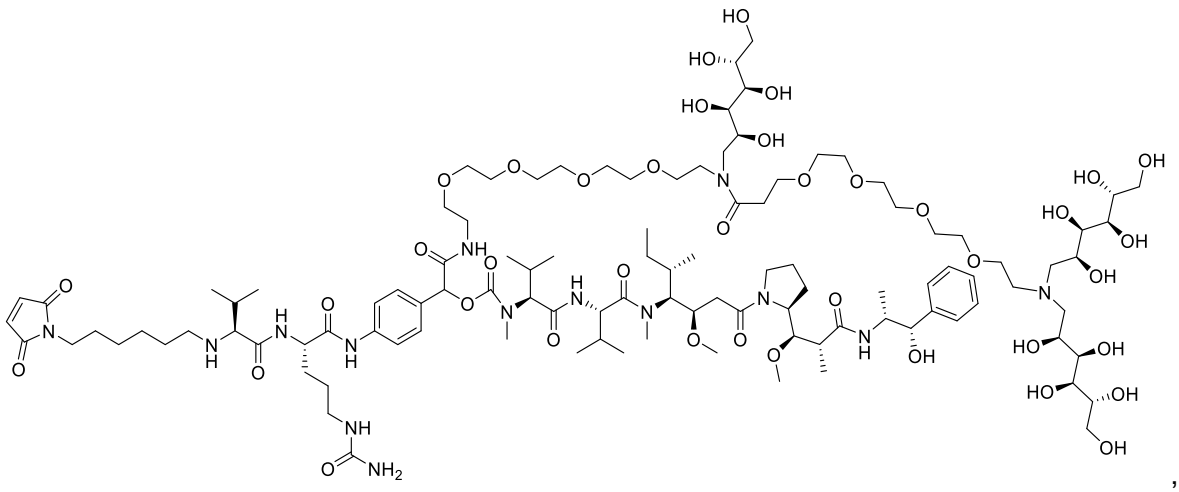
,



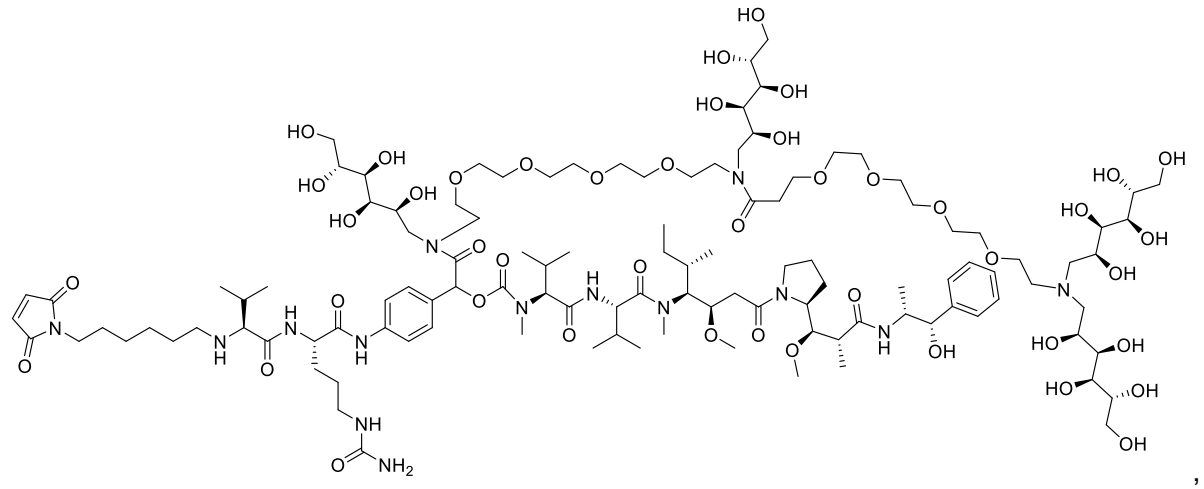
,



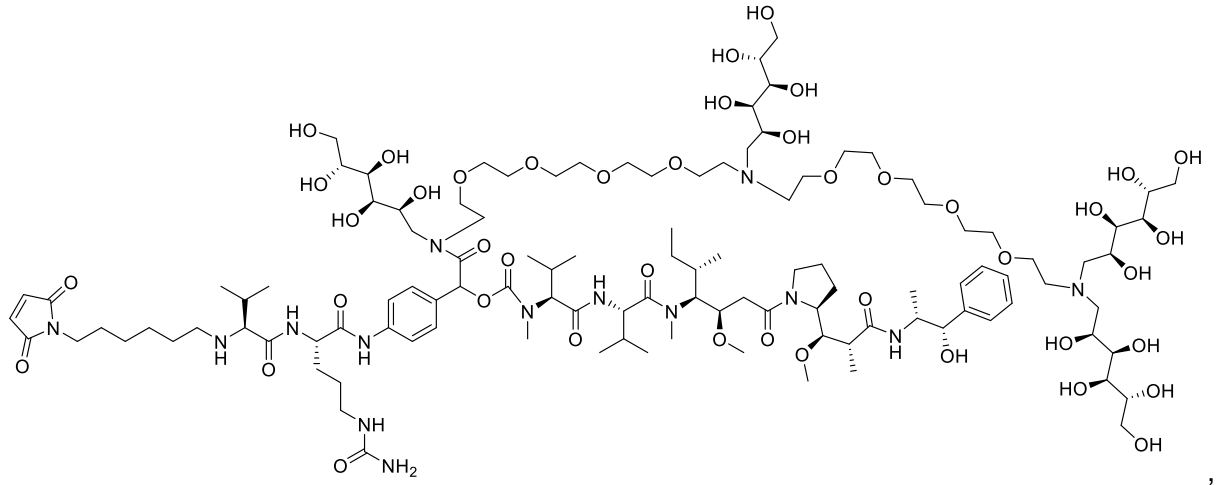
,



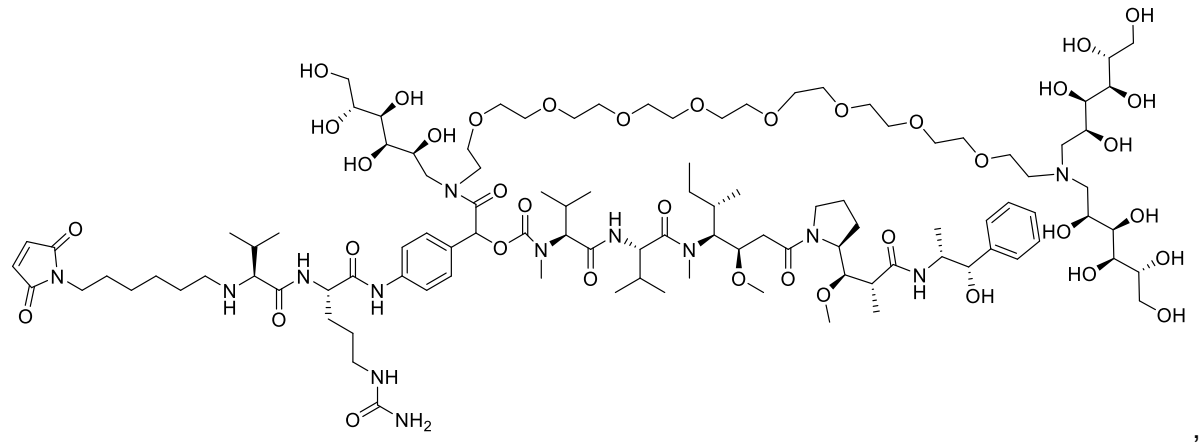
,



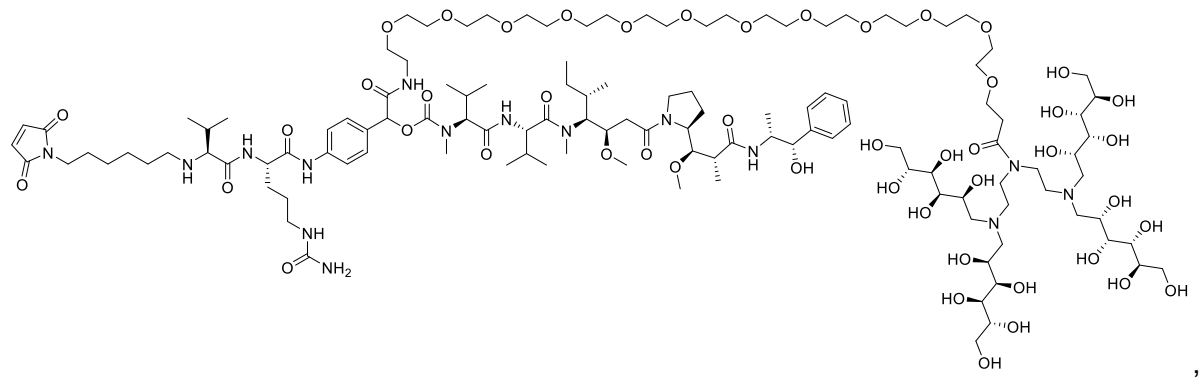
,



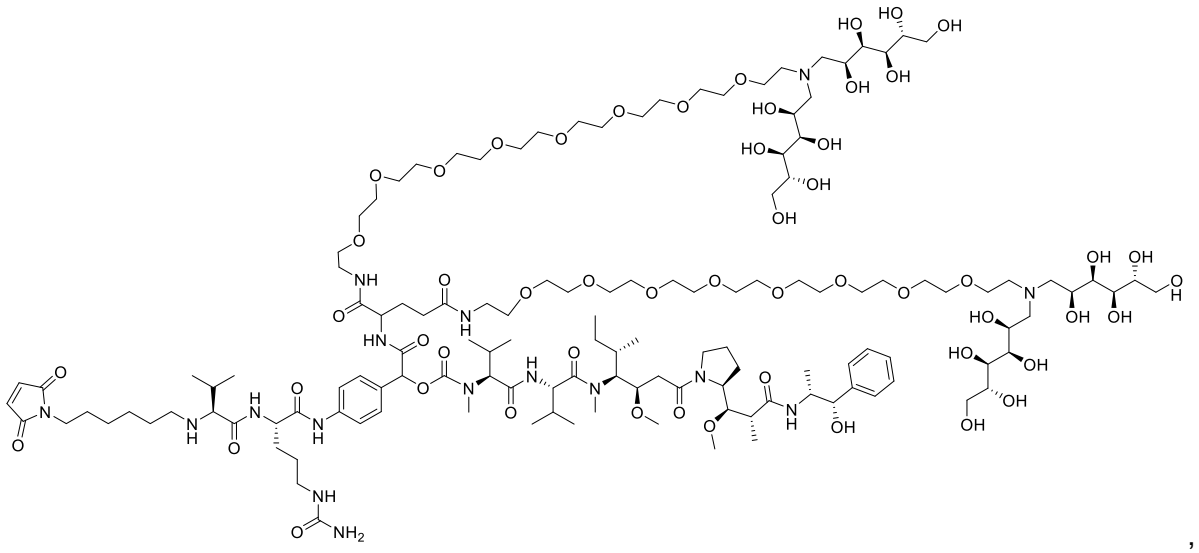
,



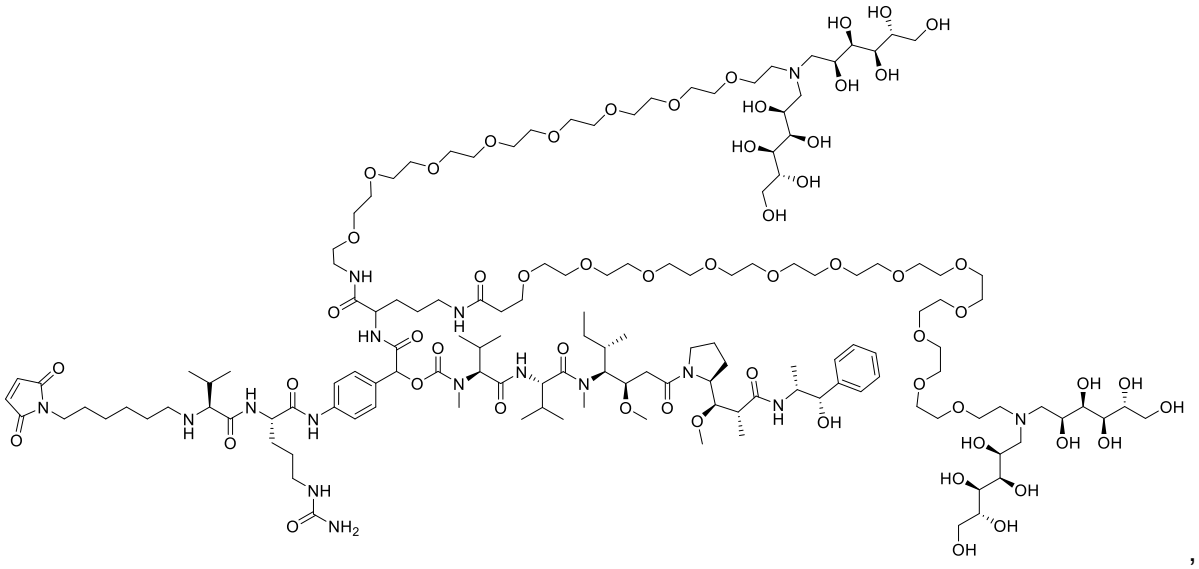
,



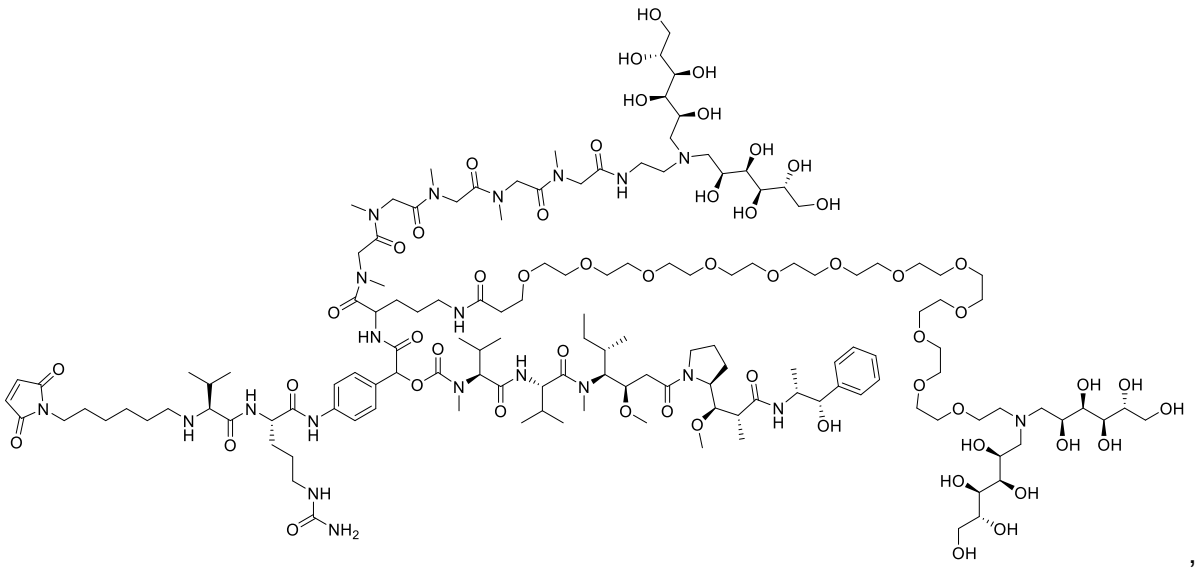
,



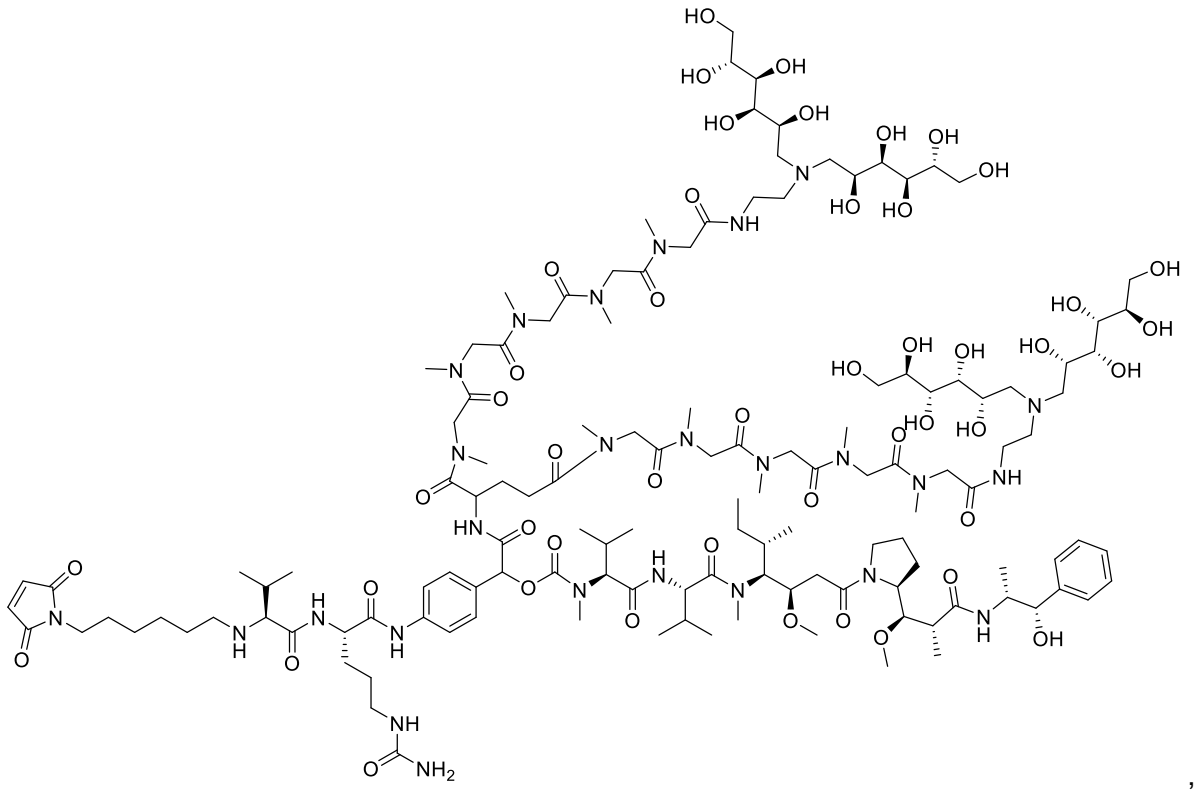
,



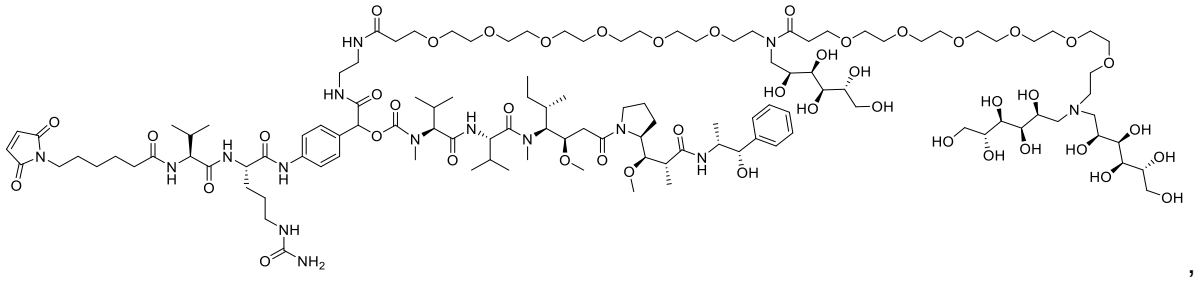
,



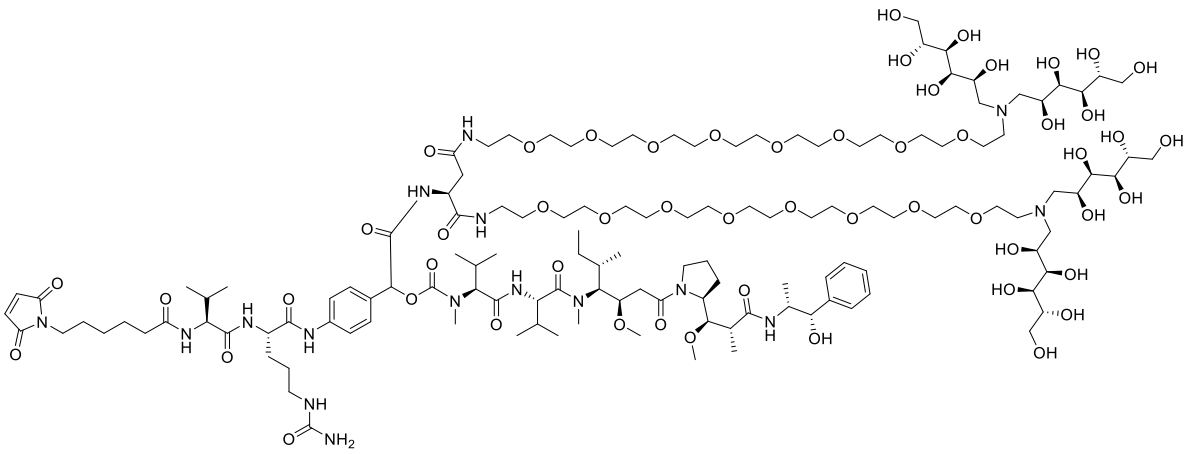
,



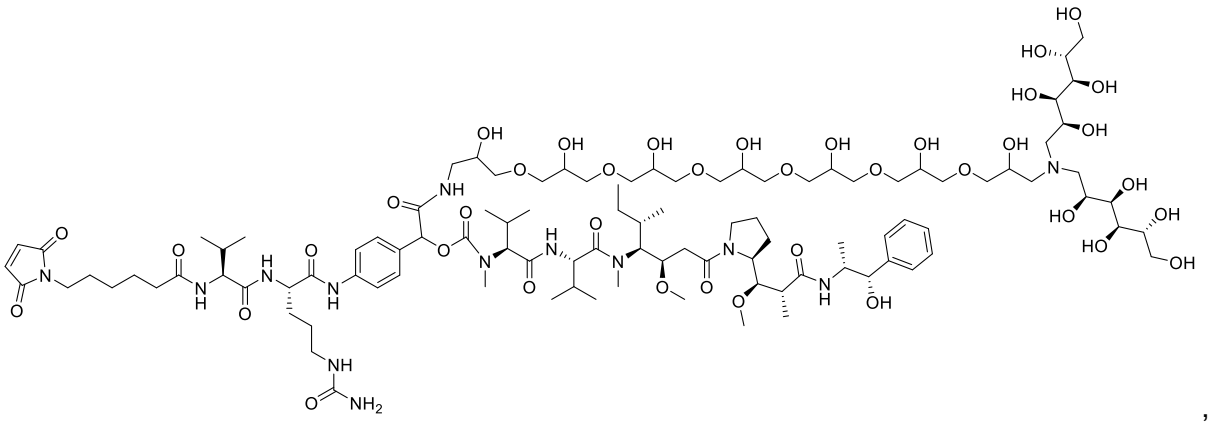
,



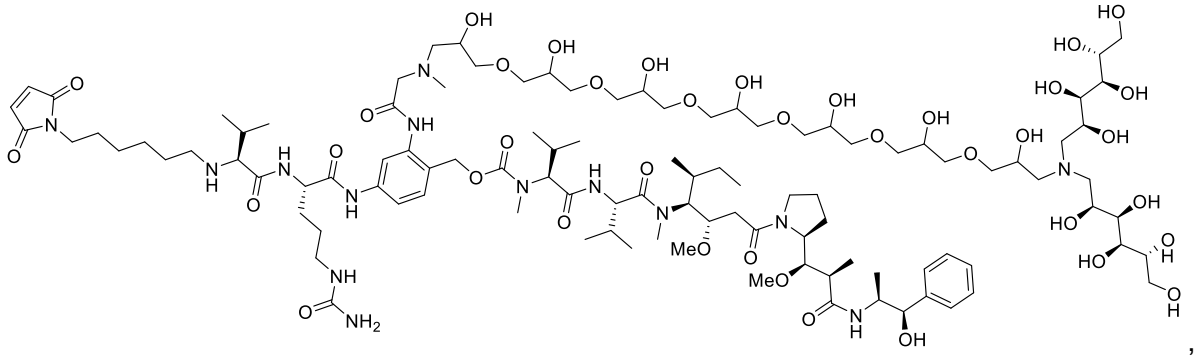
,



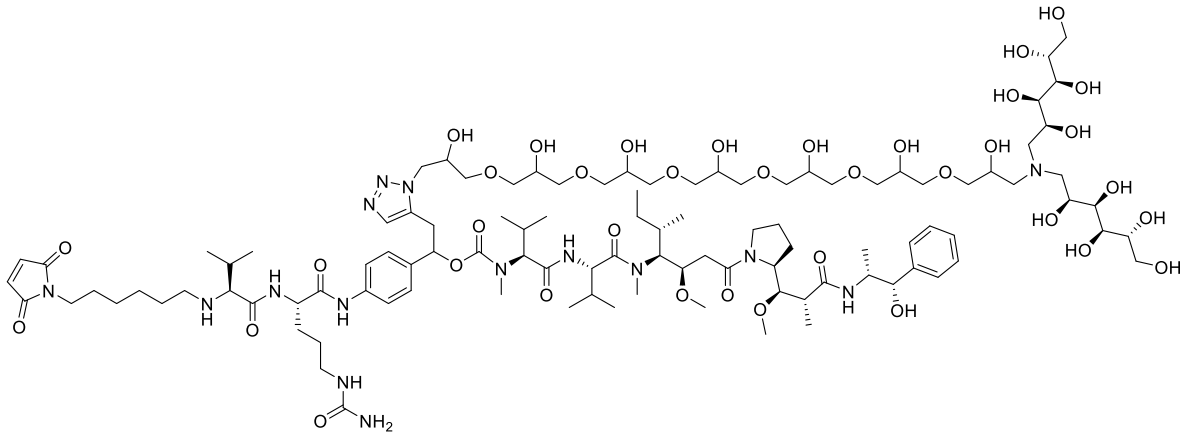
,



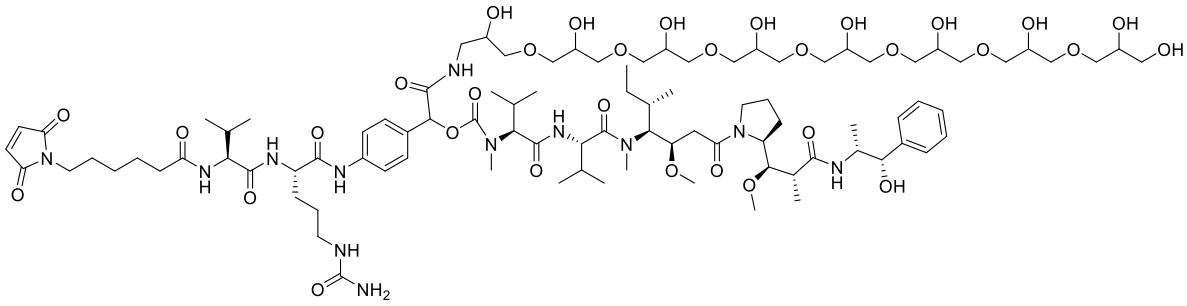
,



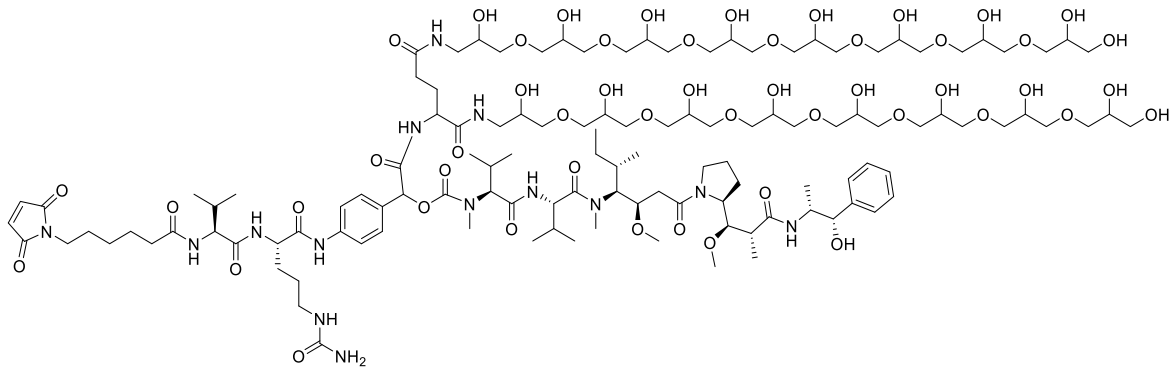
,



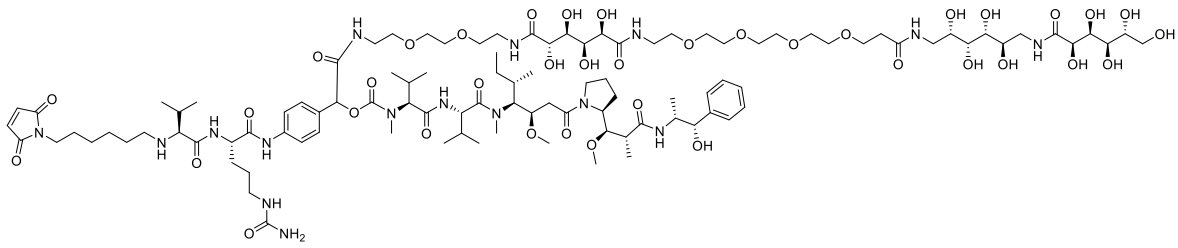
,



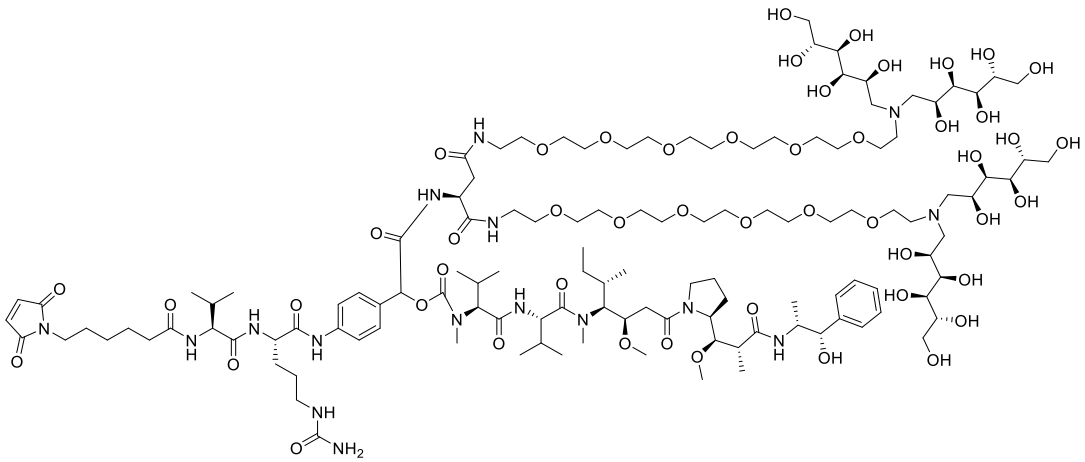
,



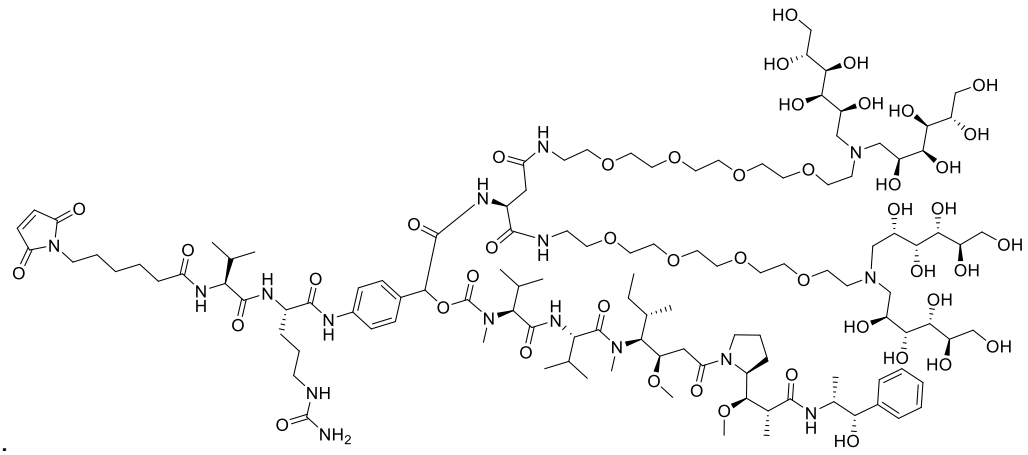
,



,

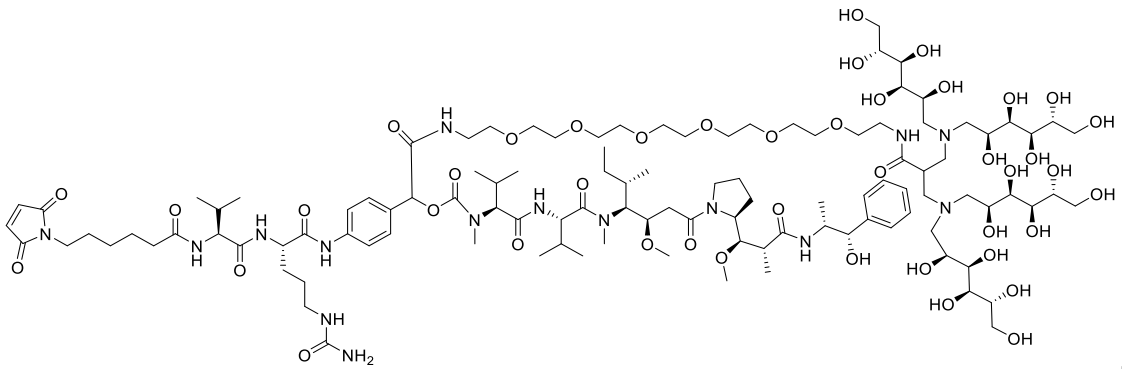


,

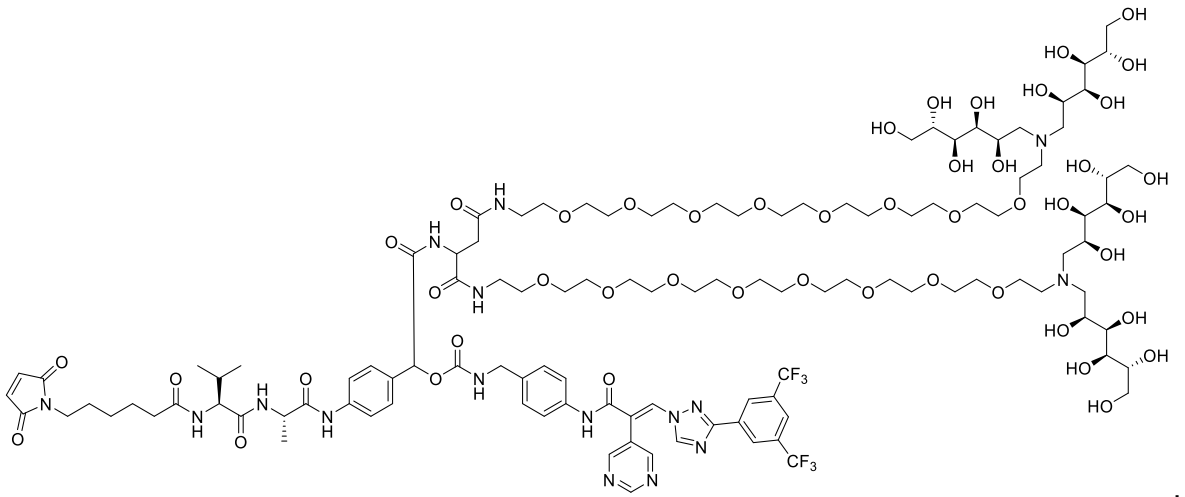


.

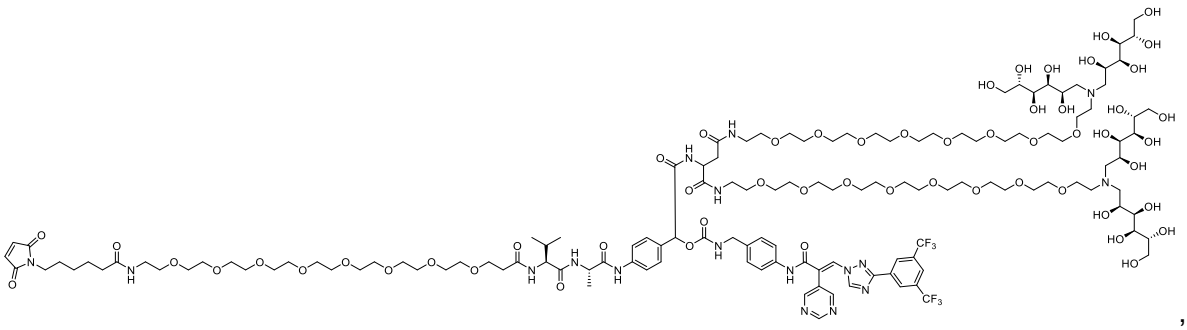
,



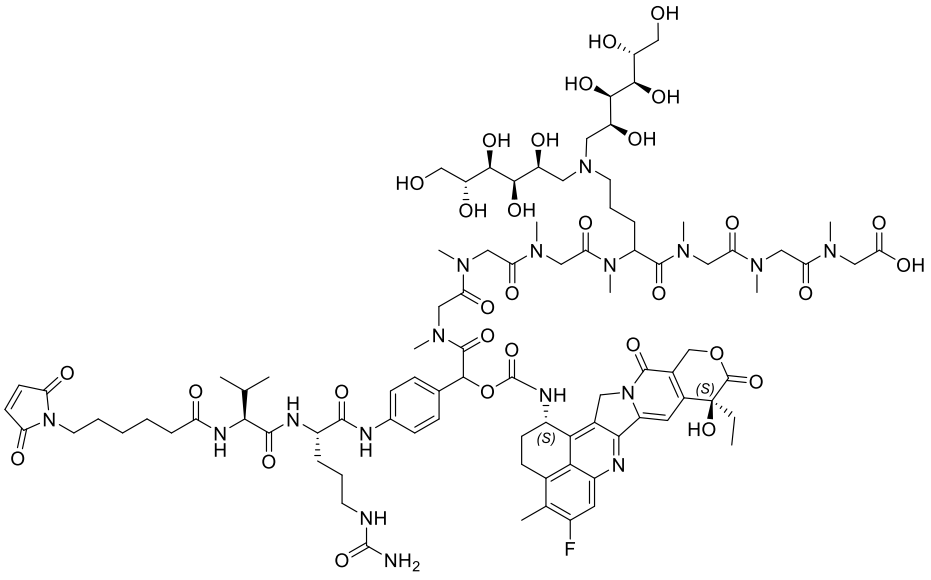
,



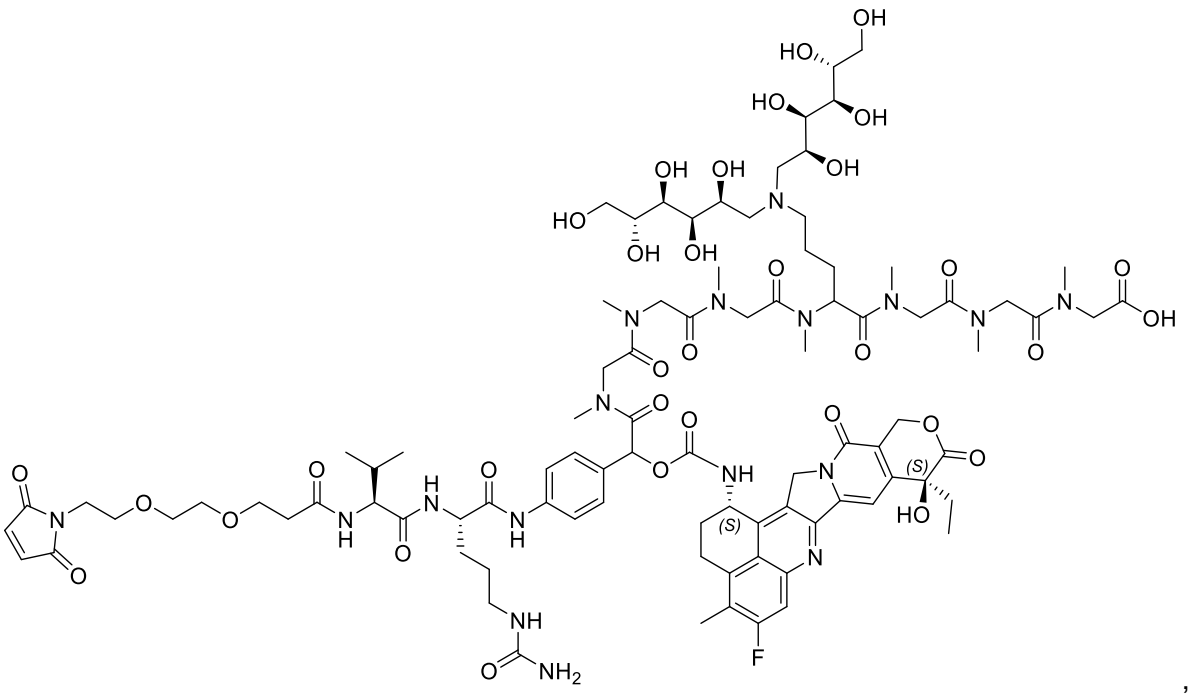
,



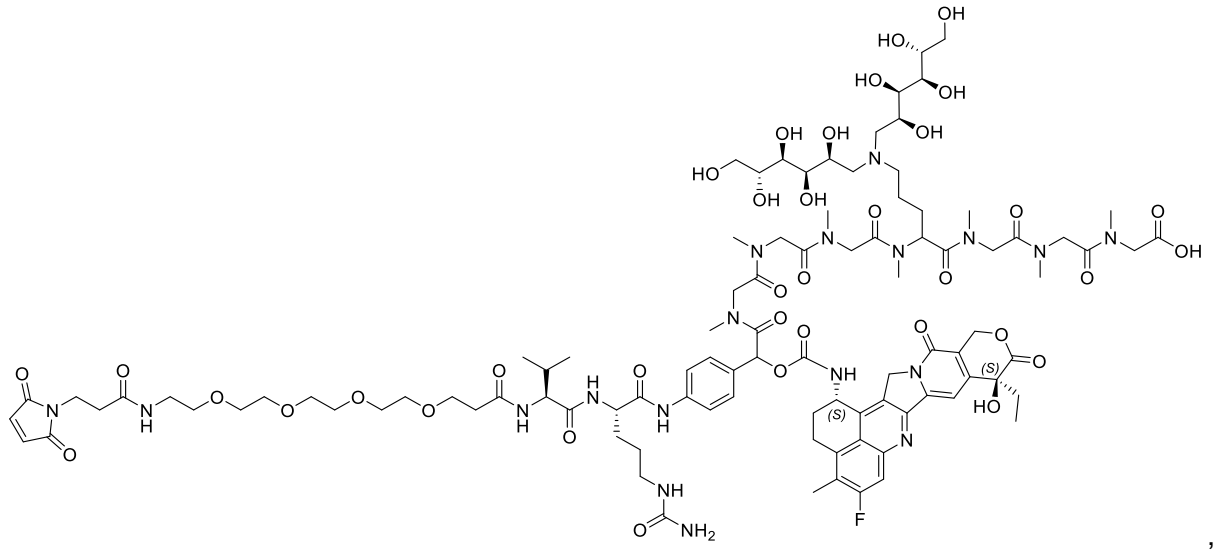
,



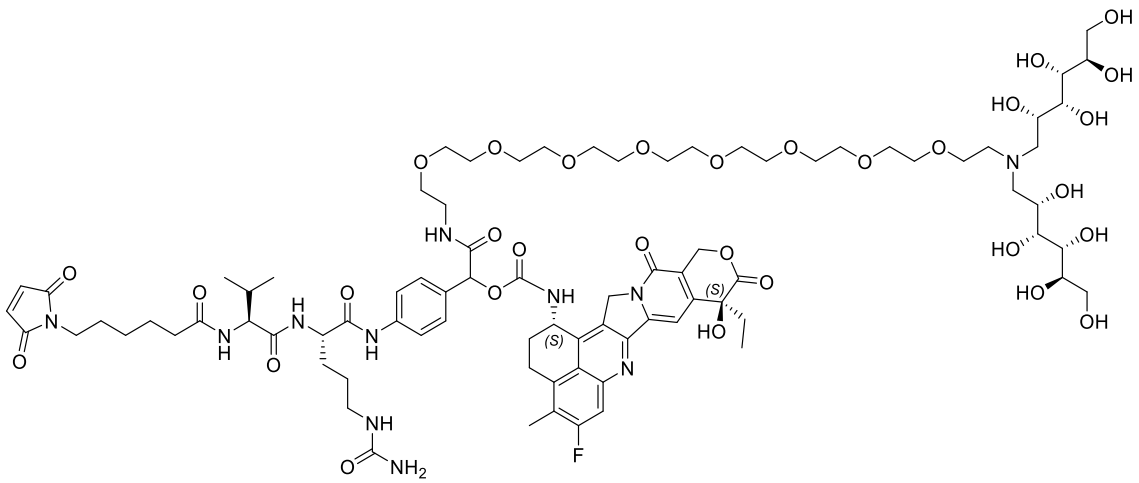
,



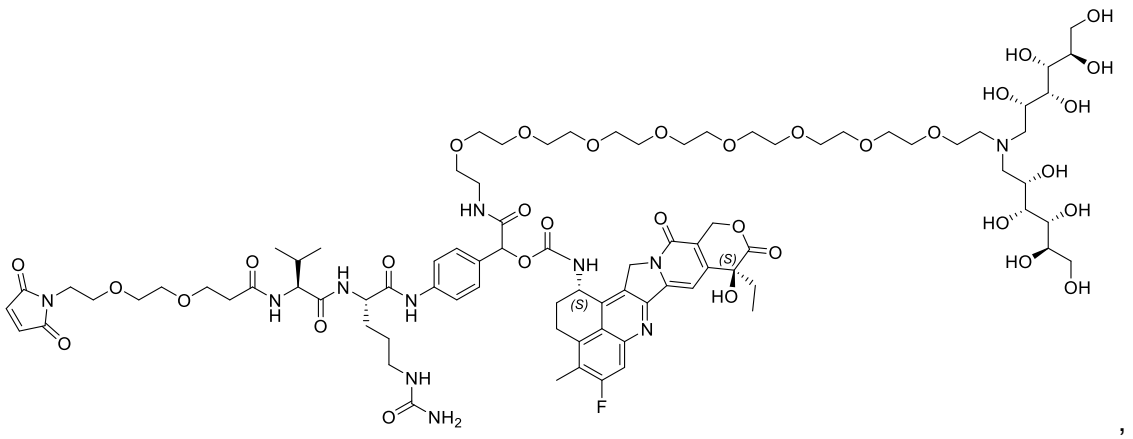
,



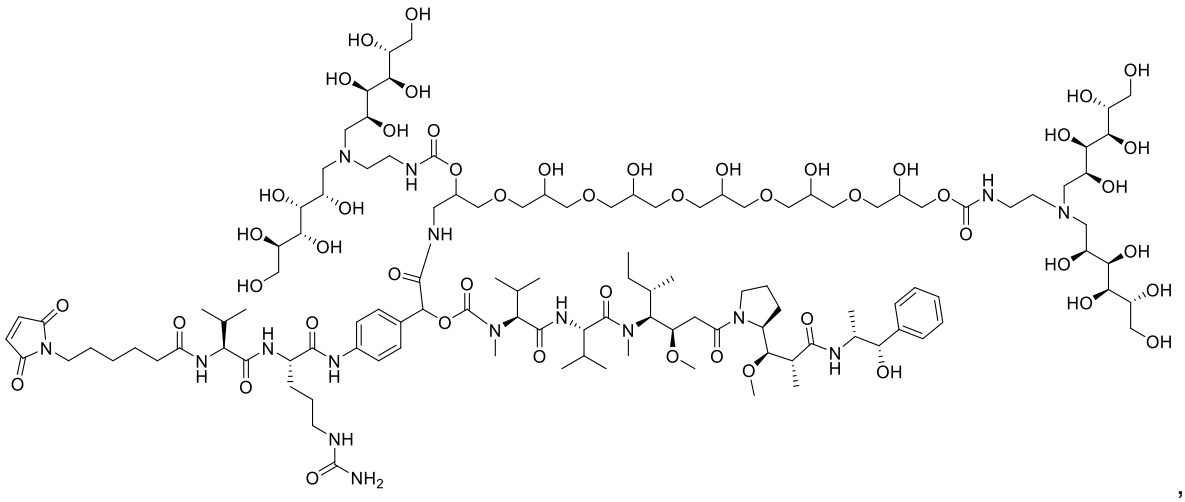
,



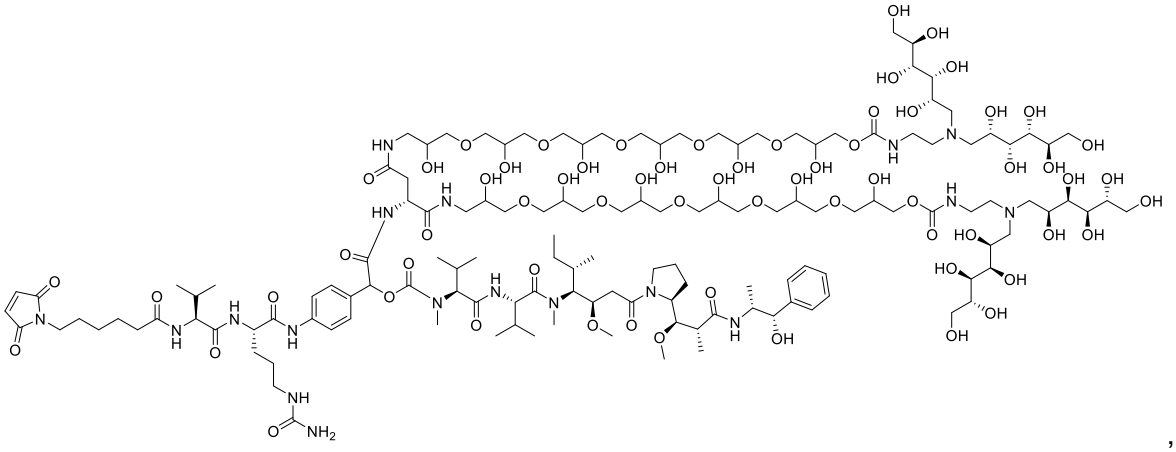
,



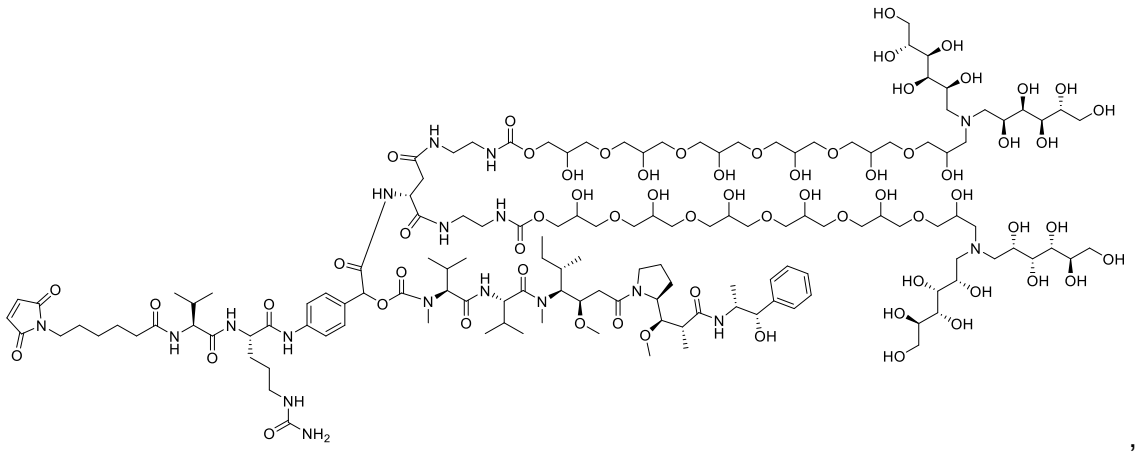
,



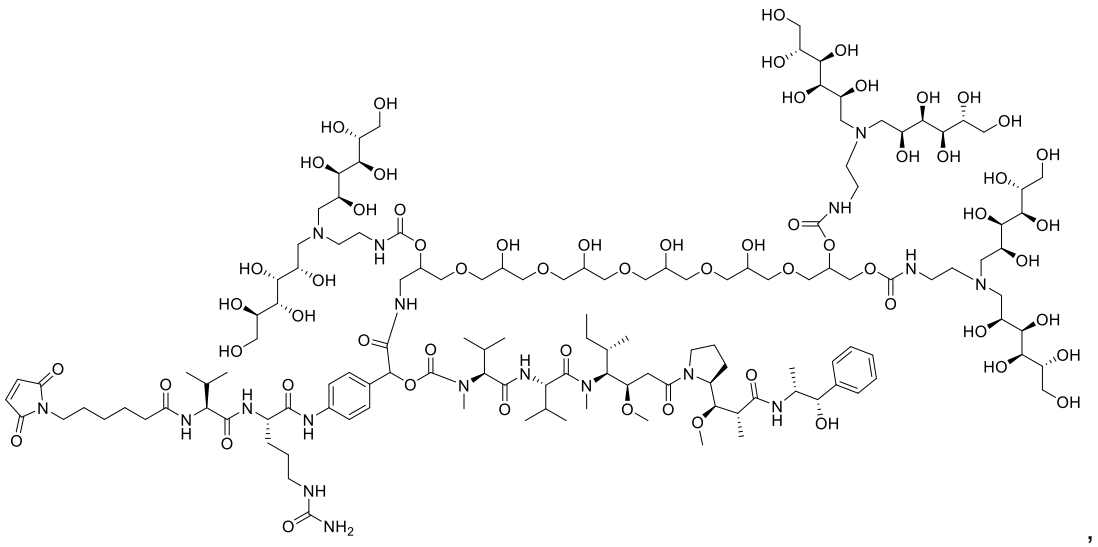
,



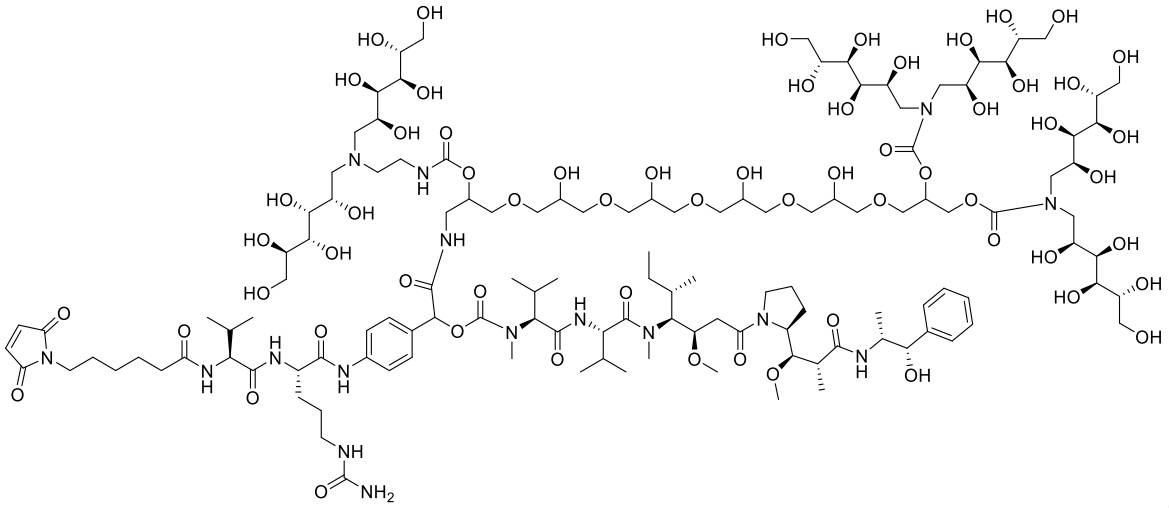
,



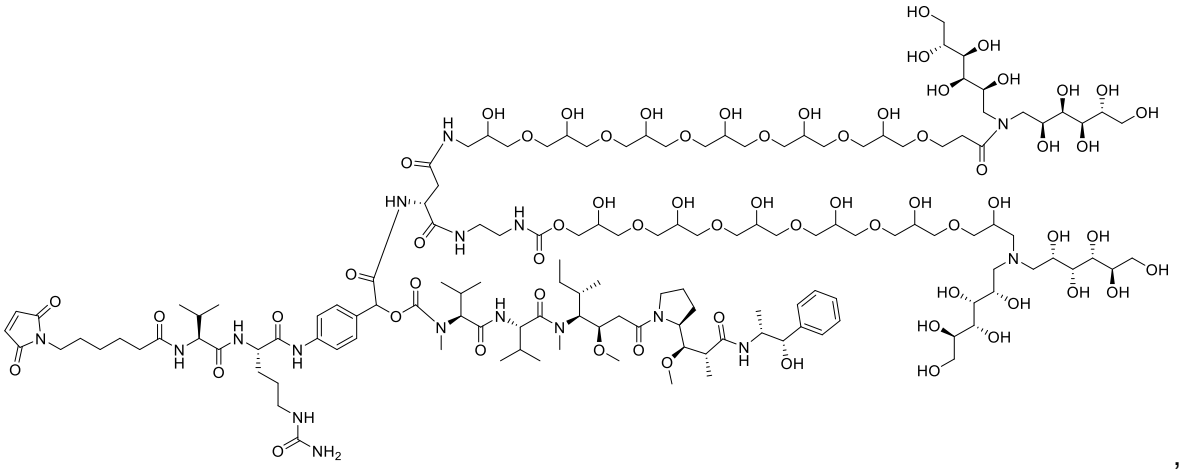
,



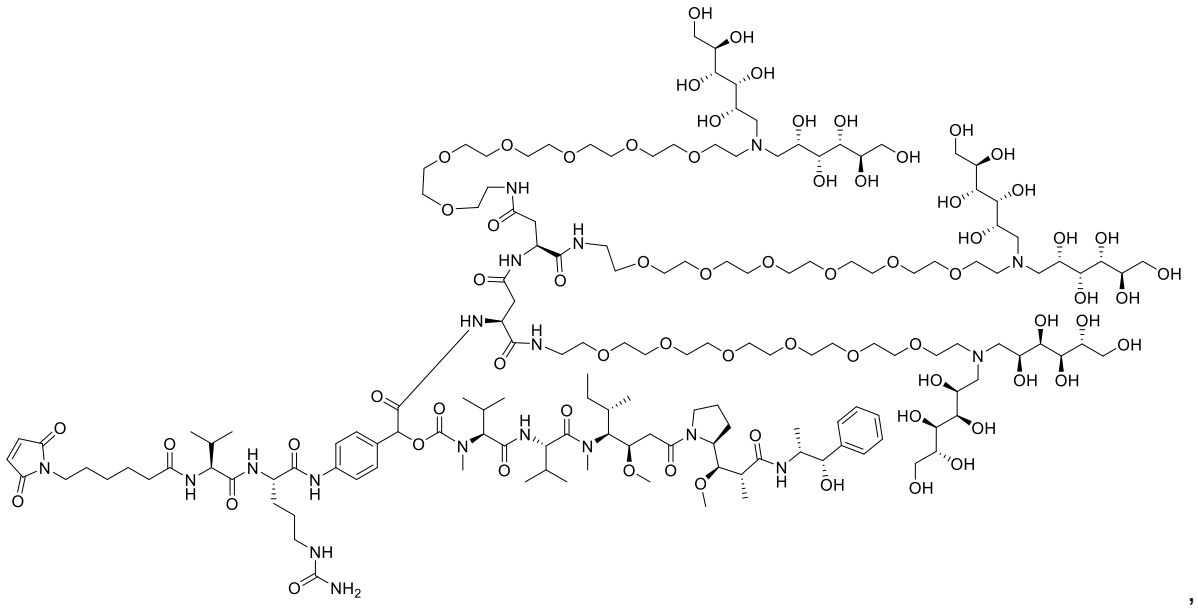
,



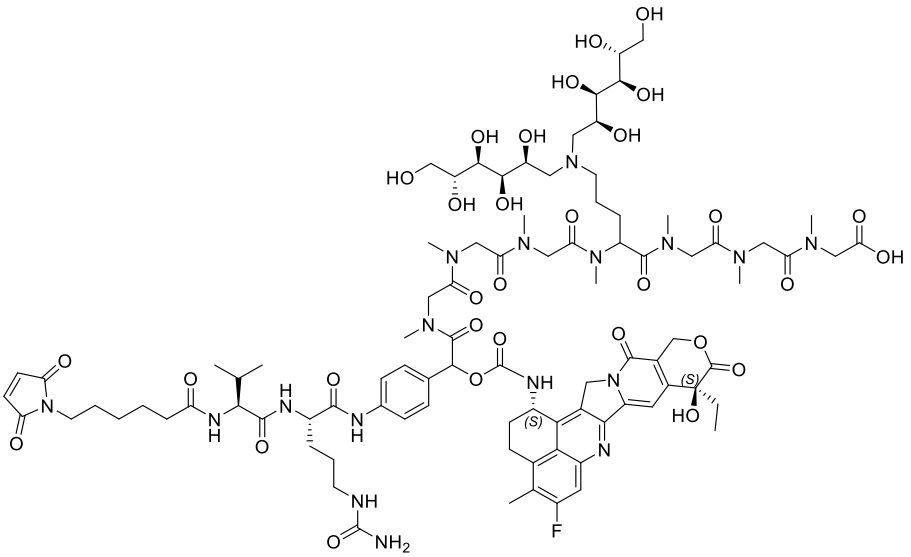
,



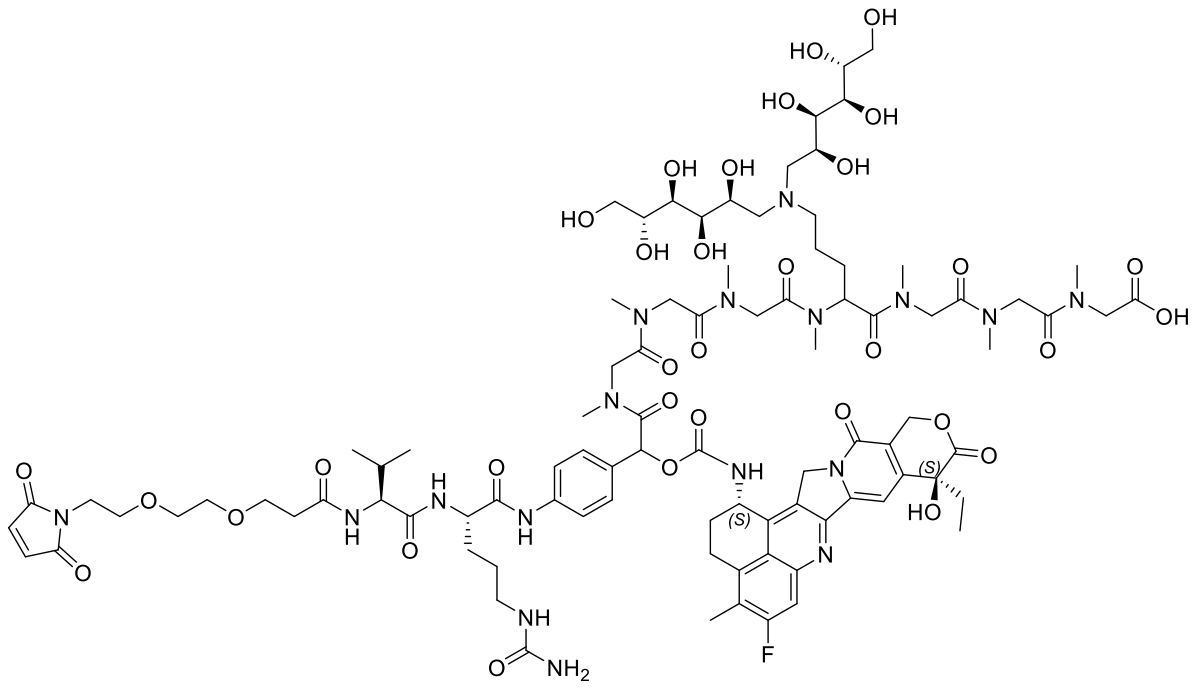
,

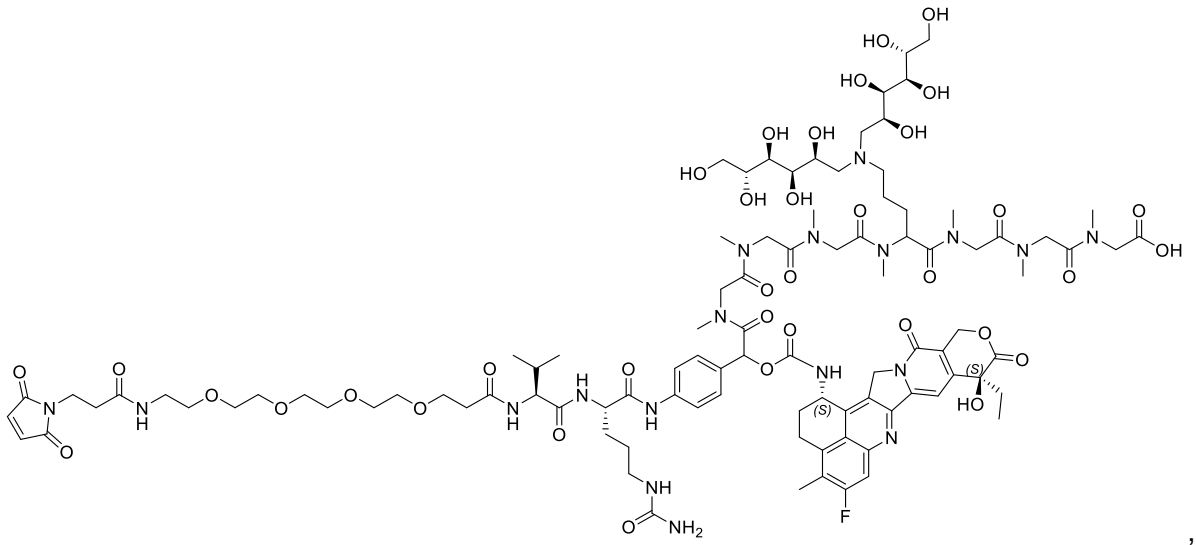


,

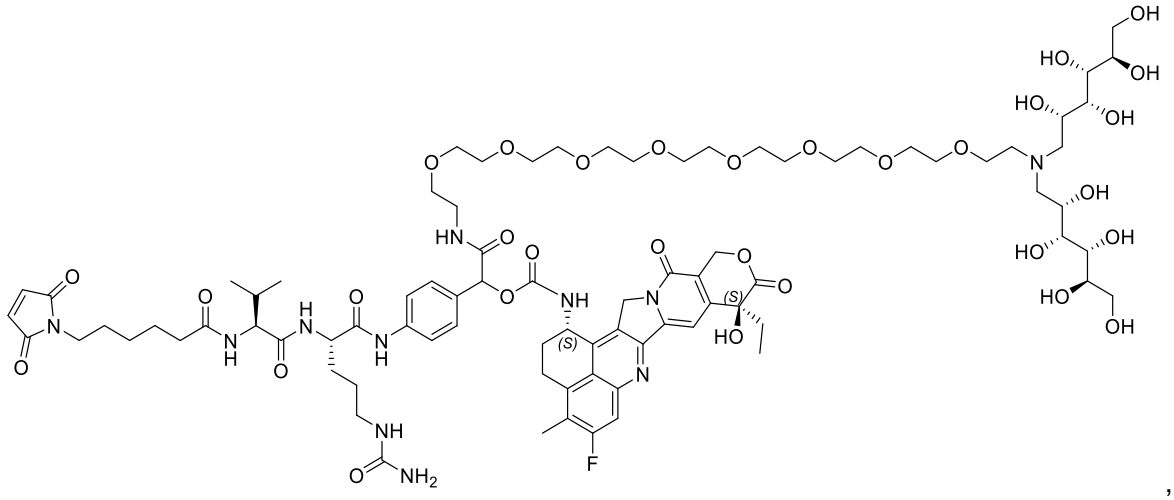


,

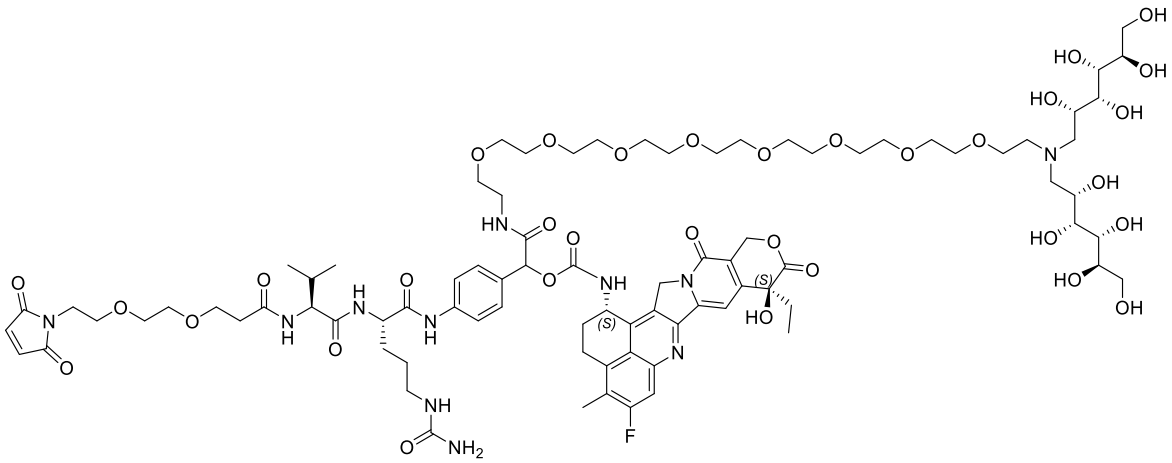




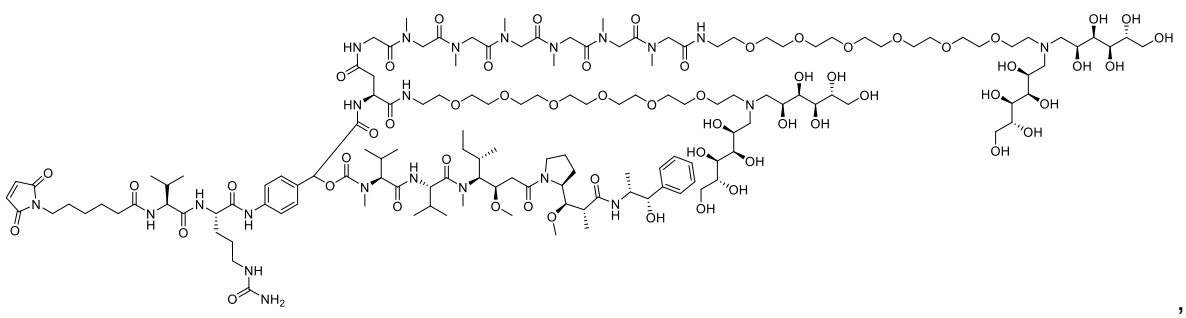
,



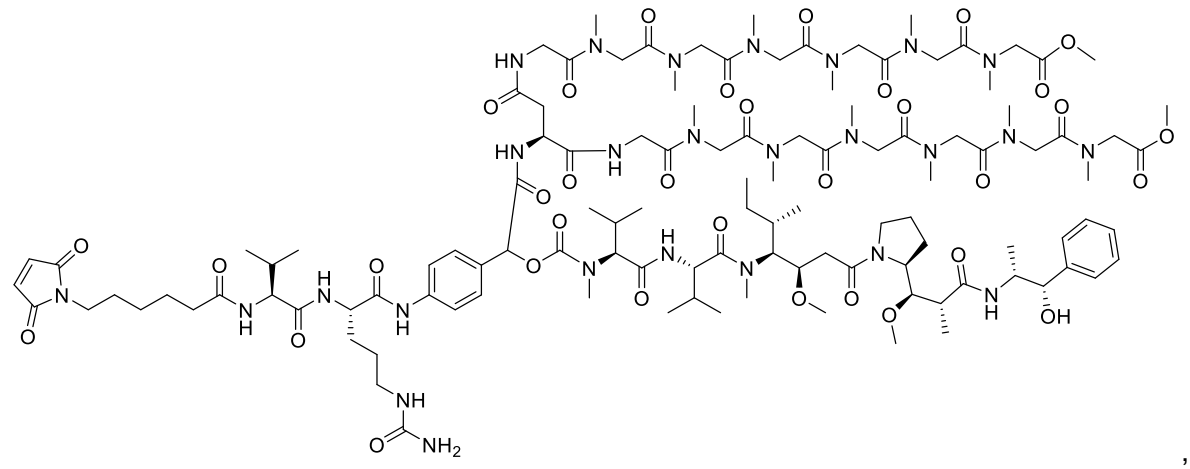
,



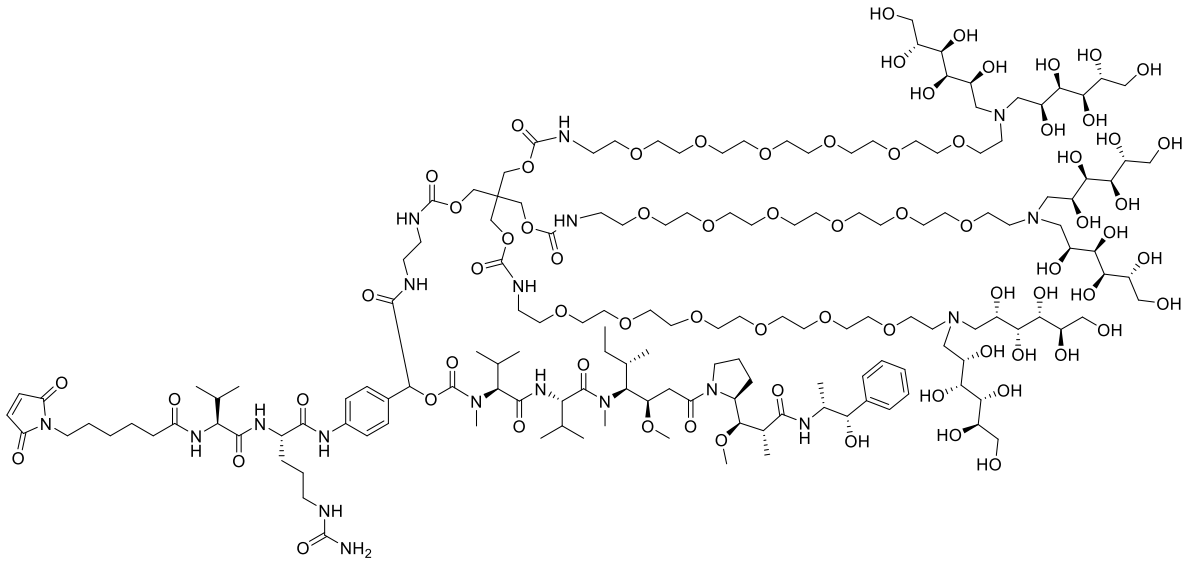
,



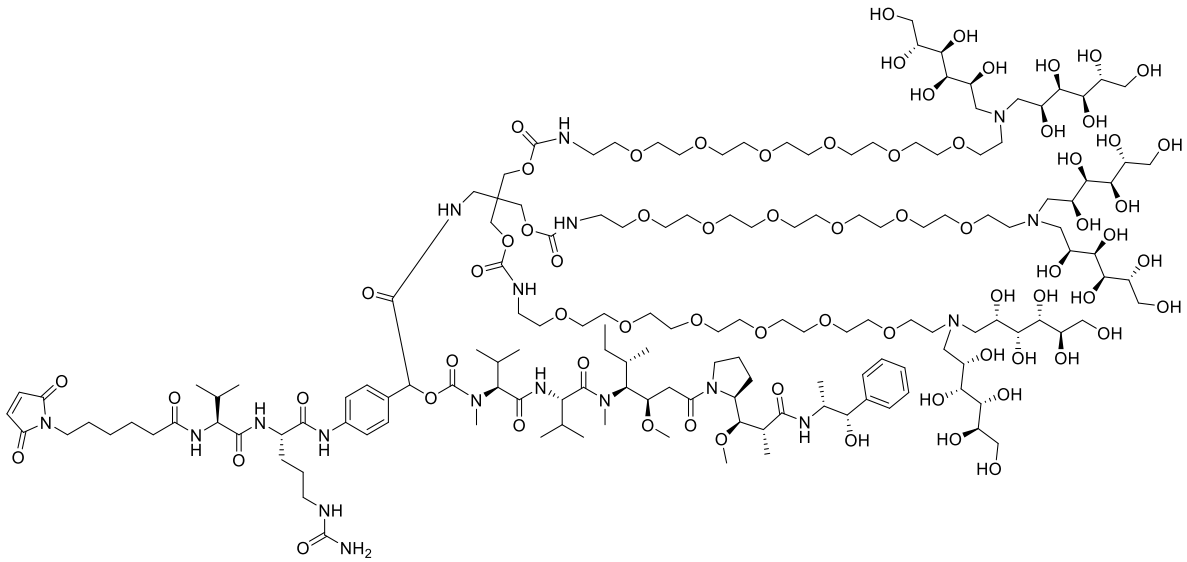
,



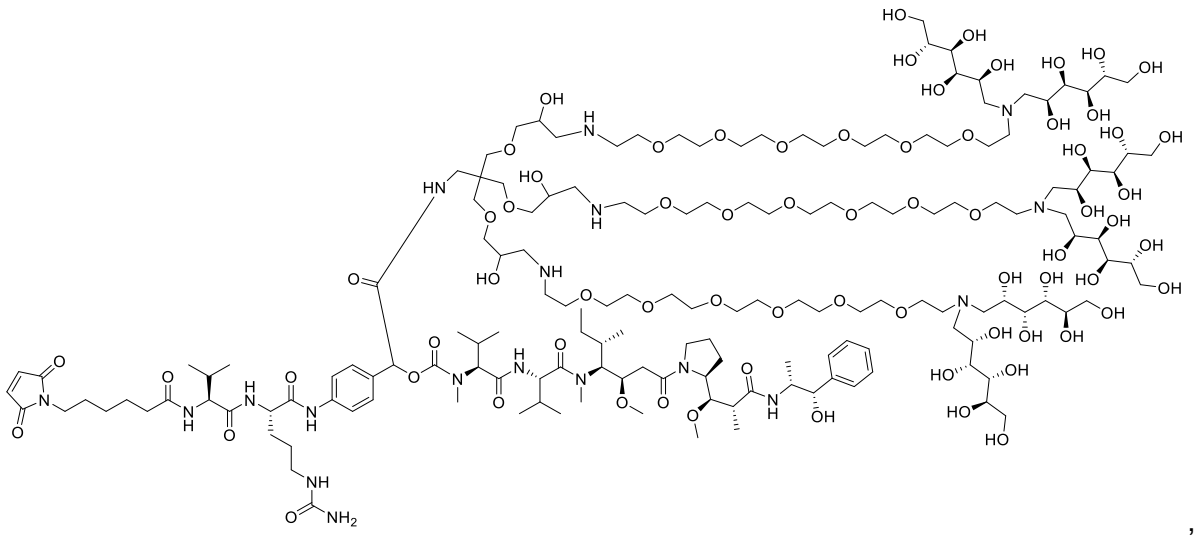
,



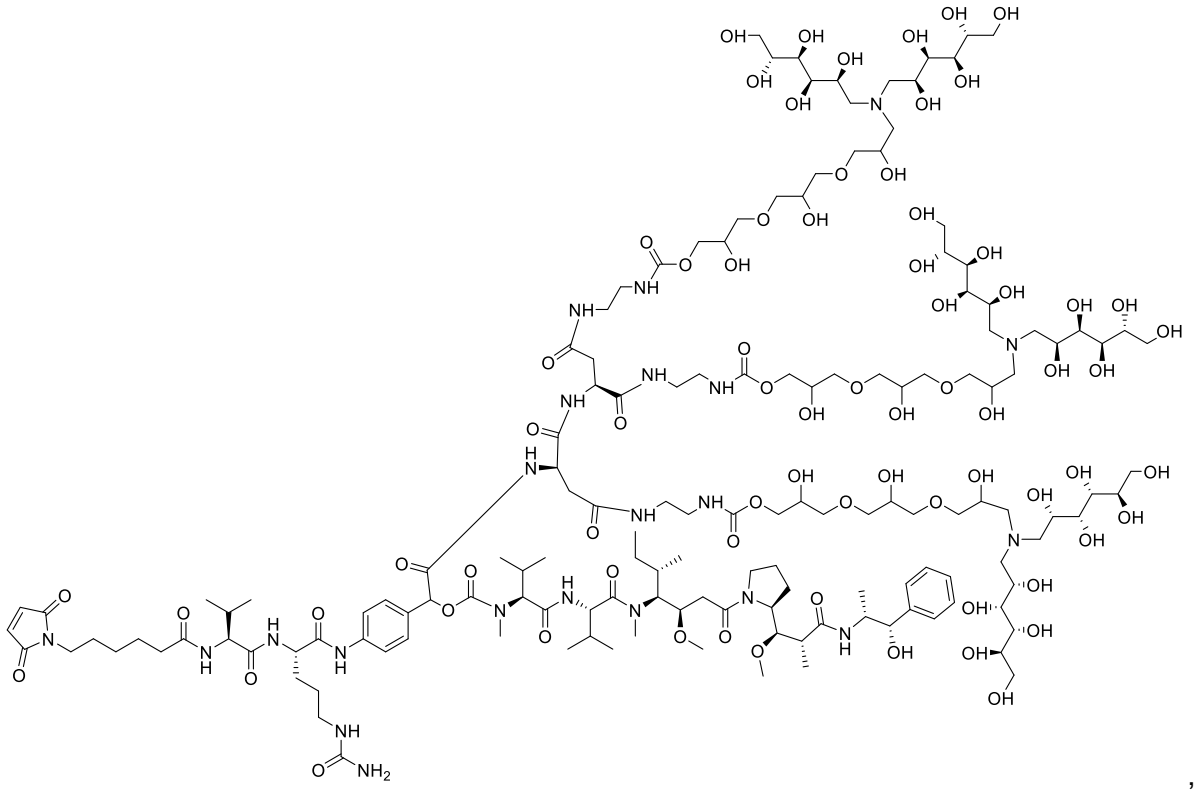
,



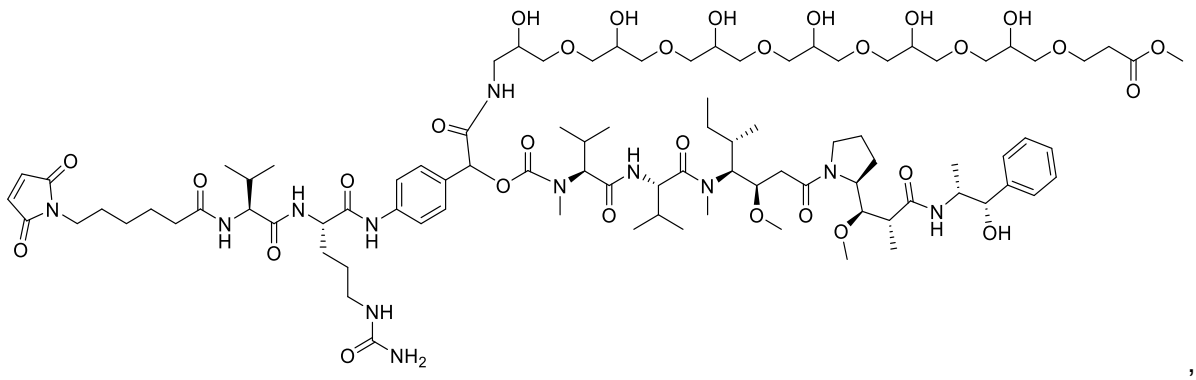
,



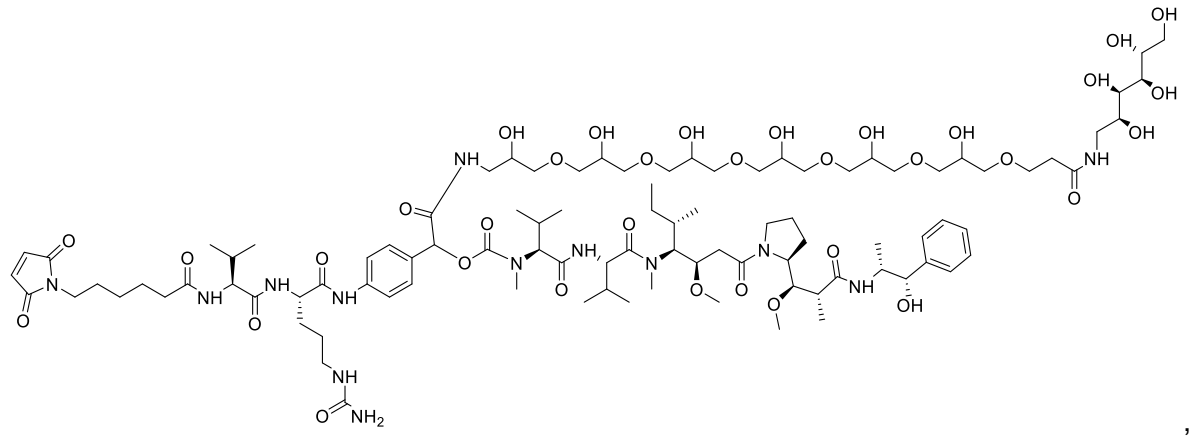
,



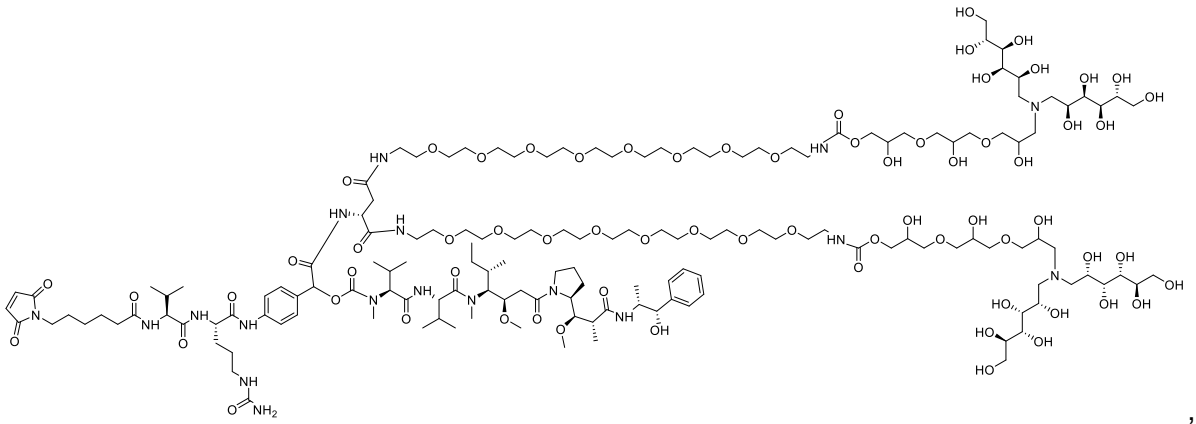
,



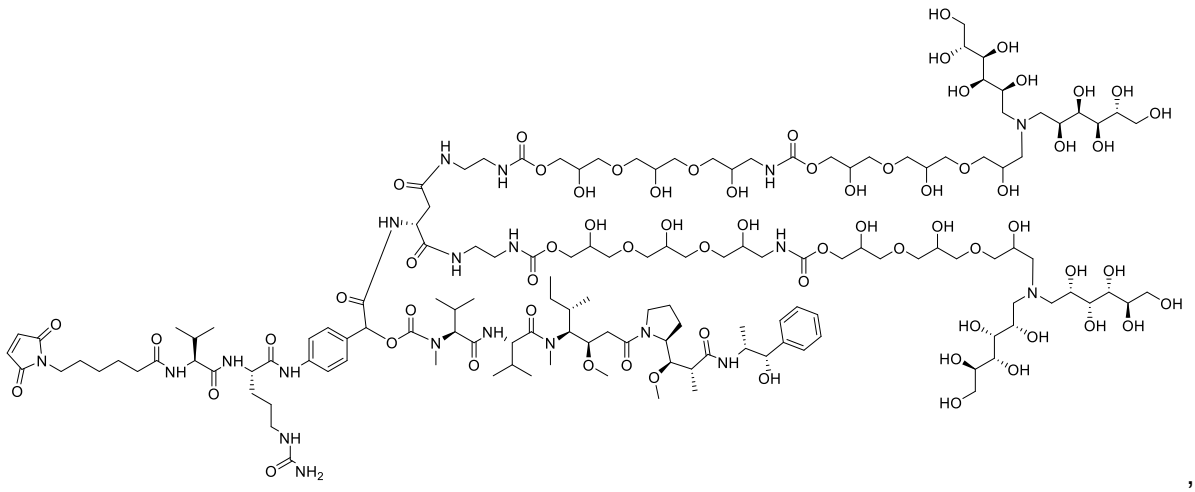
,



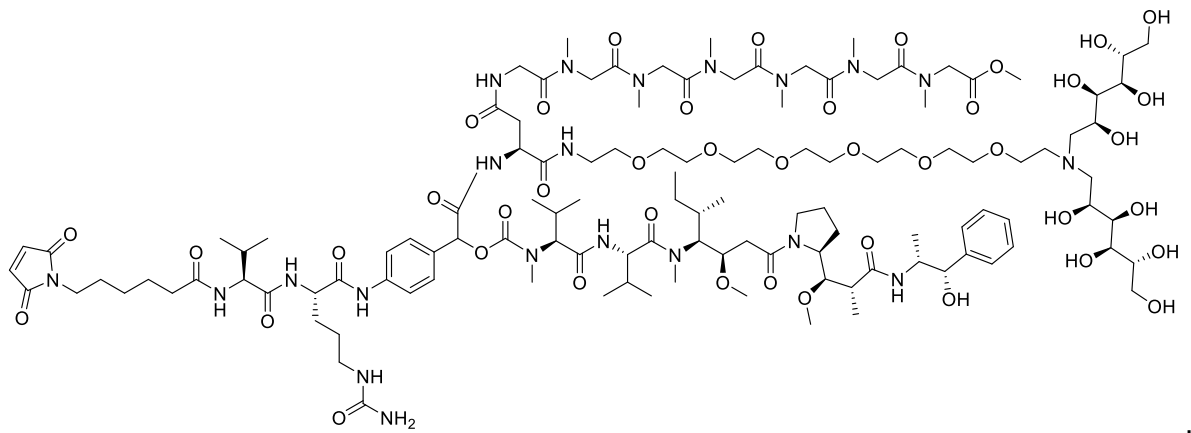
,



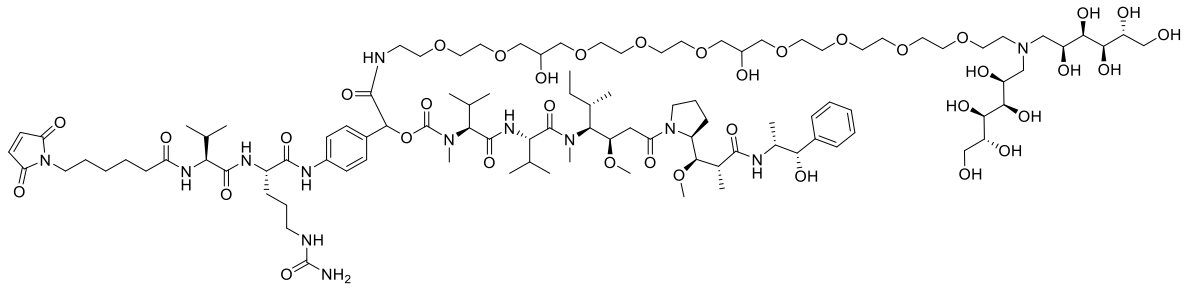
,



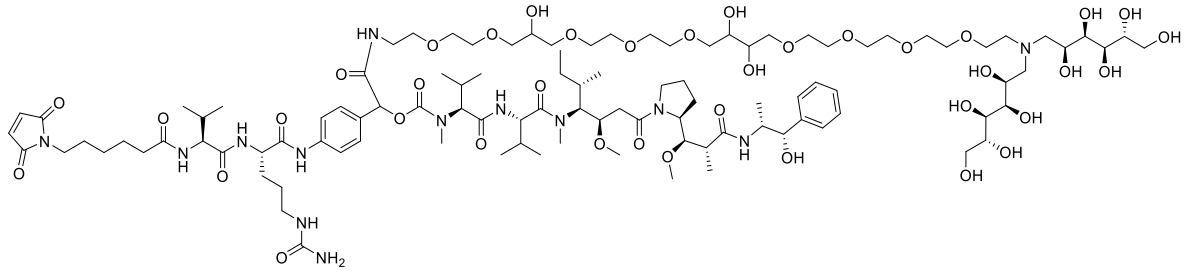
,



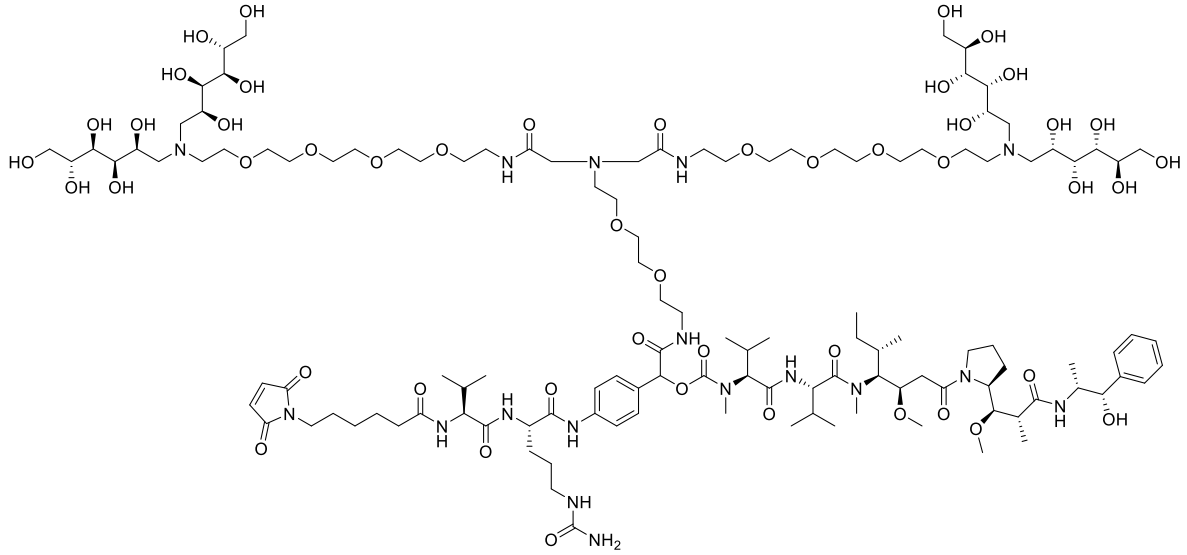
,



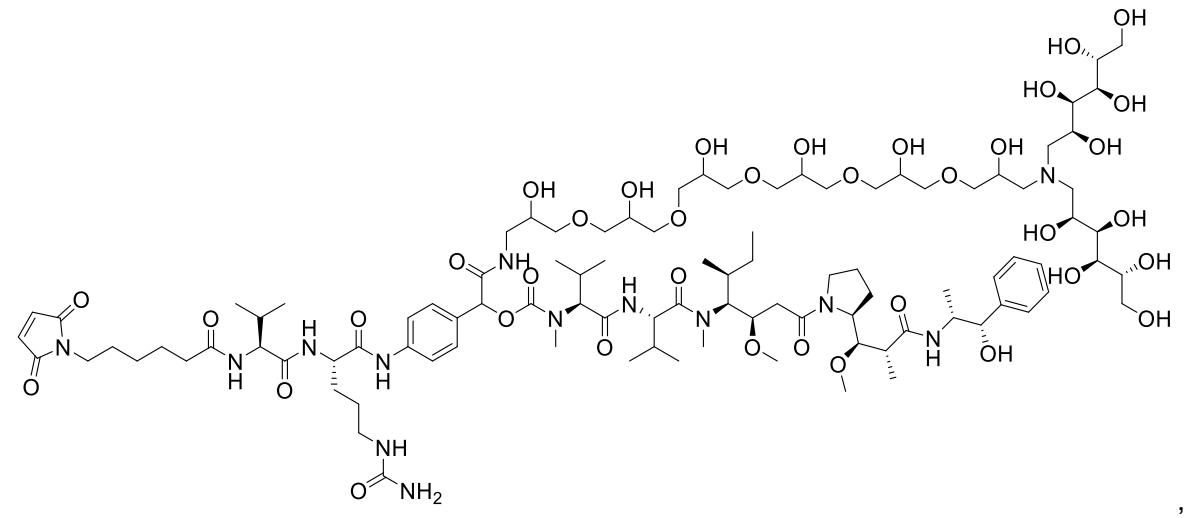
,



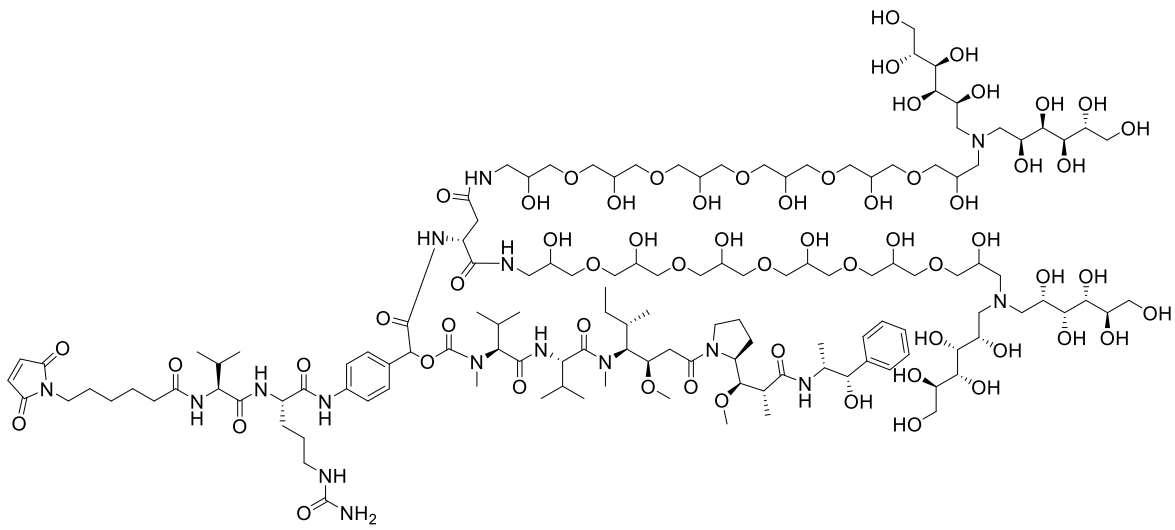
,



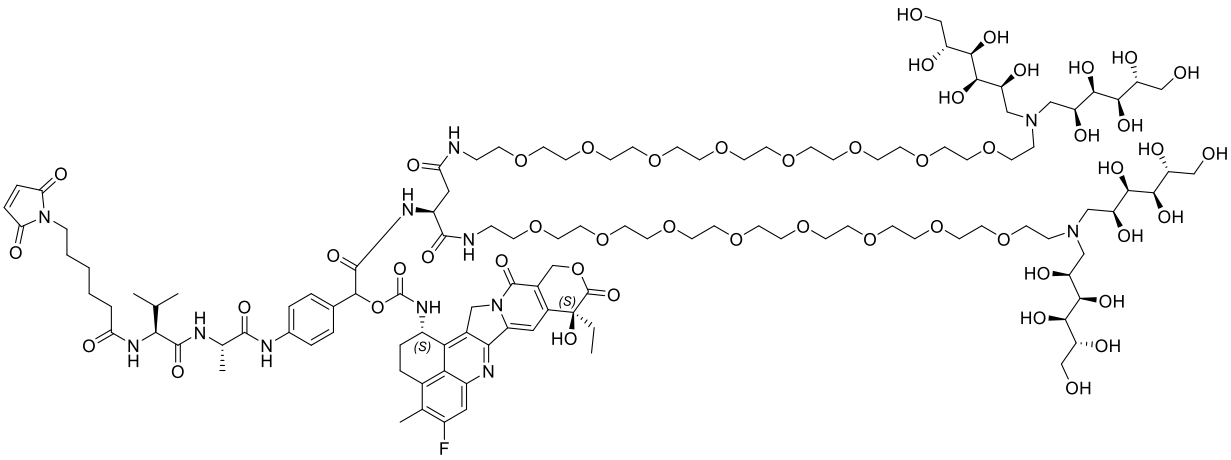
,



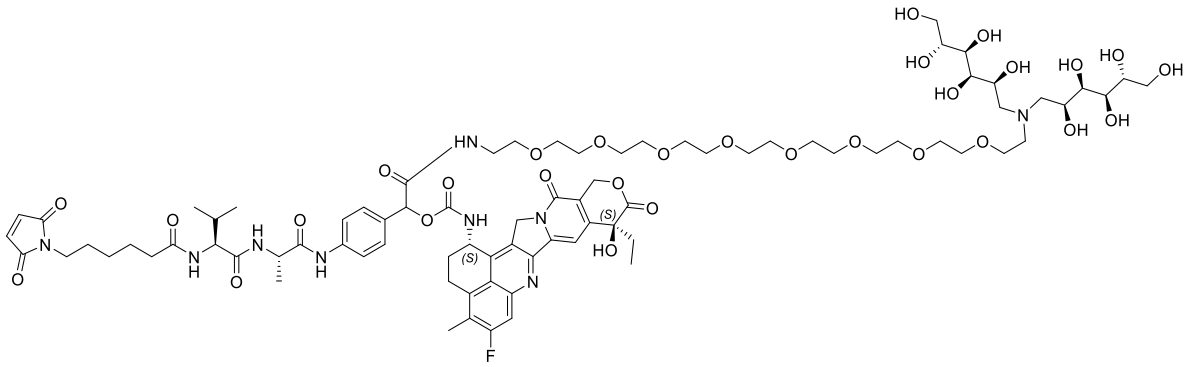
,



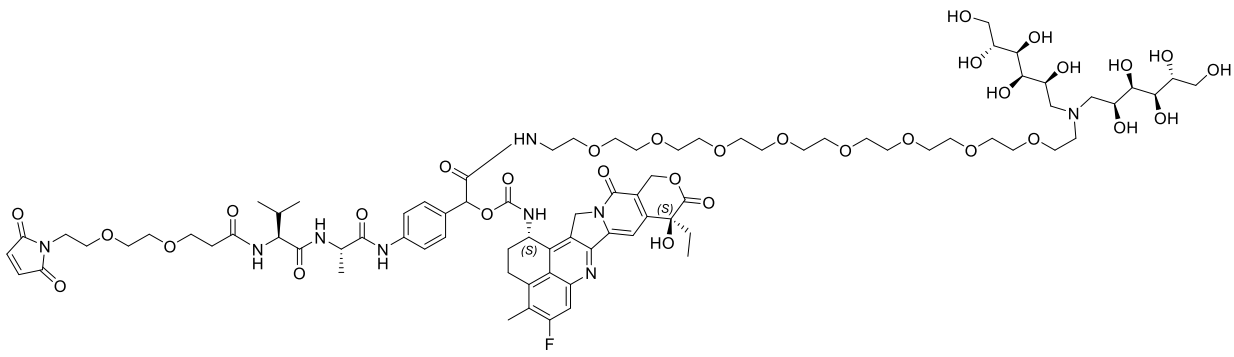
,



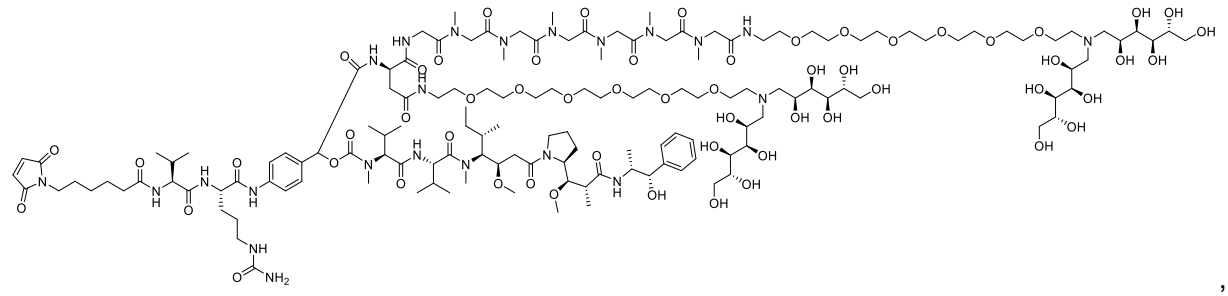
,



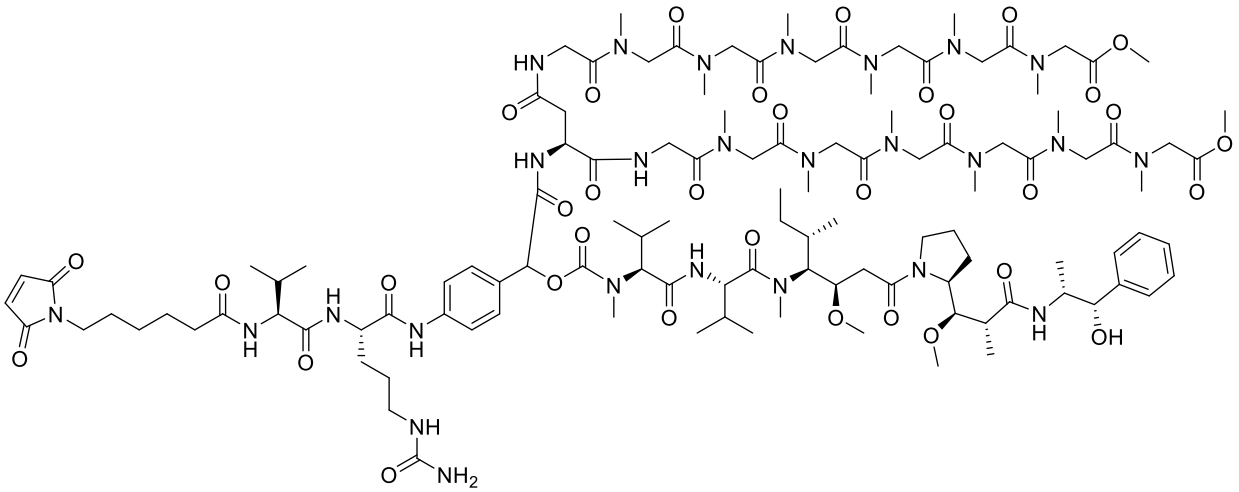
,



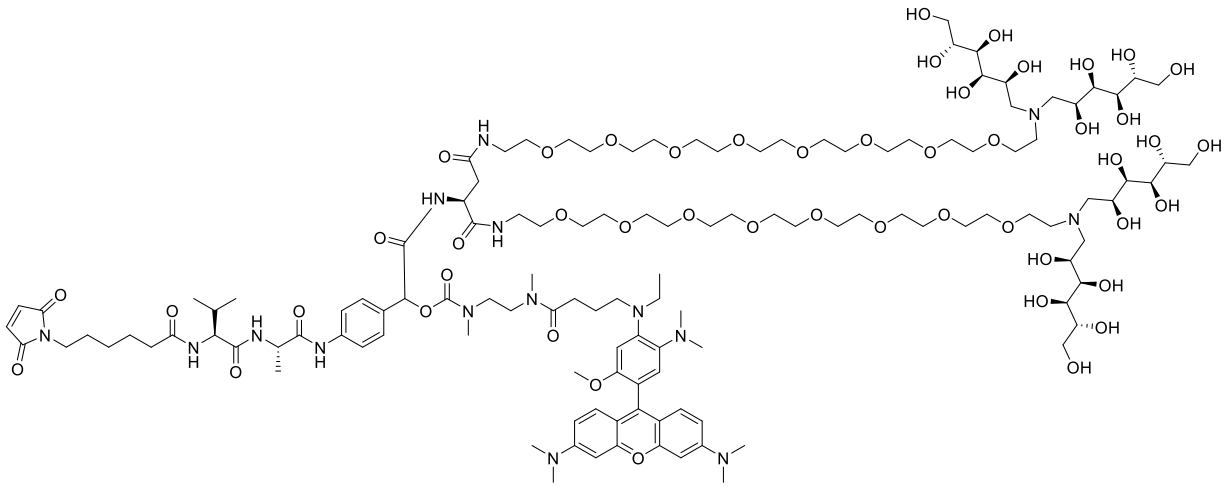
,



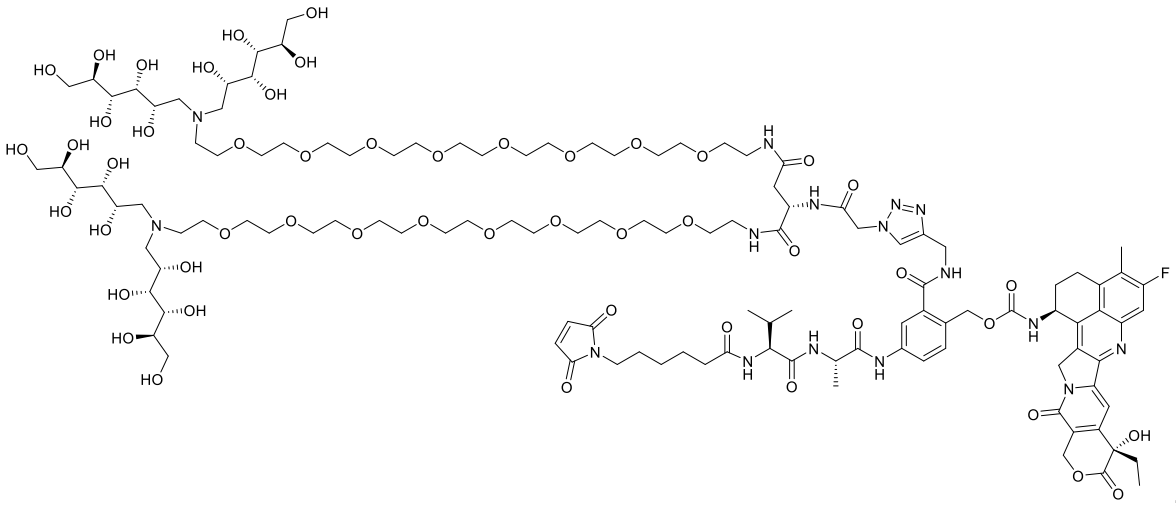
,



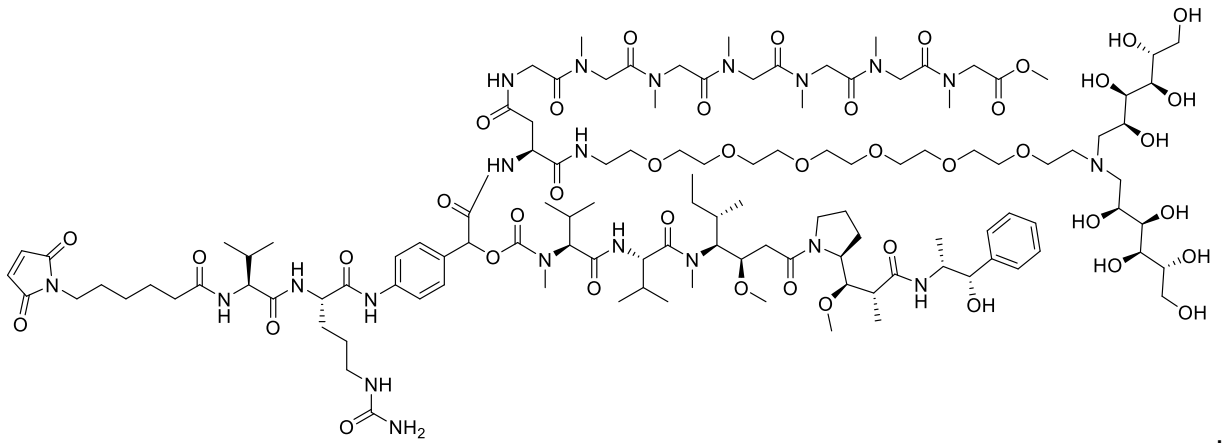
,



,



, o



[461] Forma de realización 109: Un conjugado que comprende un grupo de direccionamiento unido al fármaco-conector de cualquiera de las formas de realización 85 a 108, en donde el grupo de direccionamiento se une específicamente a la molécula diana.

[462] Forma de realización 110: El conjugado de la forma de realización 109, en donde el grupo de direccionamiento se selecciona entre un anticuerpo o una porción de unión a antígeno del mismo.

[463] Forma de realización 111: El conjugado de la forma de realización 110, en donde el grupo de direccionamiento es un anticuerpo monoclonal, un Fab, un Fab', un F(ab'), un Fv, un Fc unido con enlace disulfuro, un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo, un anticuerpo biespecífico o un anticuerpo multiespecífico.

[464] Forma de realización 112: El conjugado de la forma de realización 100, en donde el grupo de direccionamiento es un diacuerpo, DART, una anticalina, un aficuerpo, un avímero, una DARPin o una adnectina.

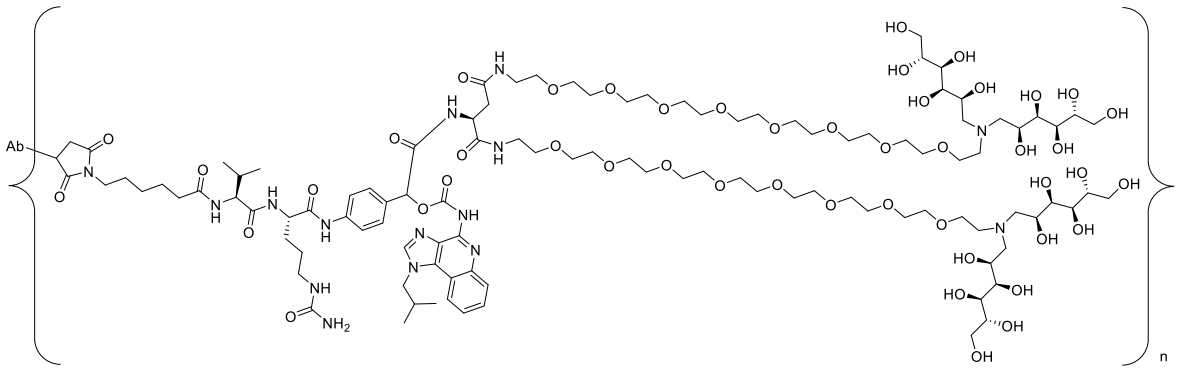
[465] Forma de realización 113: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109 a 112, en donde el grupo de direccionamiento es mono específico.

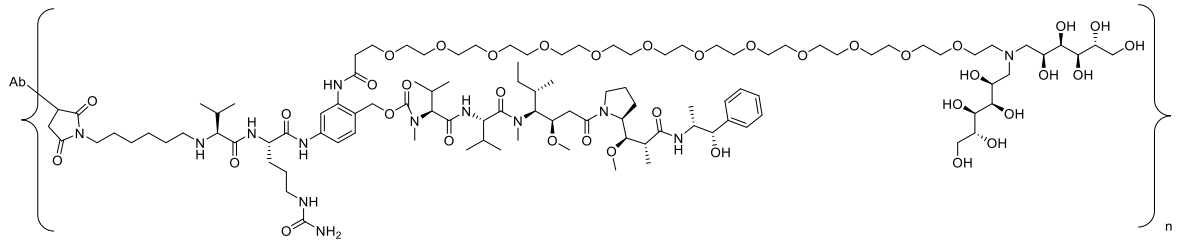
[466] Forma de realización 114: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109 a 113, en donde el grupo de direccionamiento es bivalente.

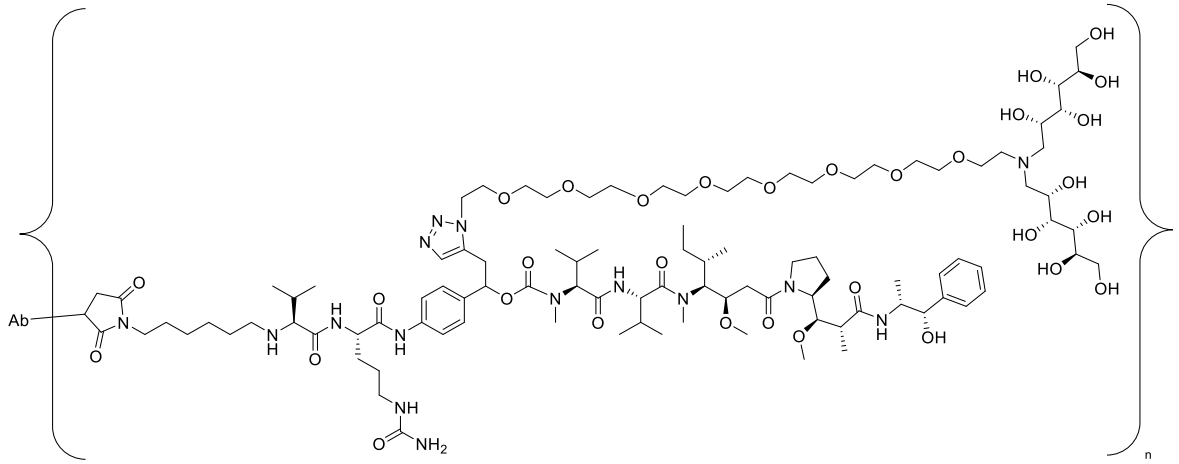
[467] Forma de realización 115: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109 a 112, en donde el grupo de direccionamiento es biespecífico.

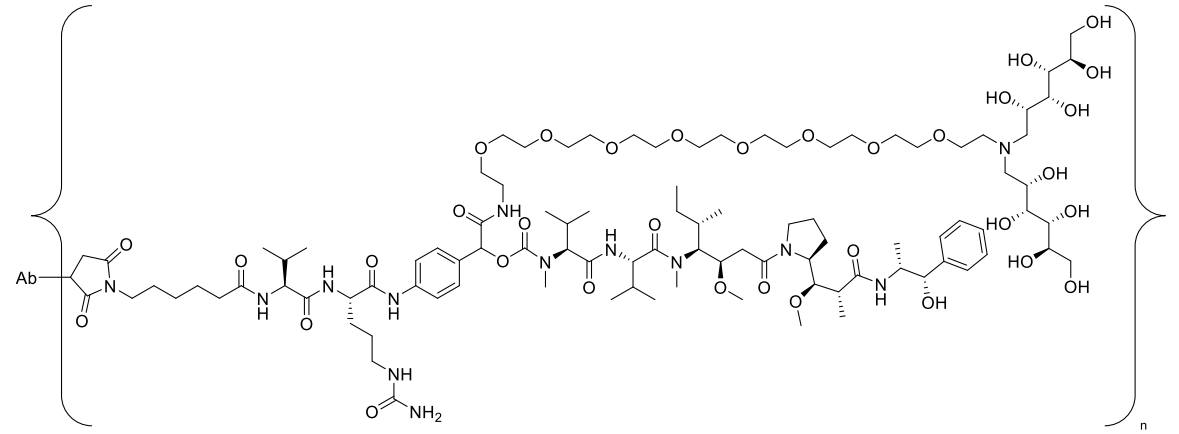
[468] Forma de realización 116: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109 a 115, en donde el nivel promedio de fármaco (p^{carga}) en el conjugado comprende entre aproximadamente 1 y aproximadamente 8, aproximadamente 2, aproximadamente 4, aproximadamente 6, aproximadamente 8, aproximadamente 10, aproximadamente 12, aproximadamente 14, aproximadamente 16, entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8 o entre aproximadamente 8 y aproximadamente 16.

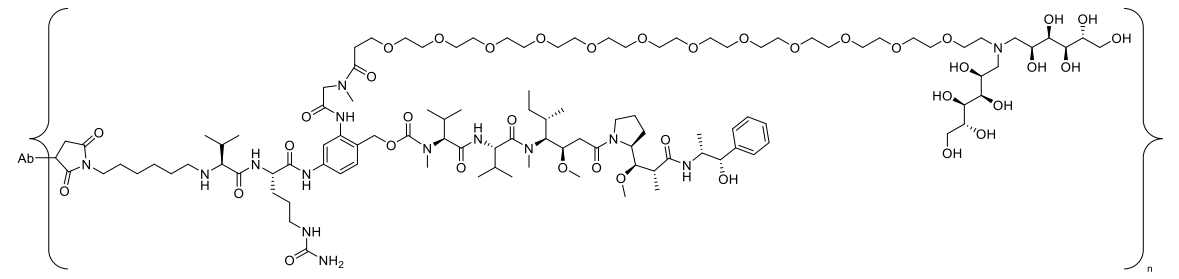
[469] Forma de realización 117: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109-116, que se selecciona entre los siguientes:

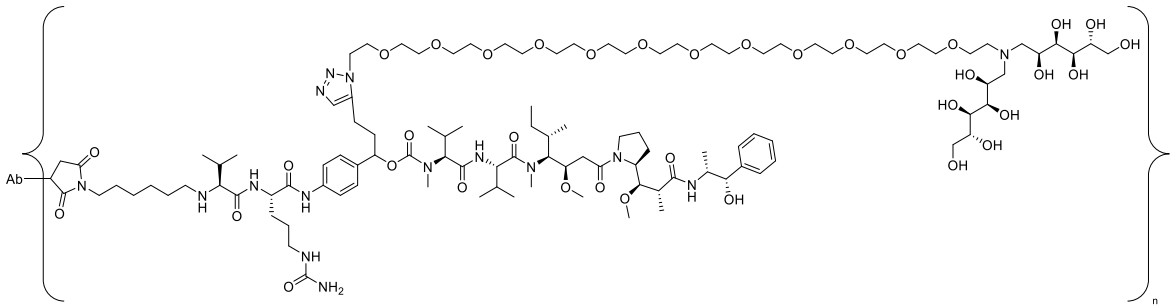


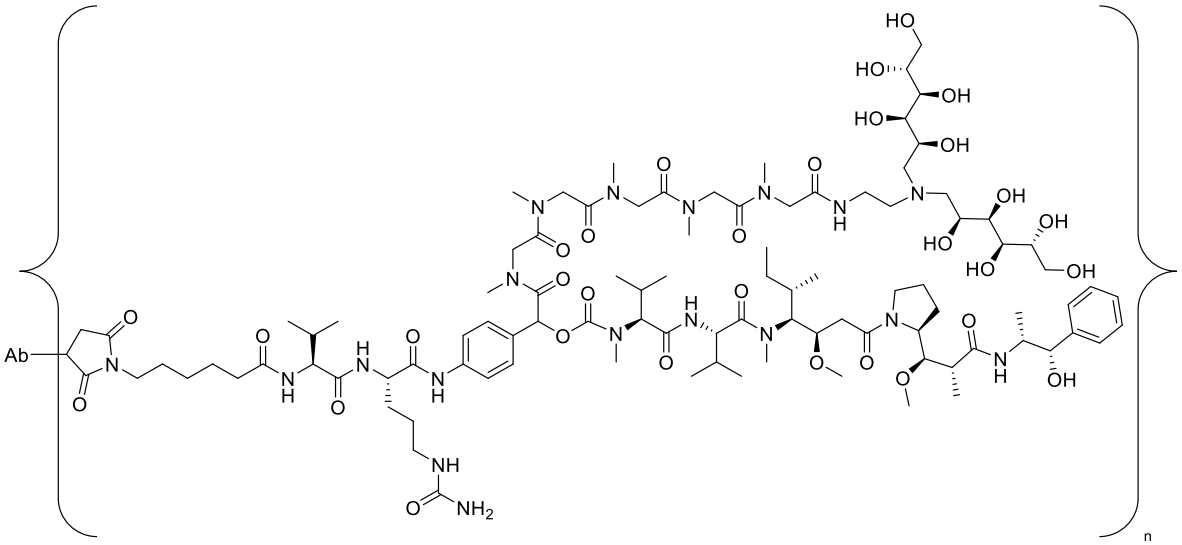


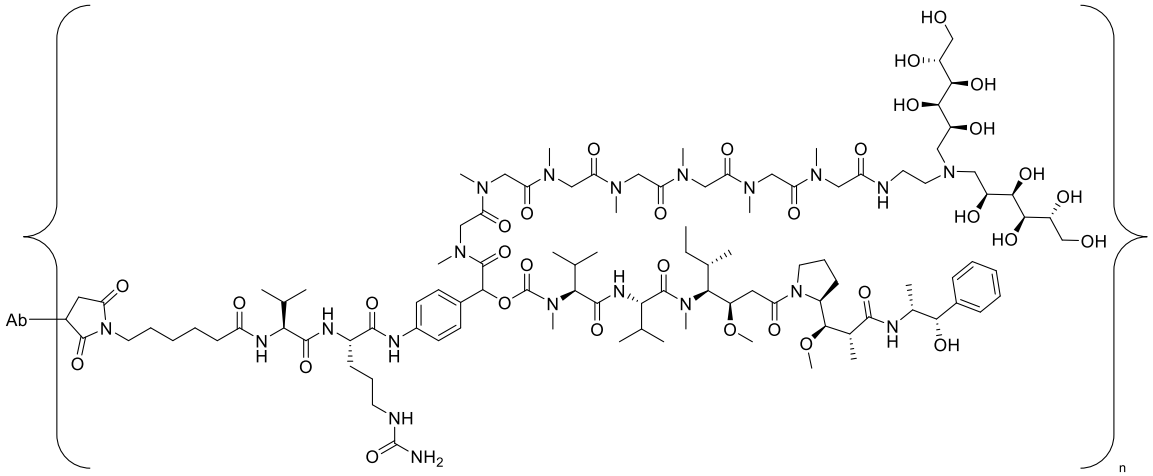


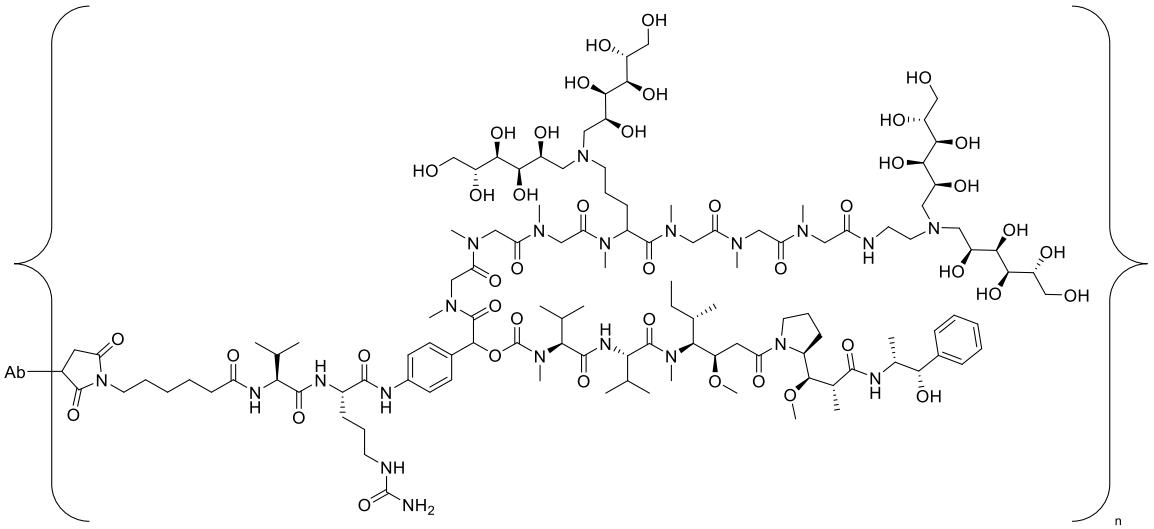


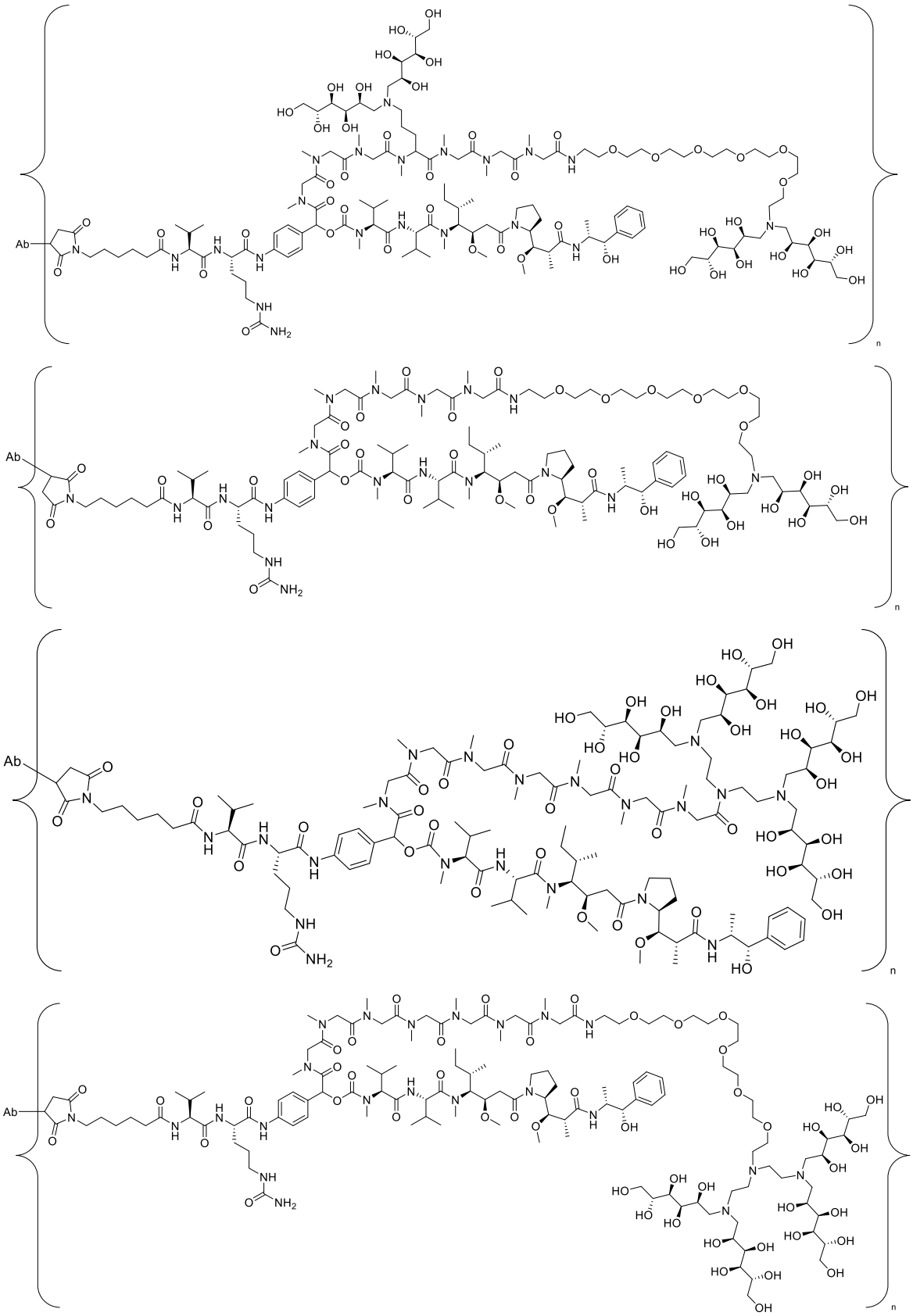


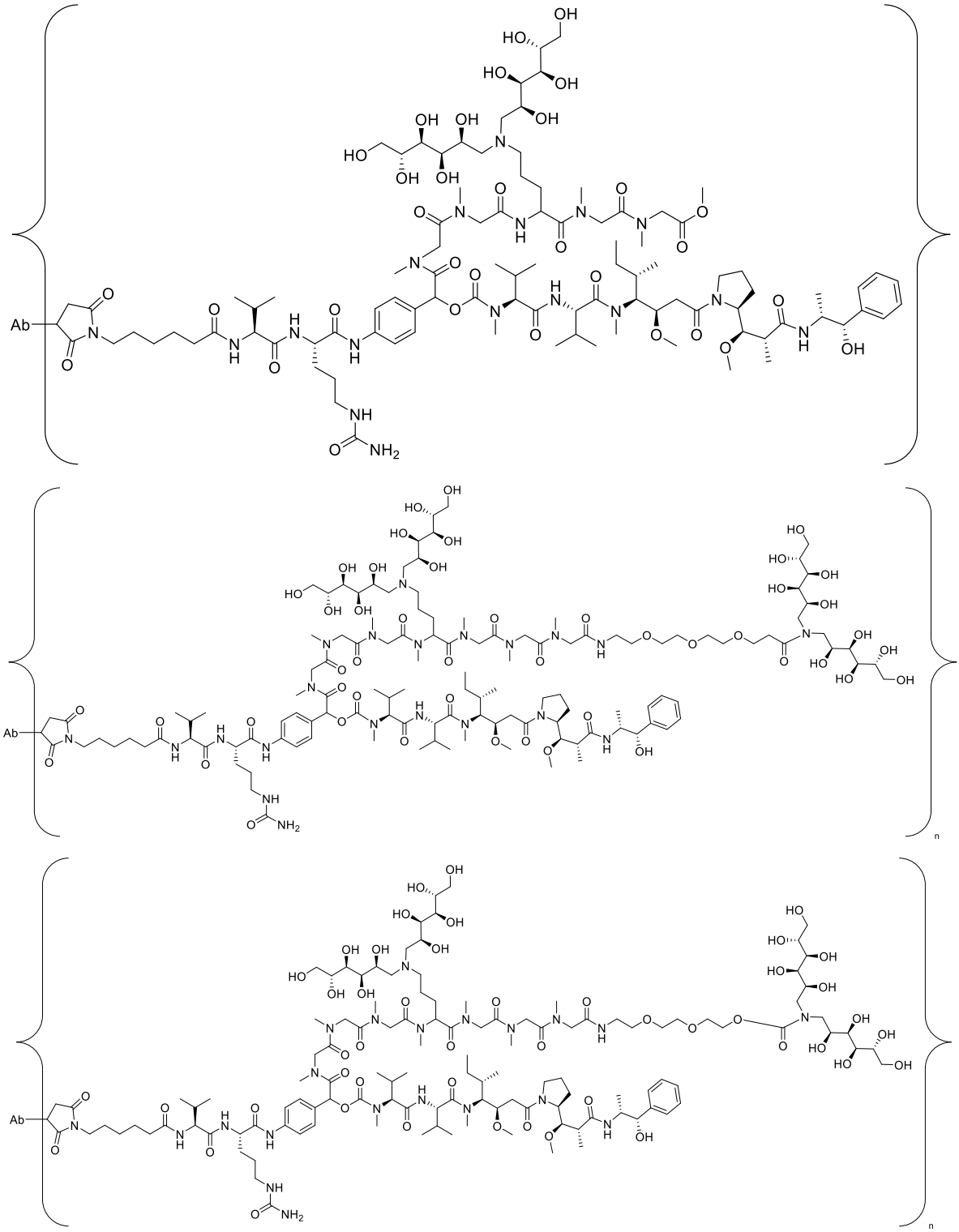


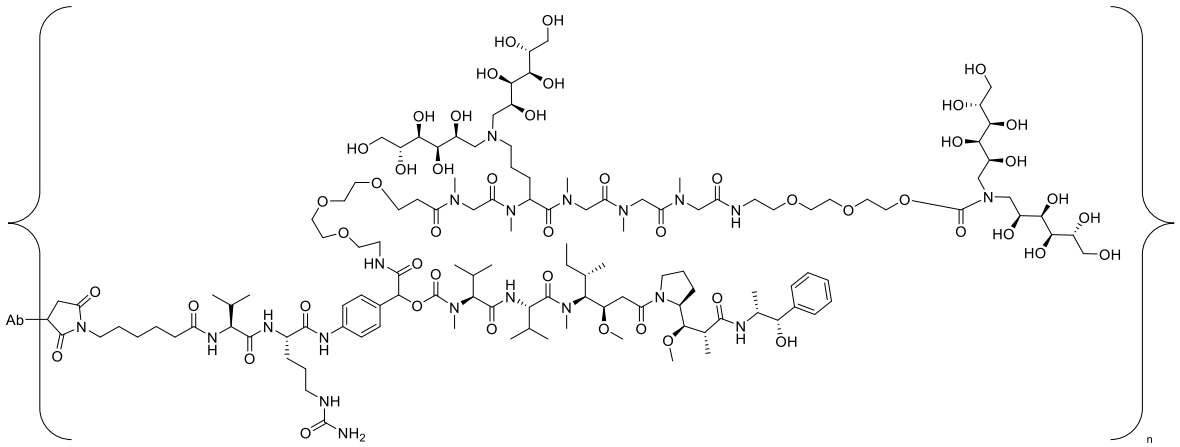


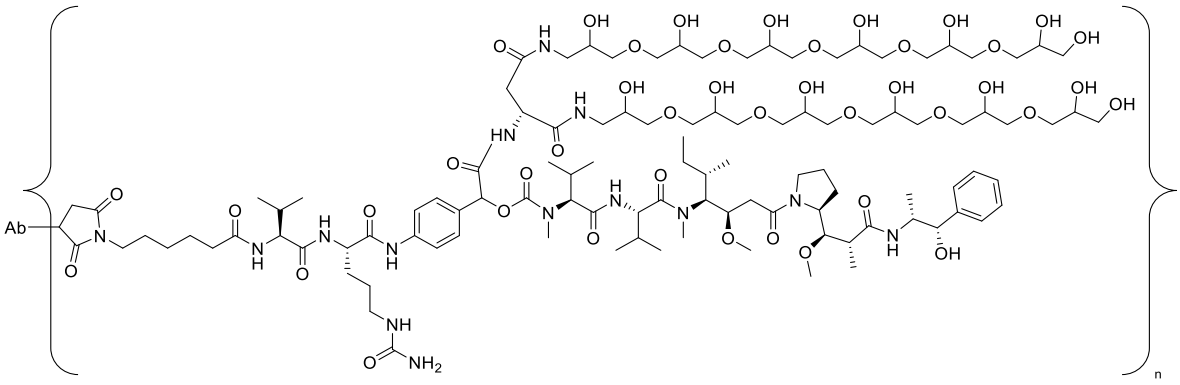


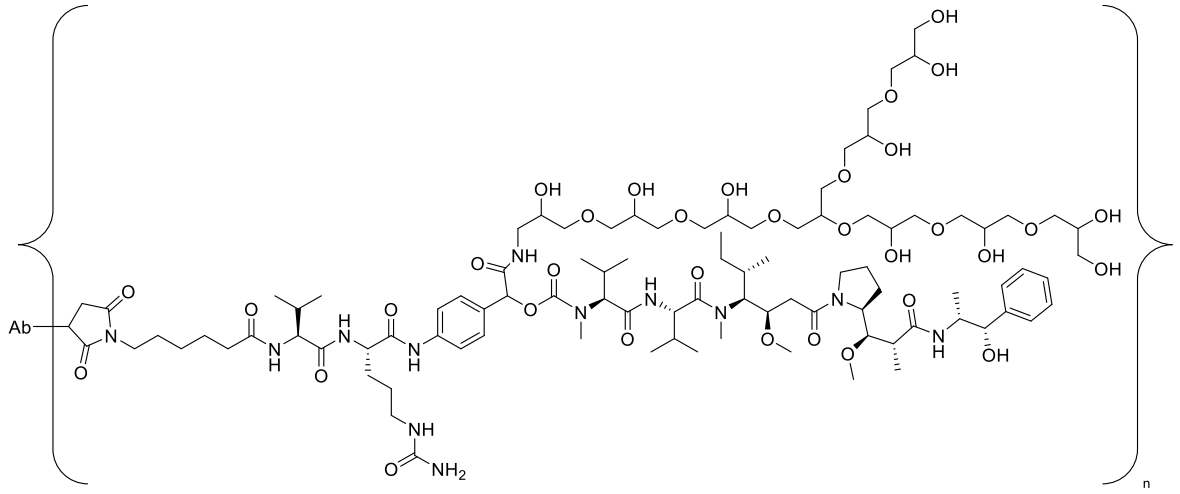


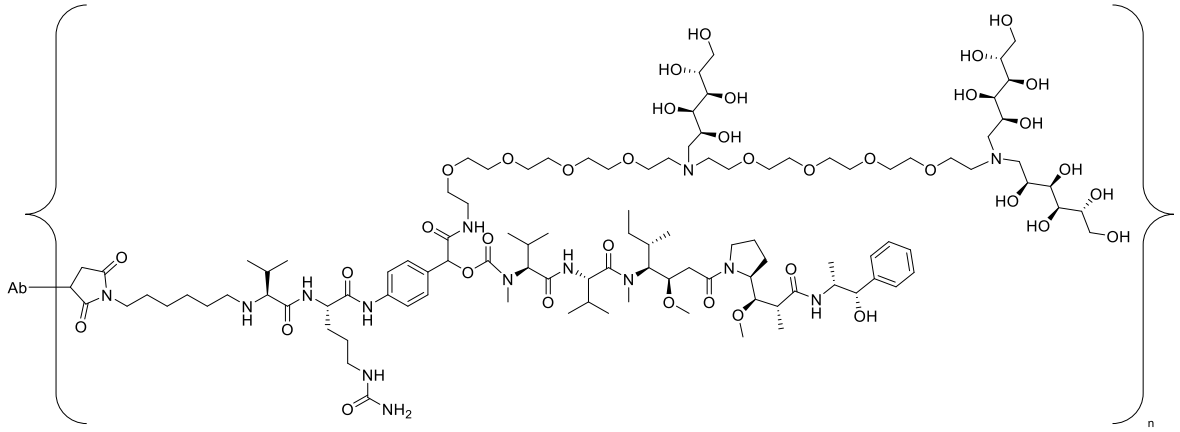


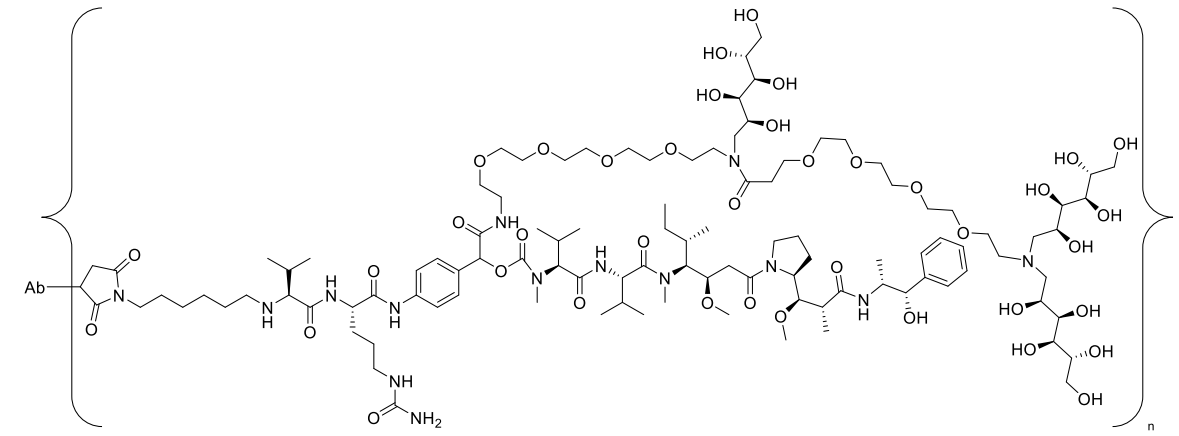


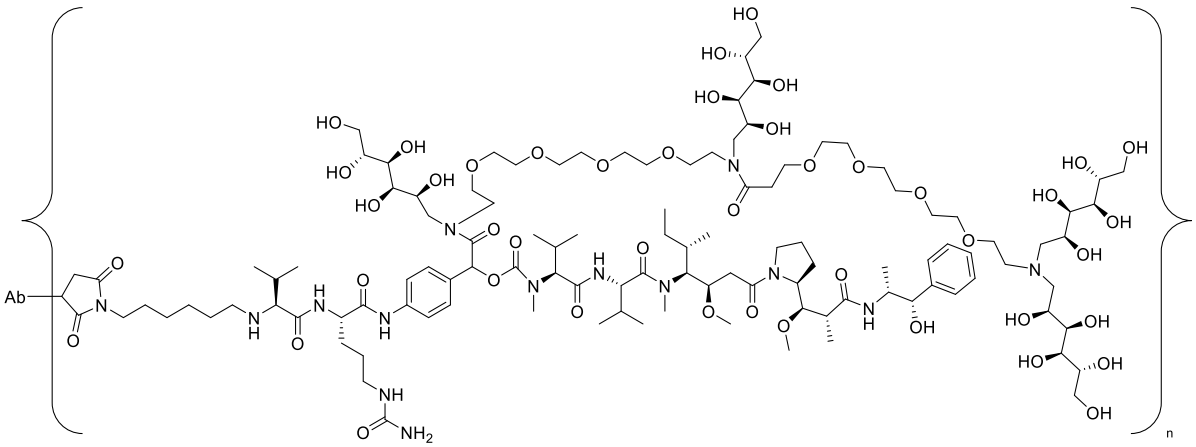


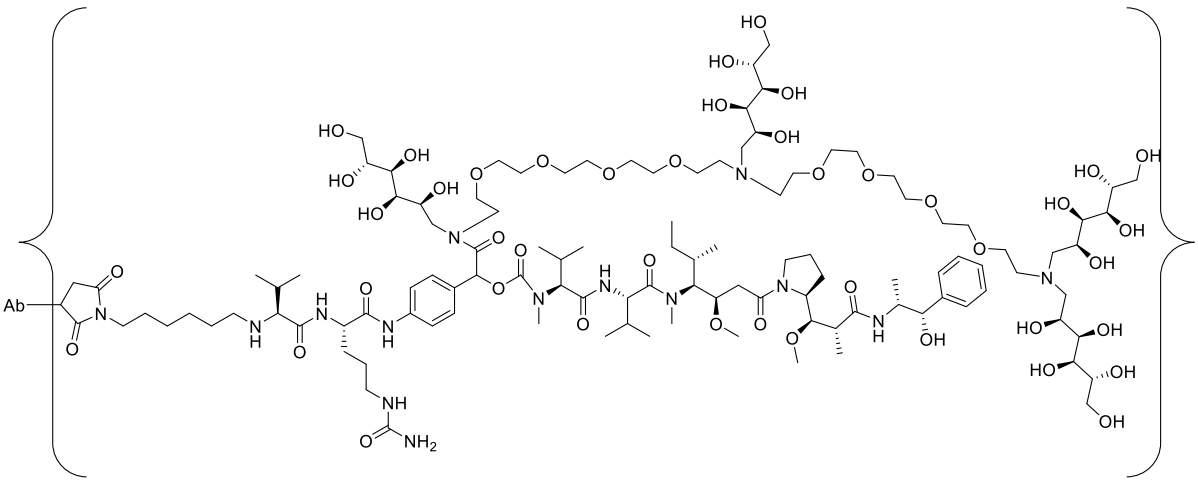


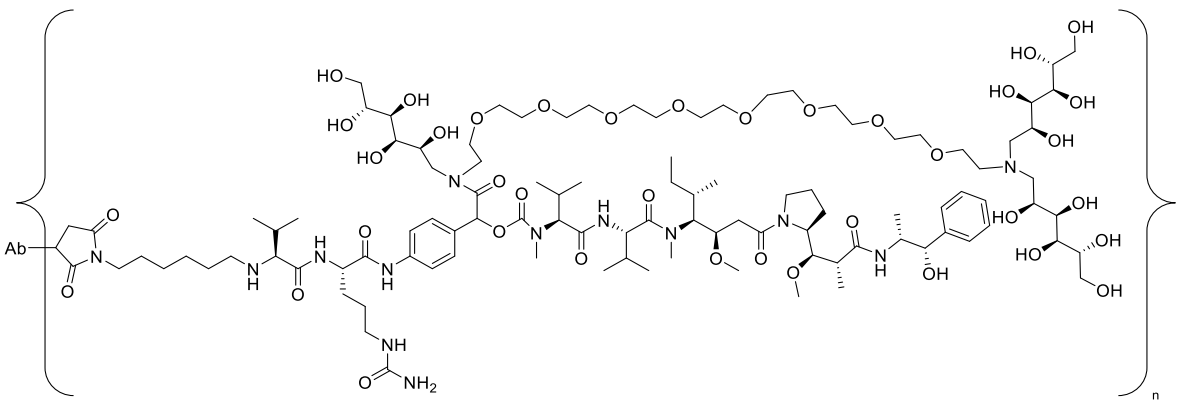


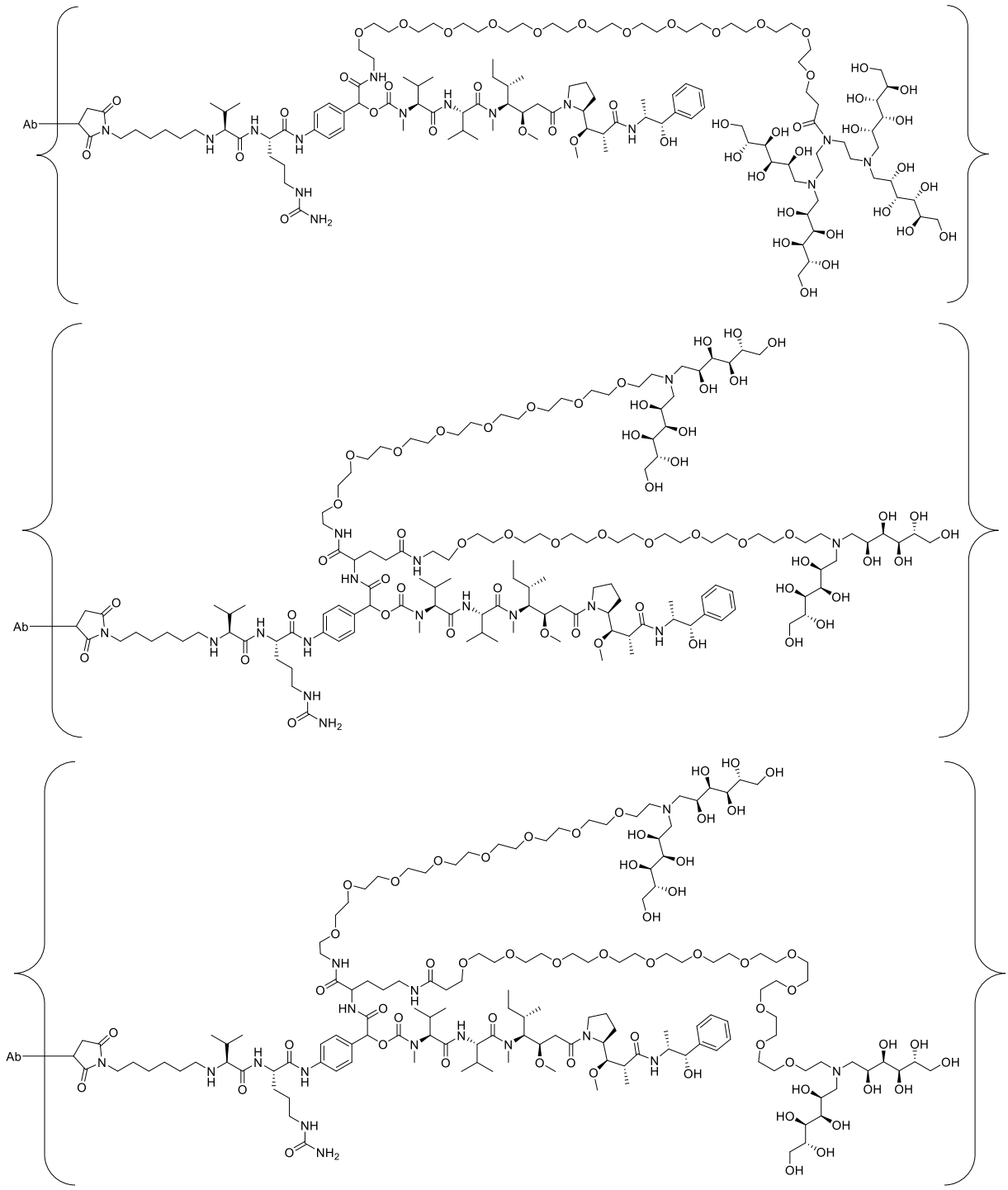


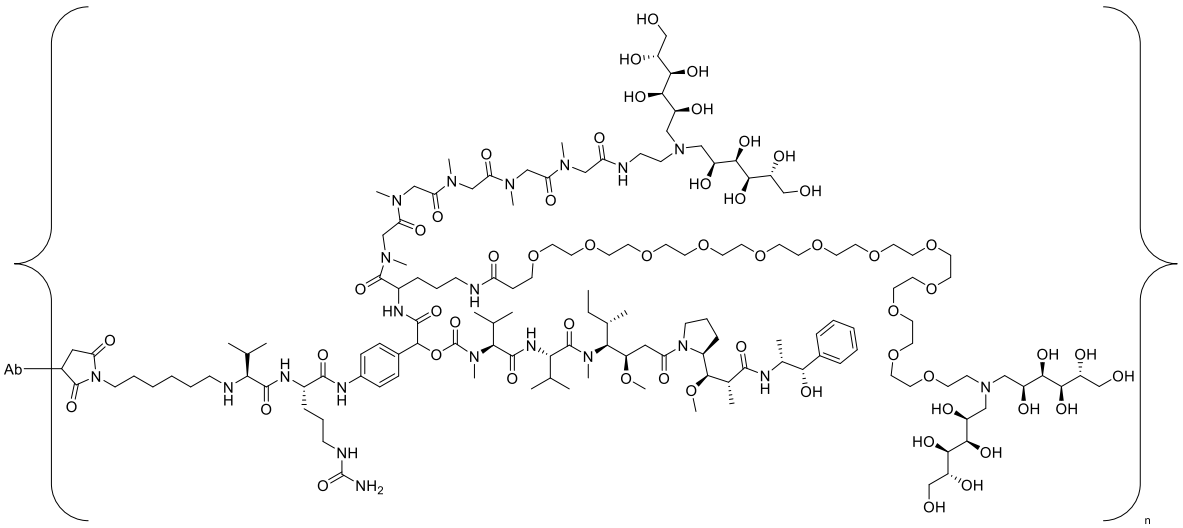




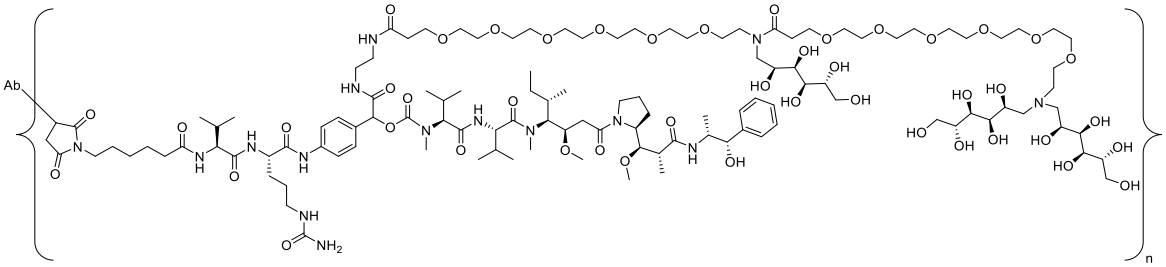


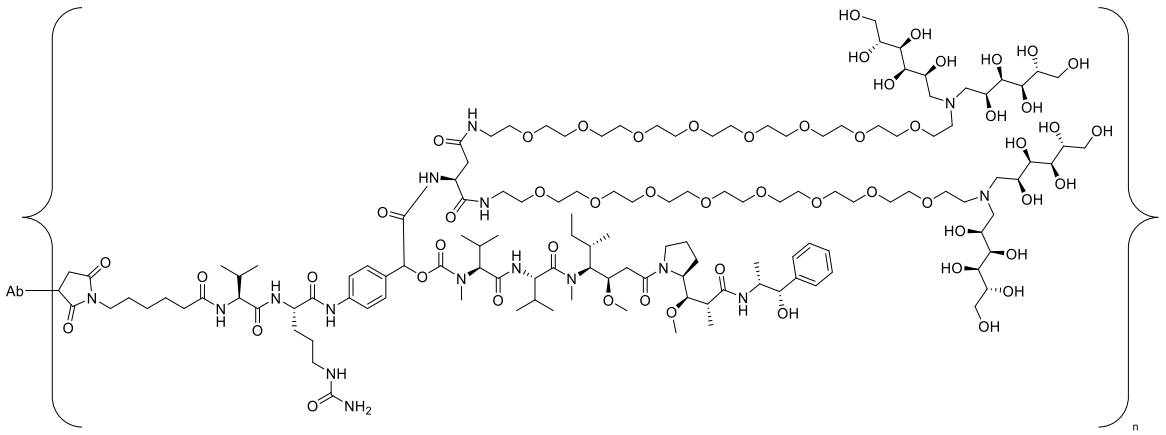


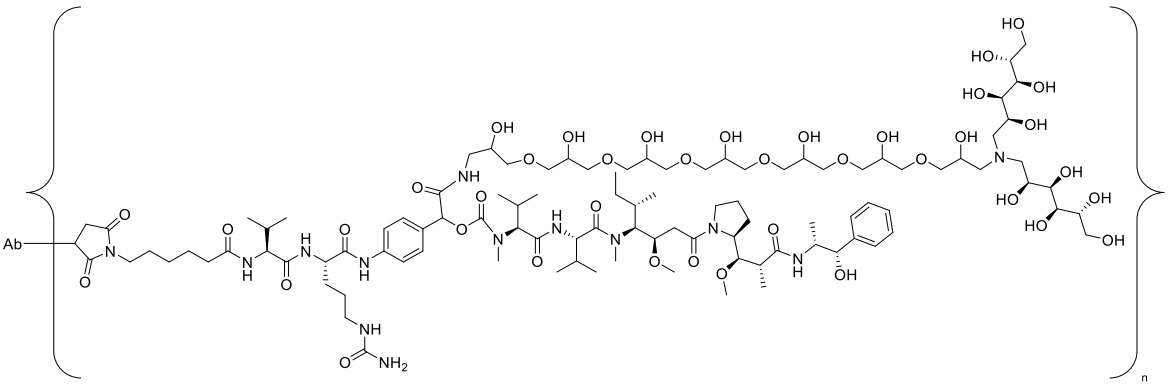


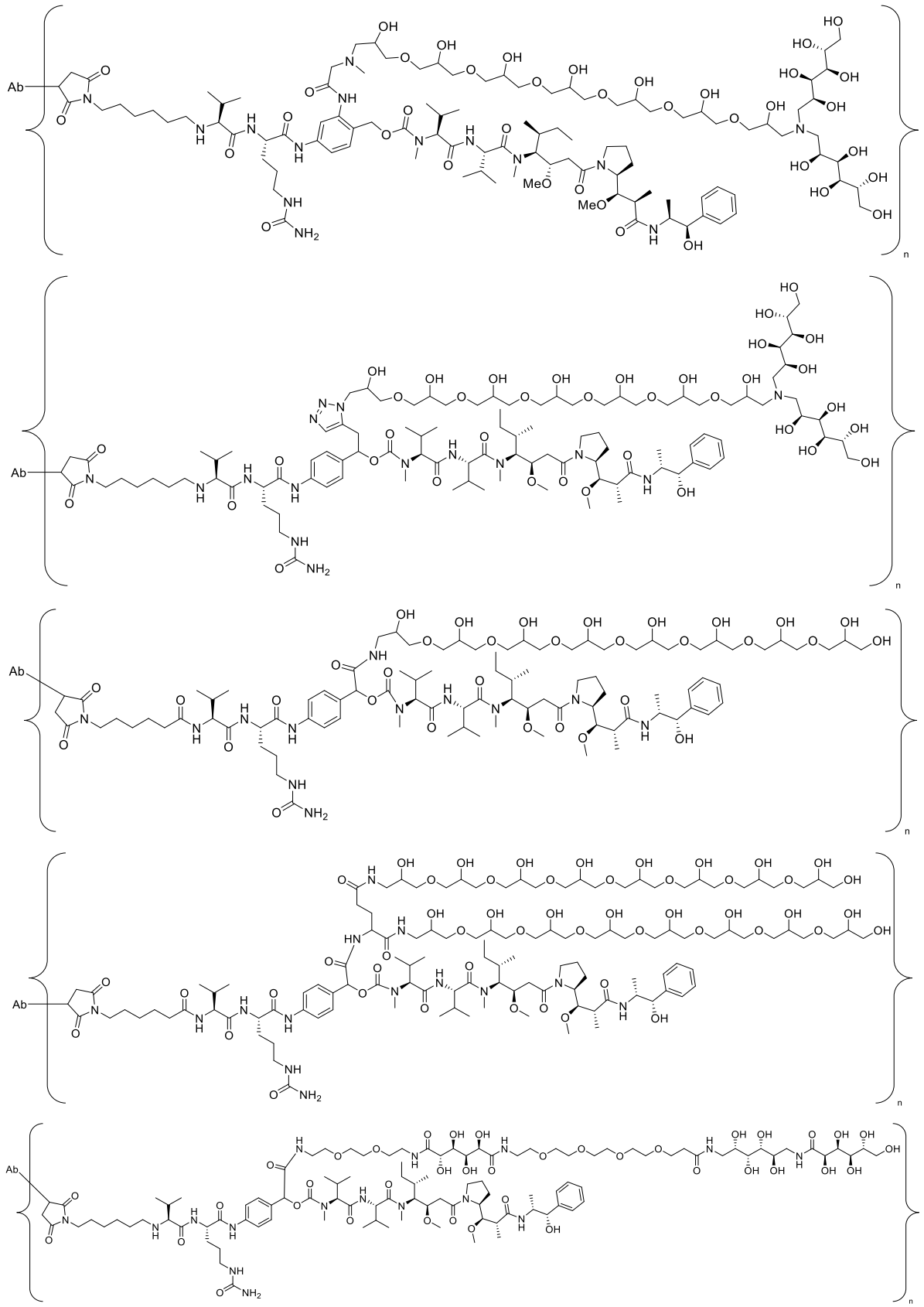


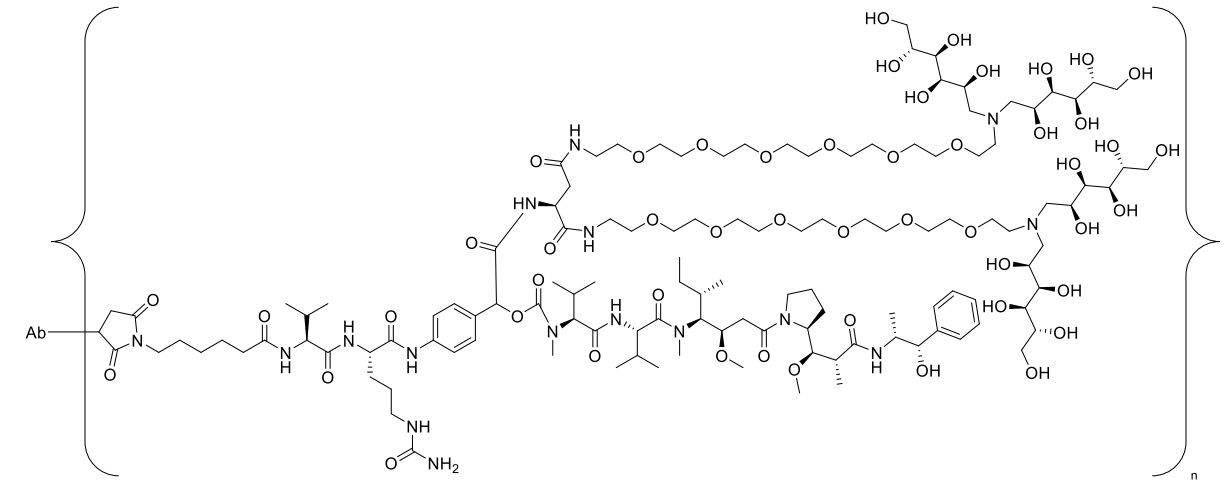
y

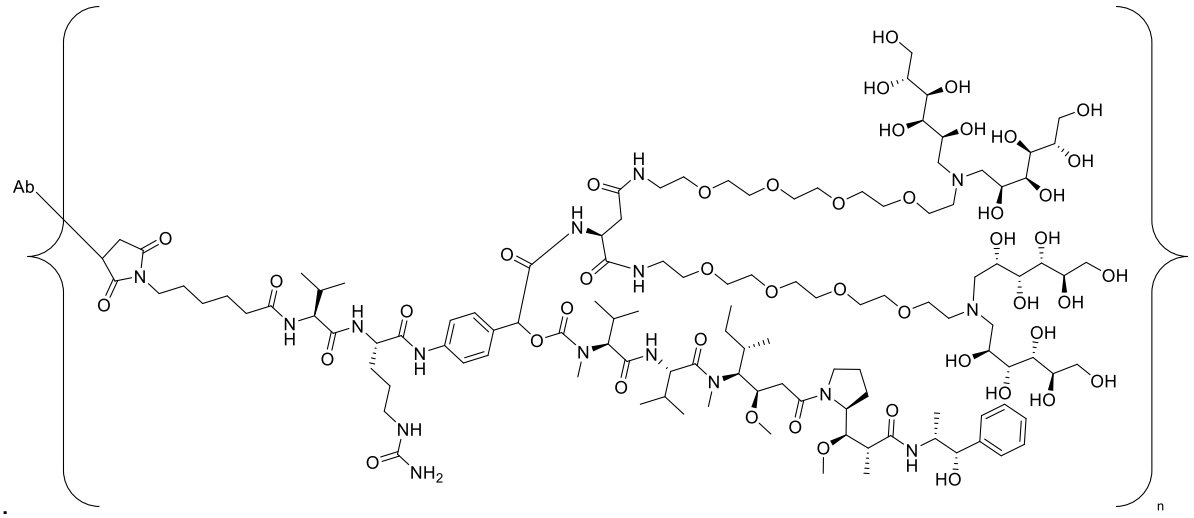




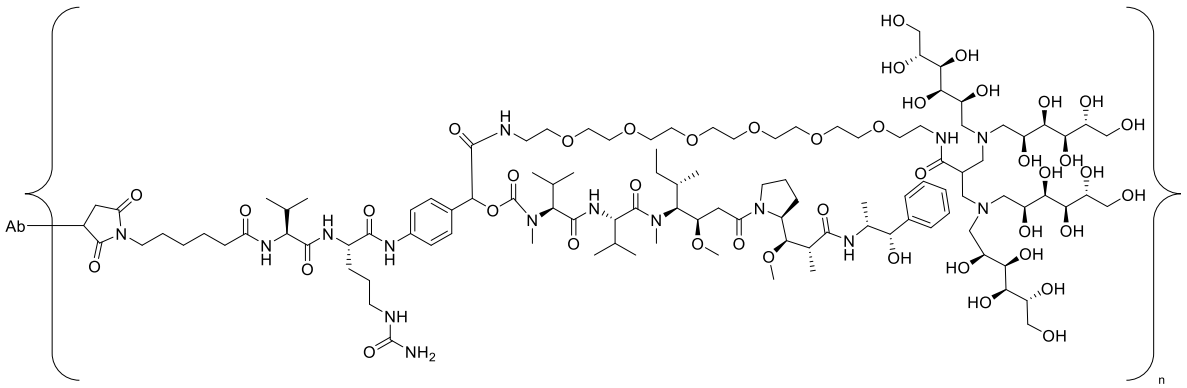


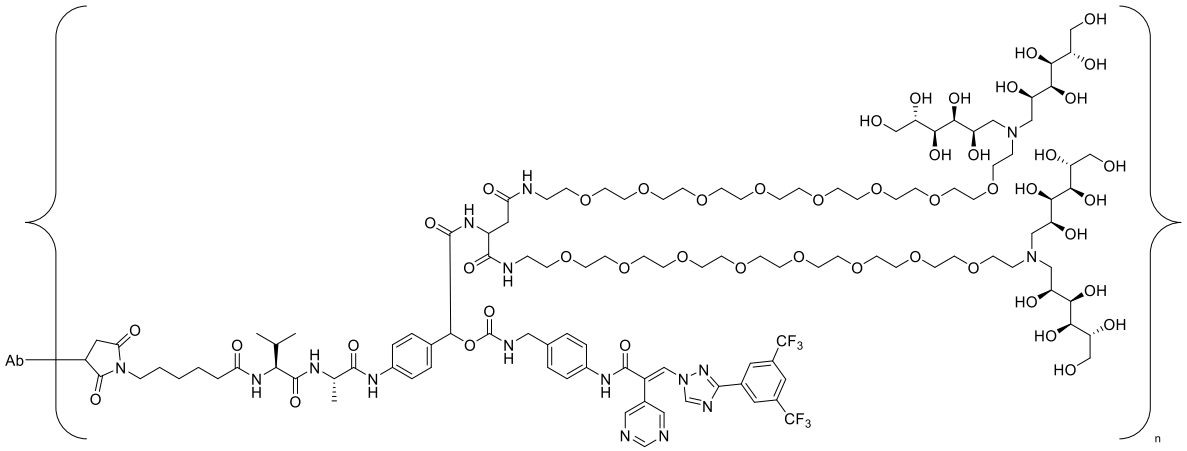


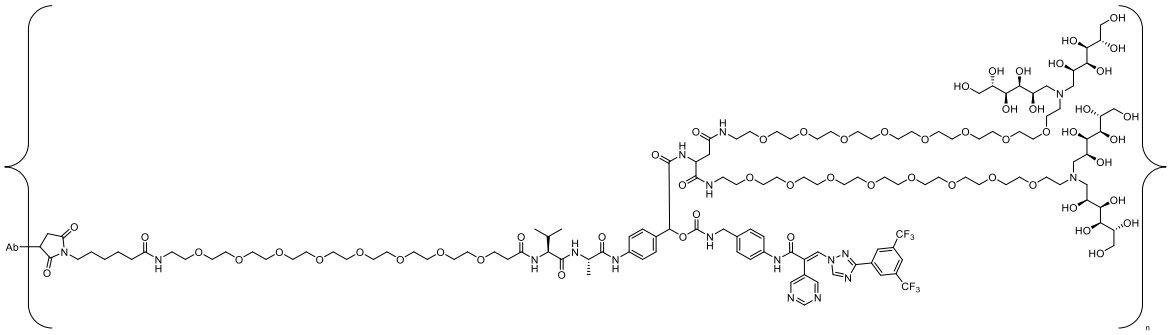


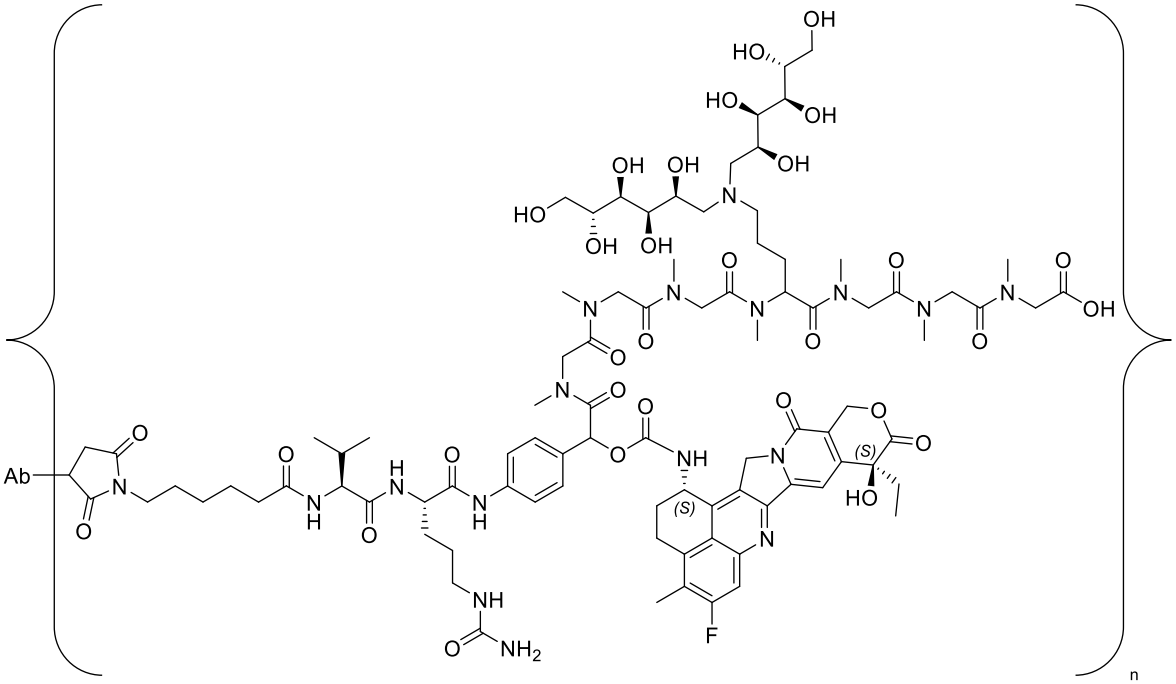


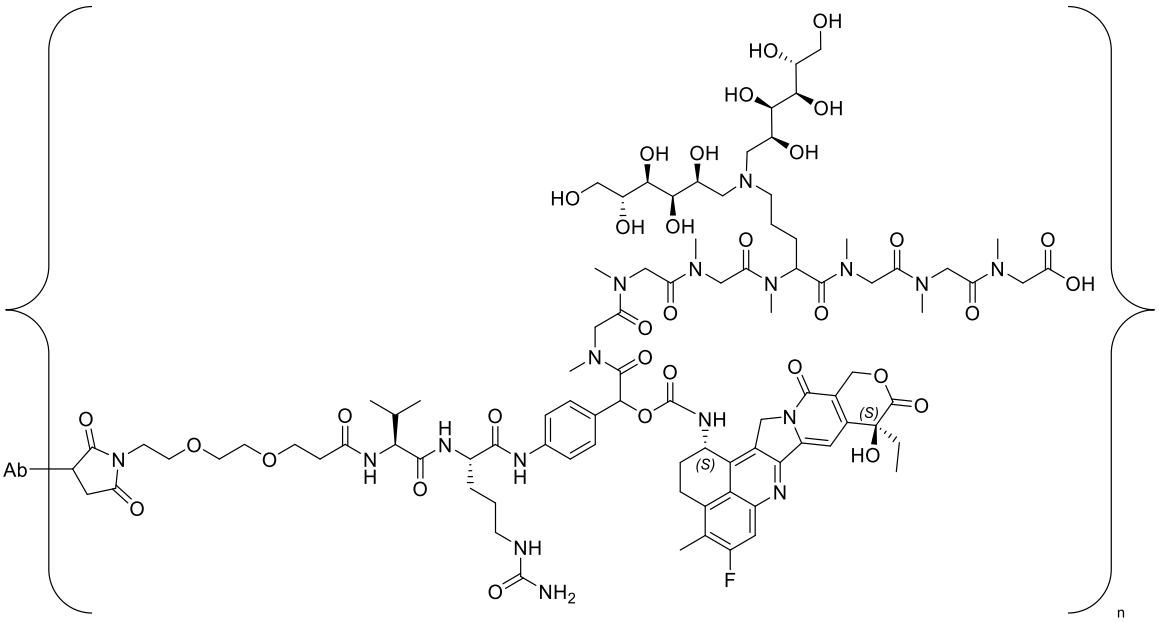
.

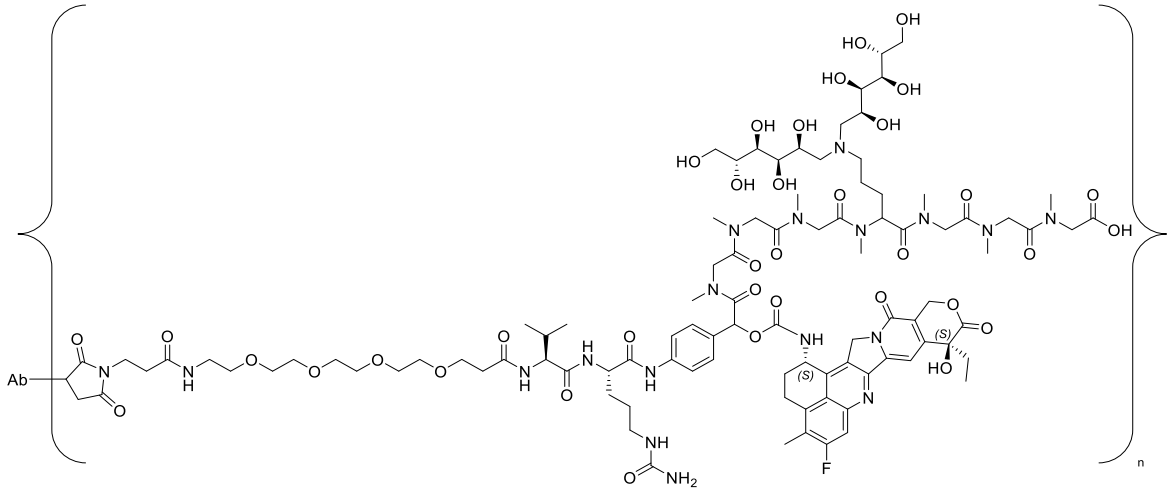


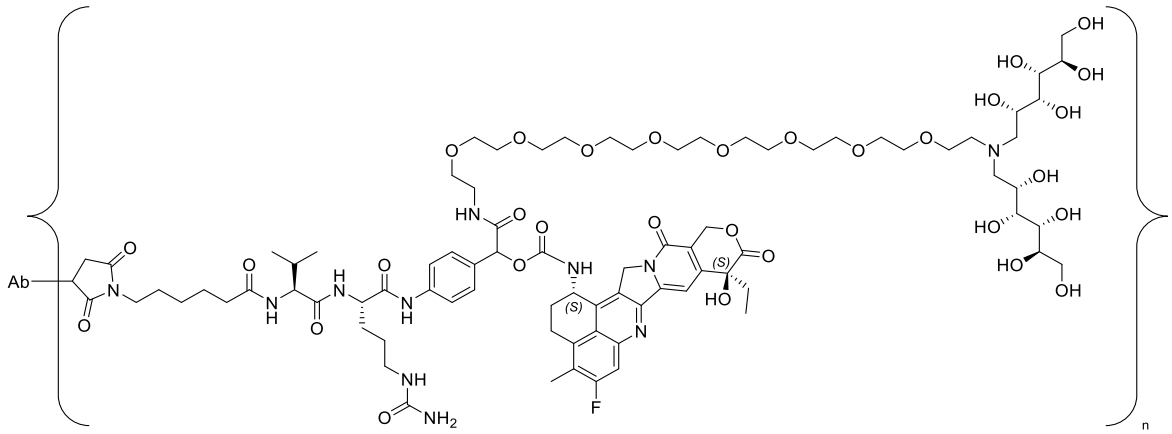


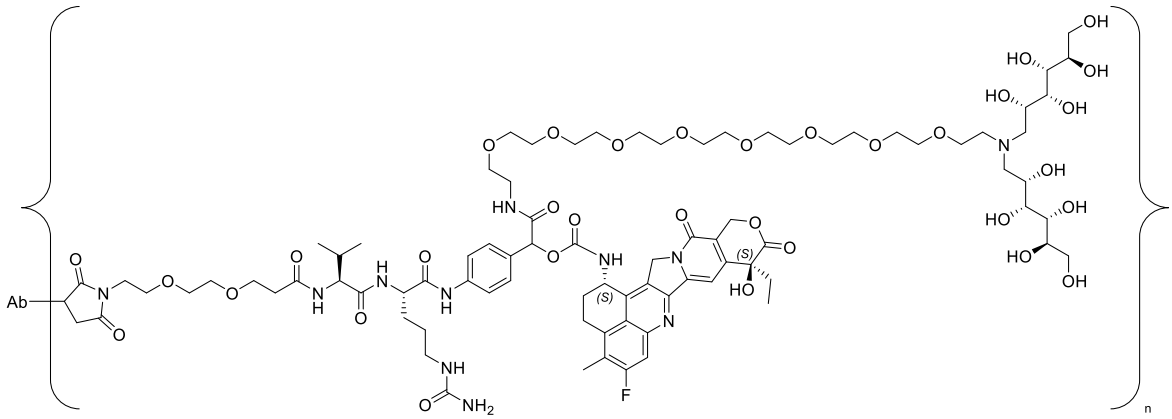


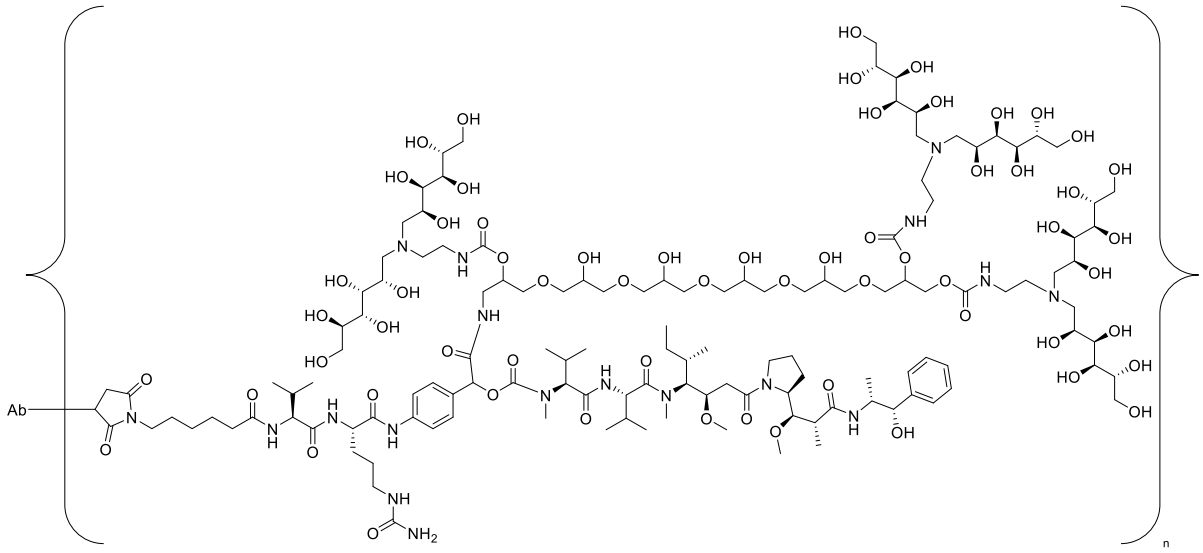


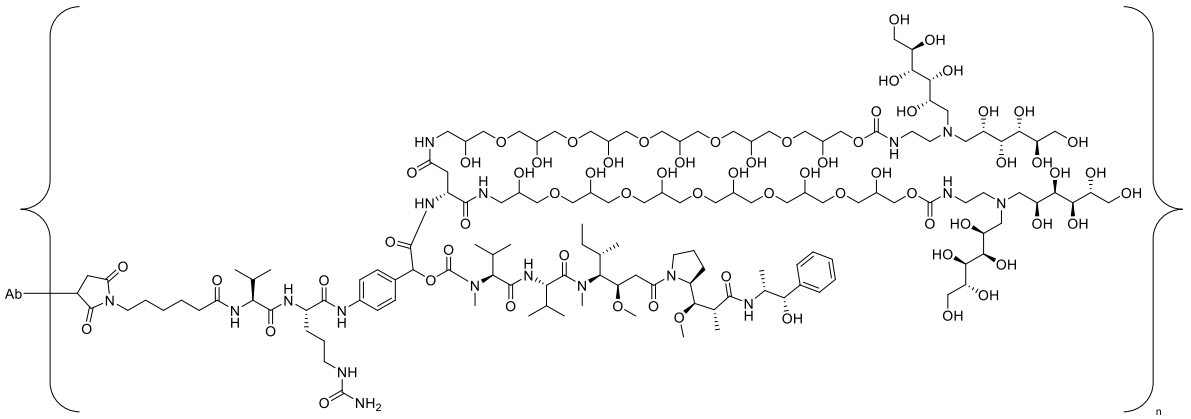


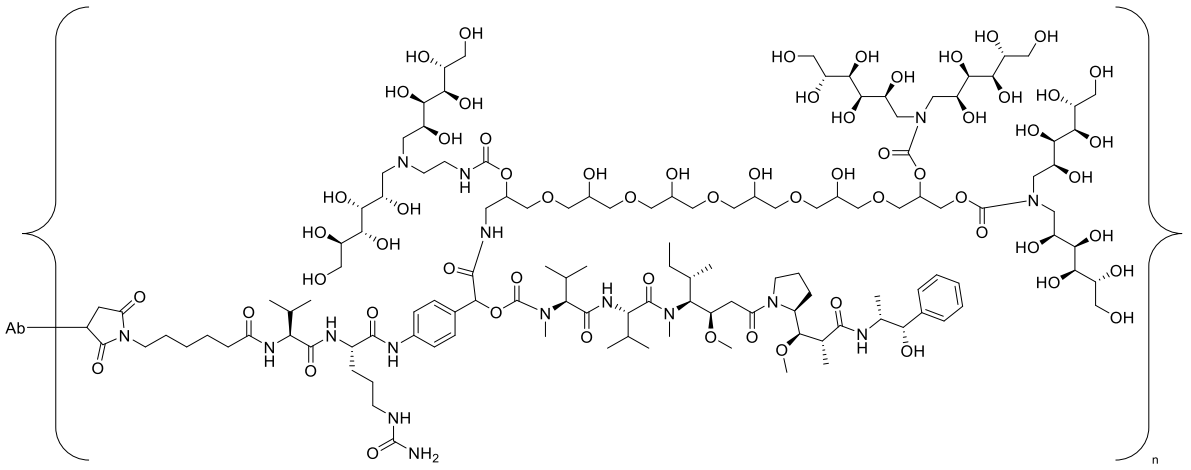


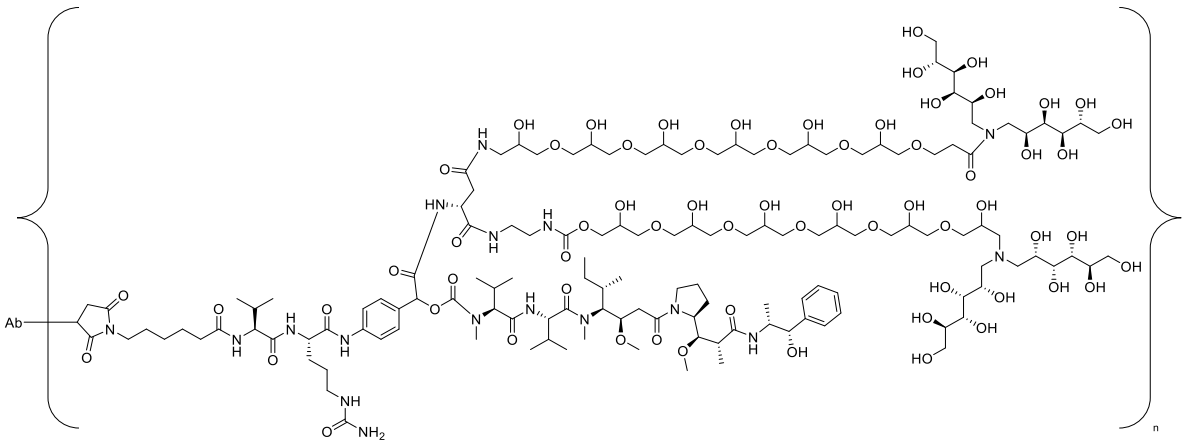


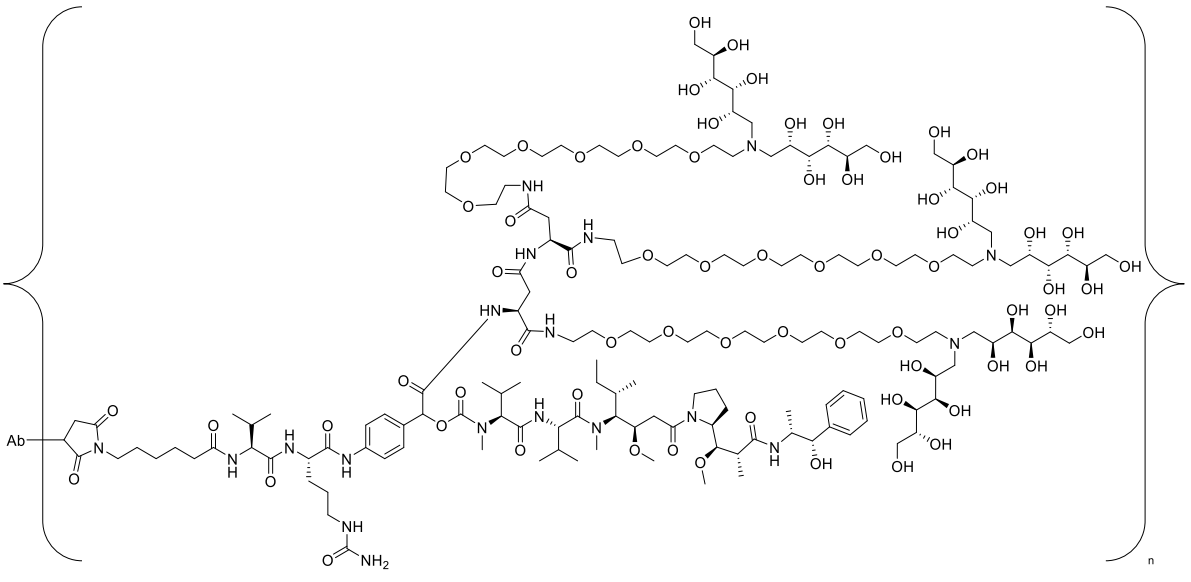


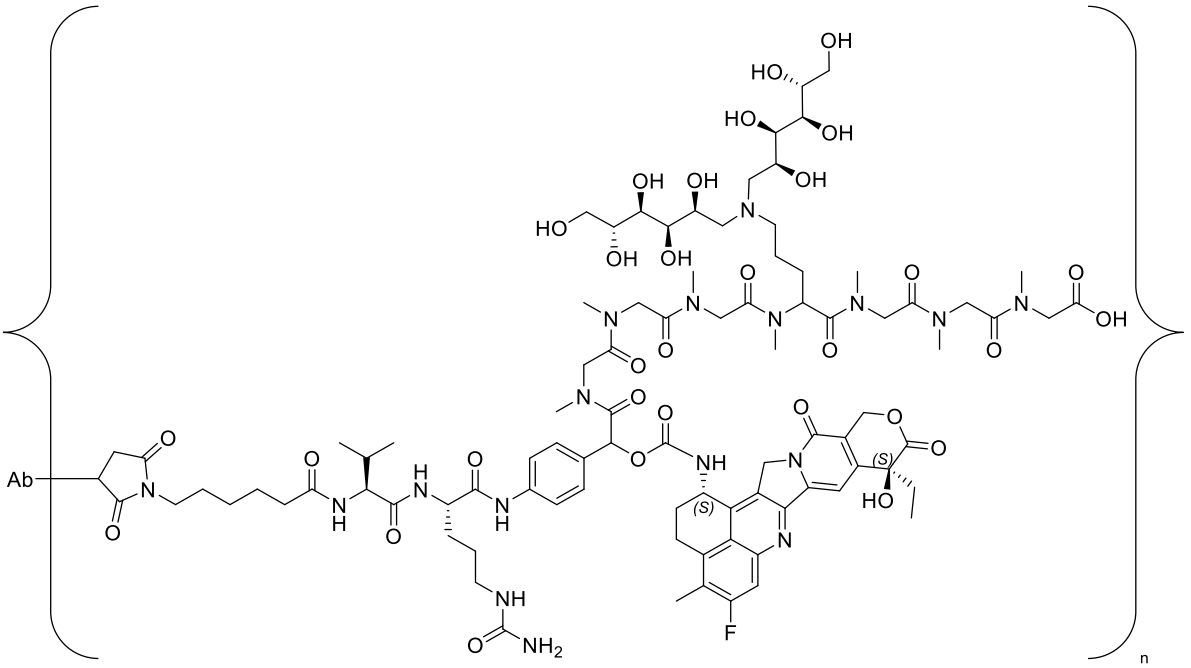


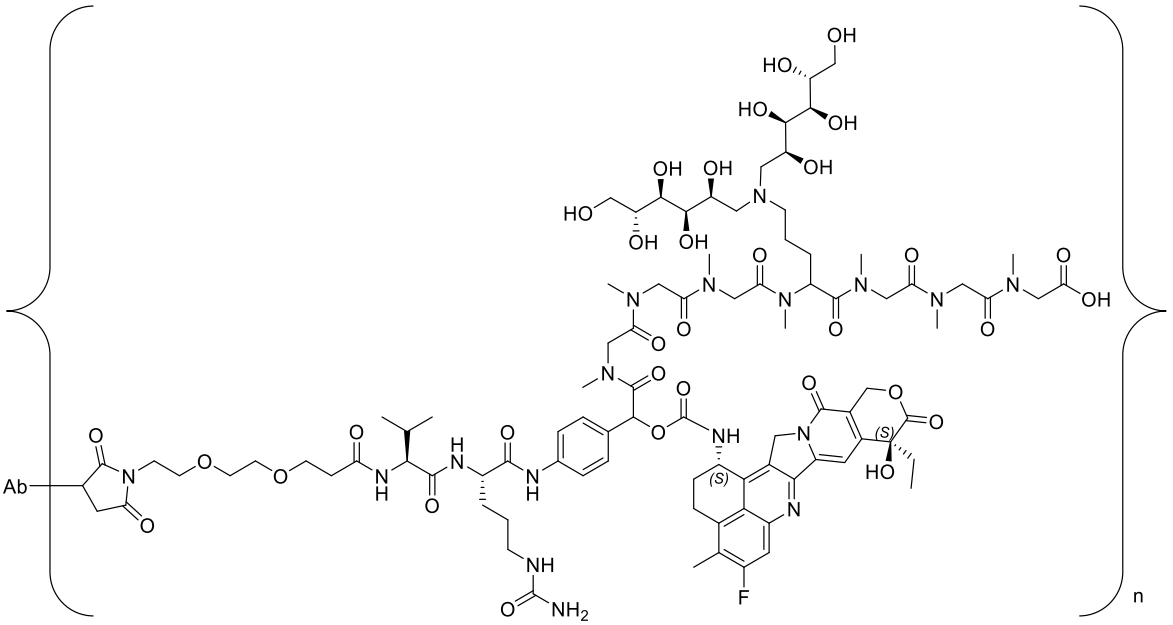


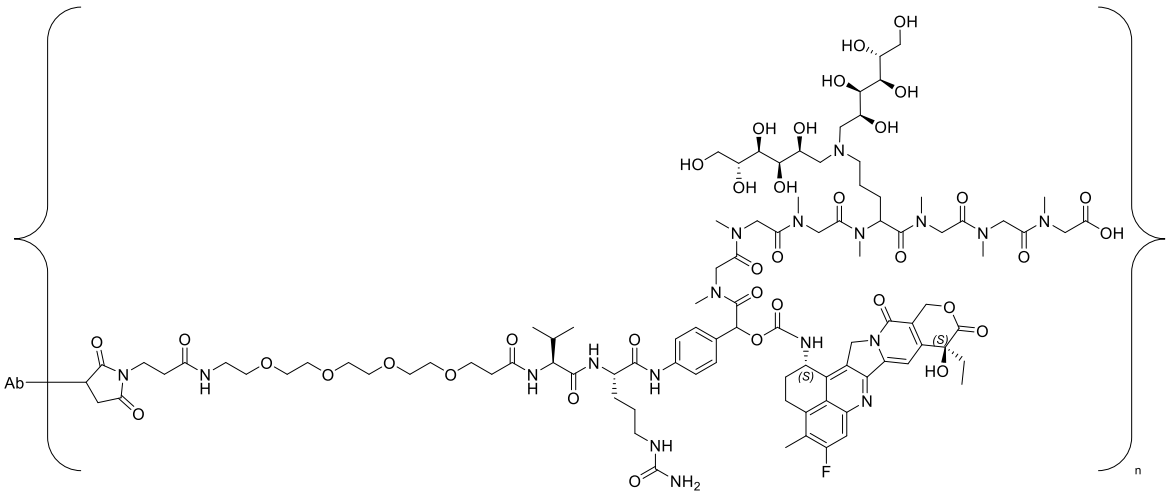


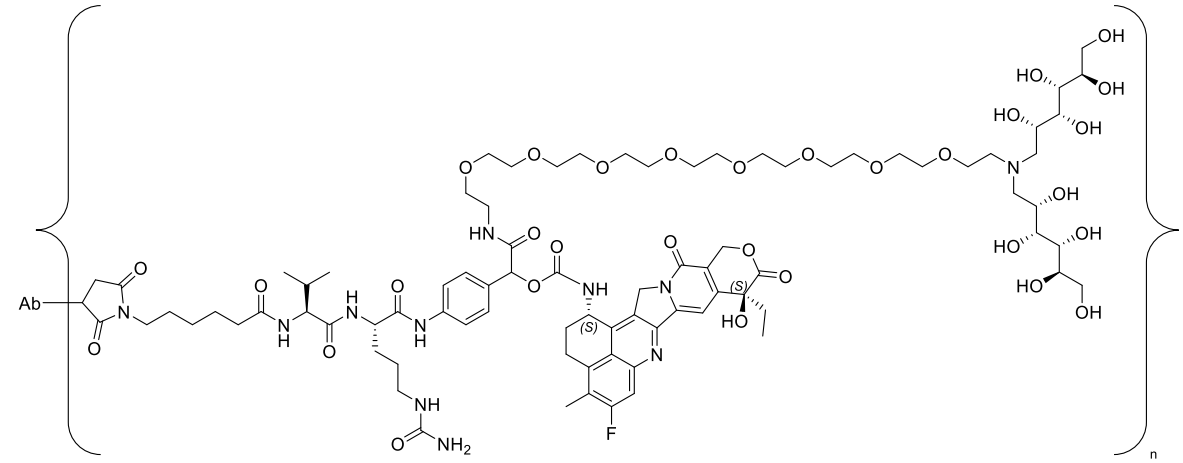


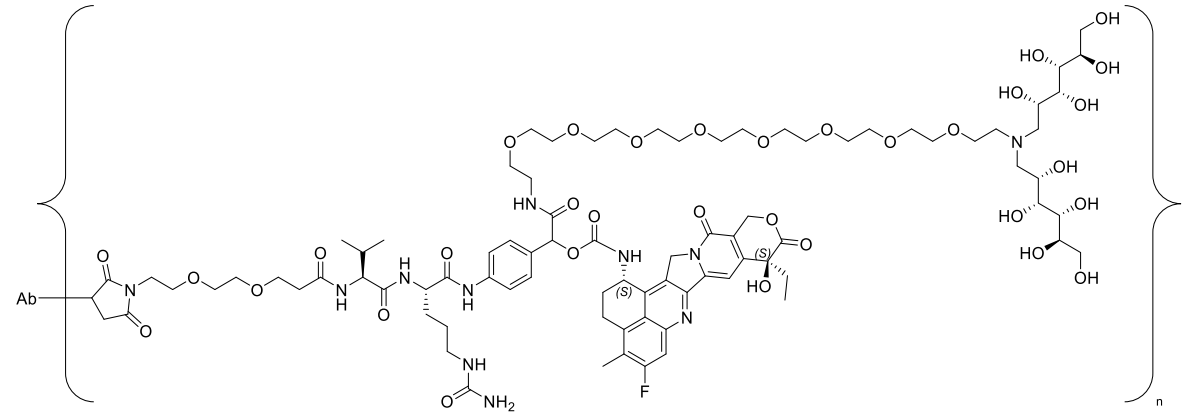


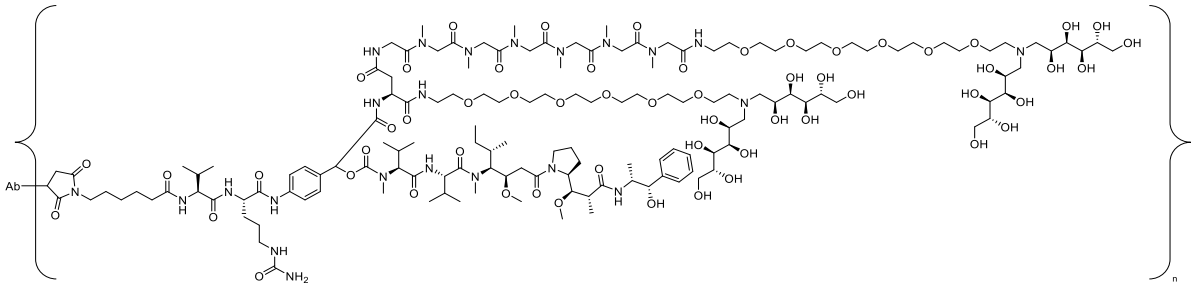


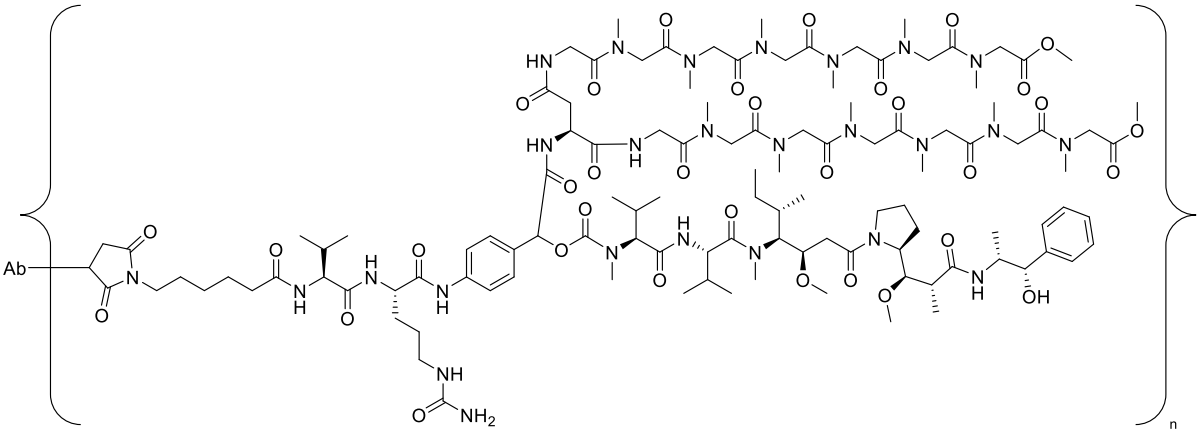


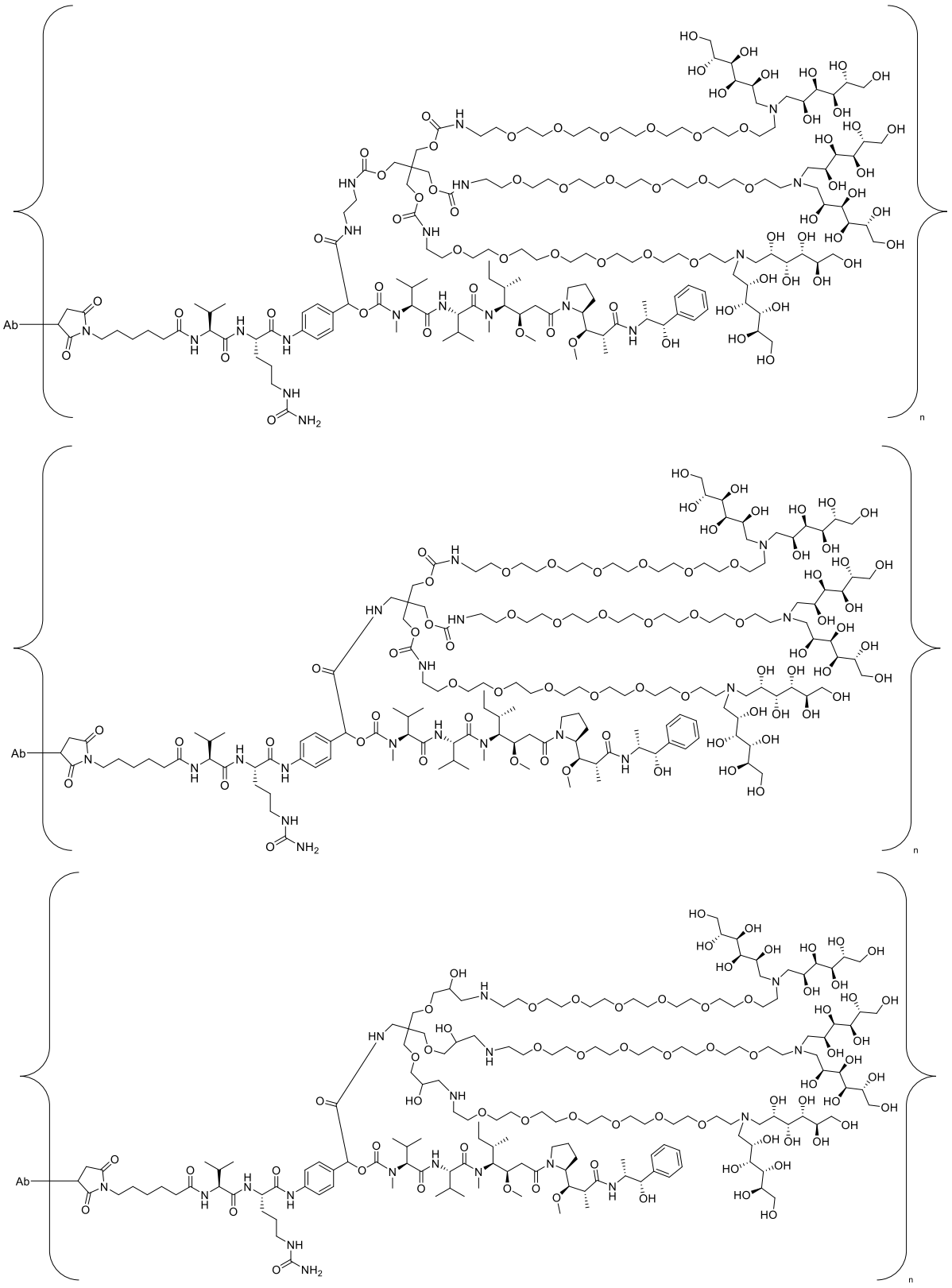


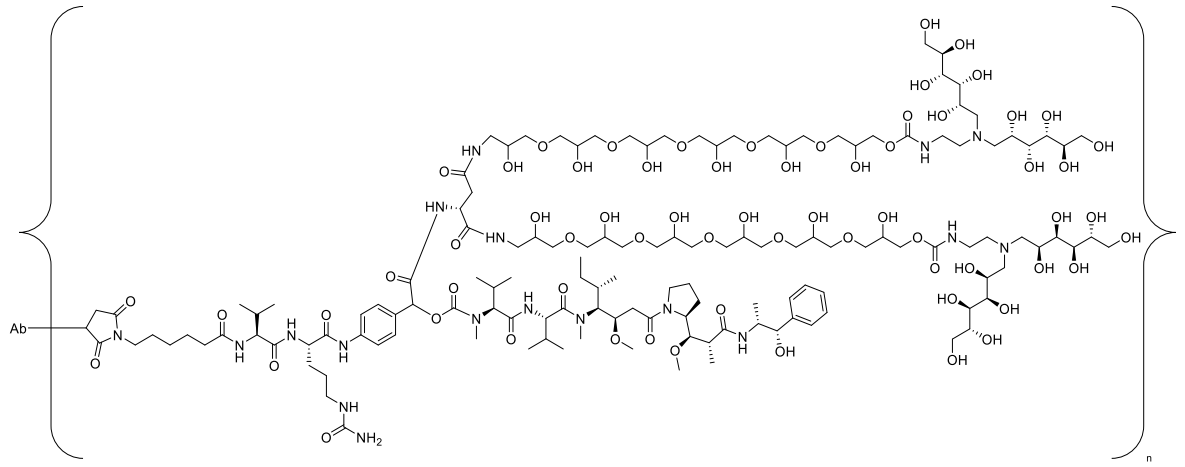


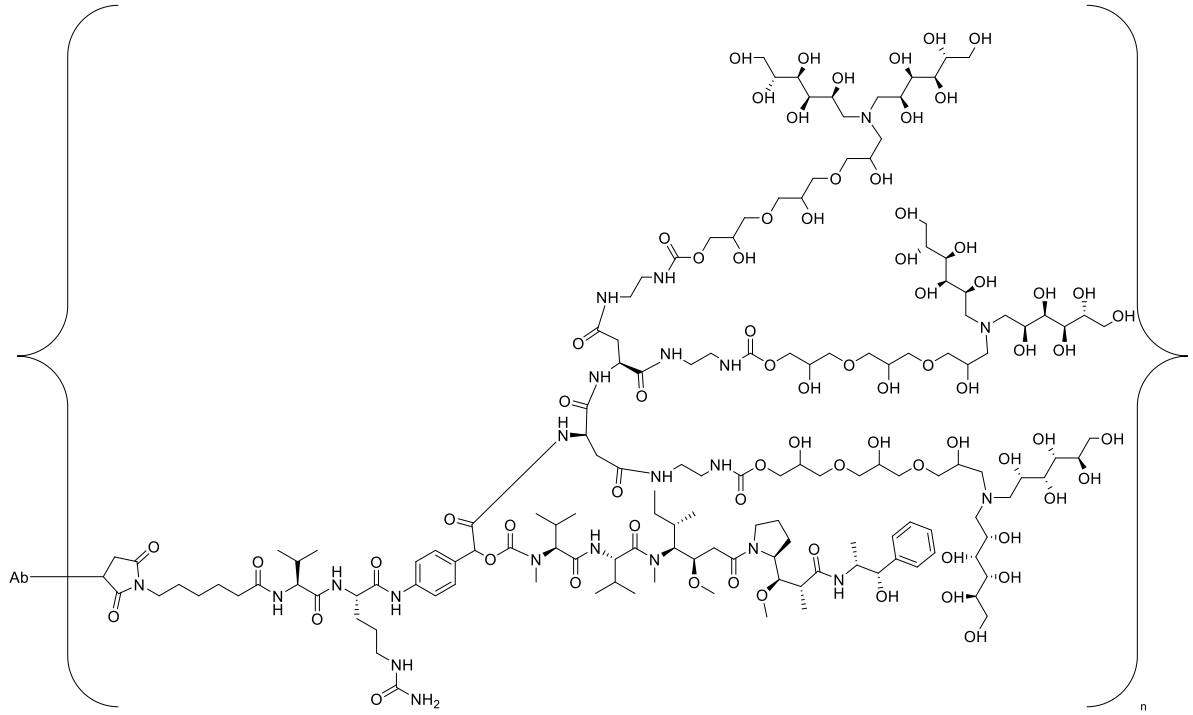


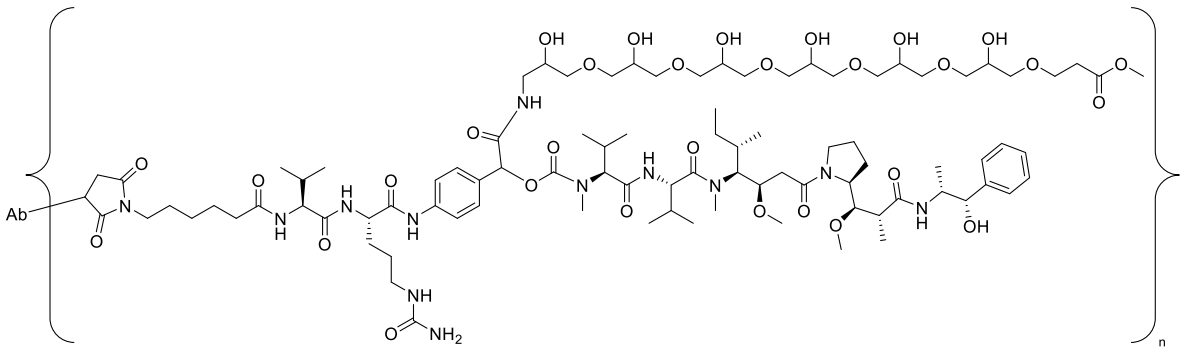


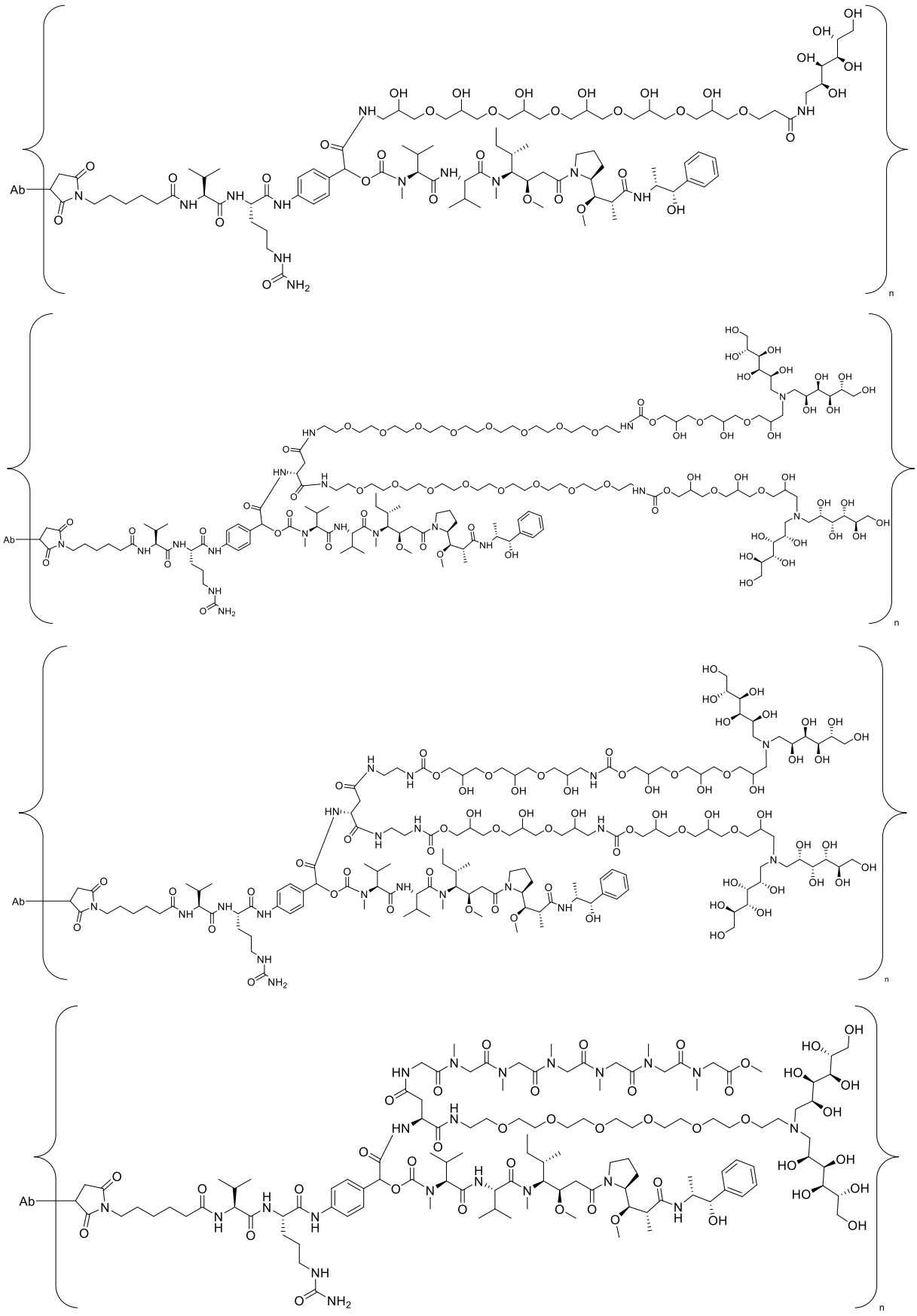


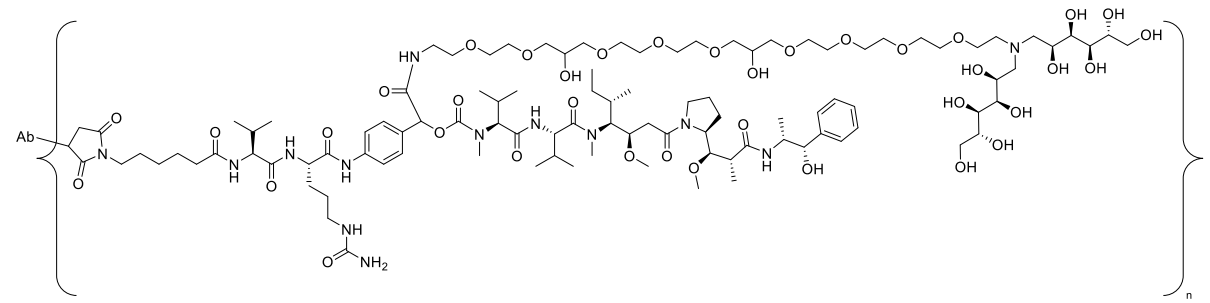


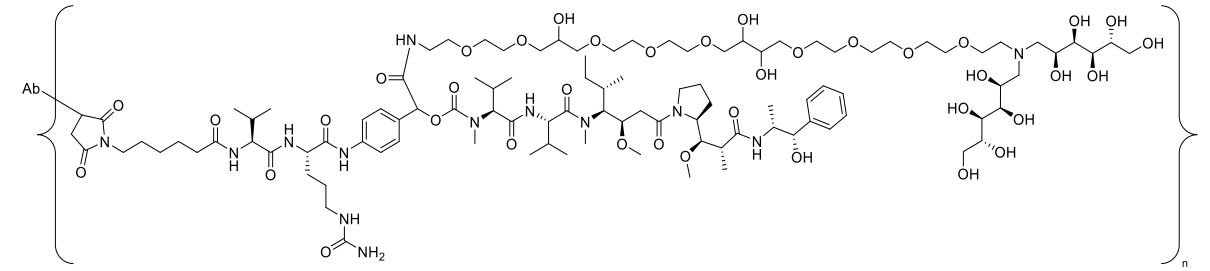


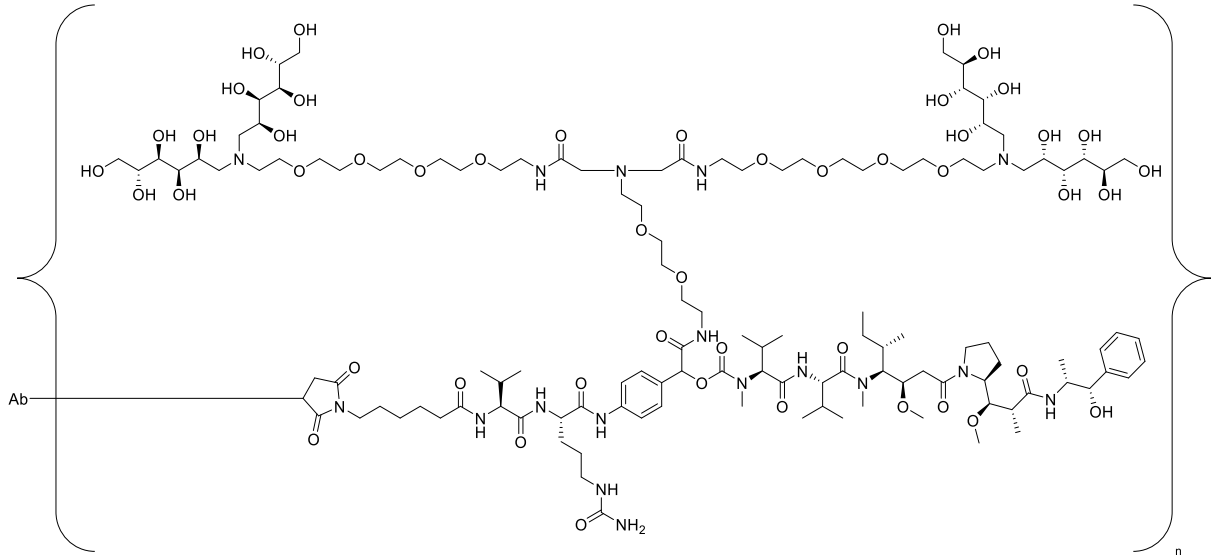


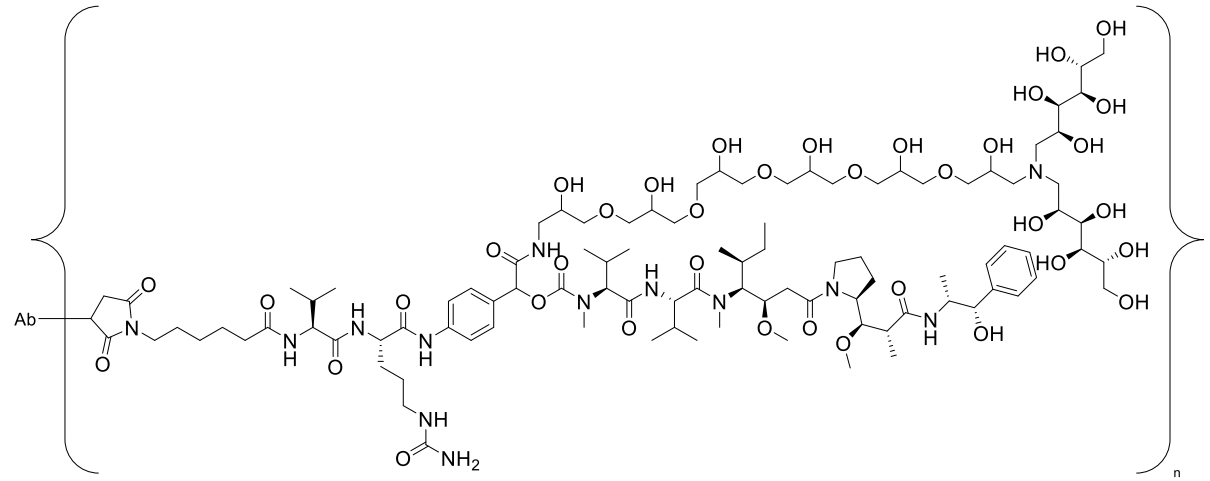


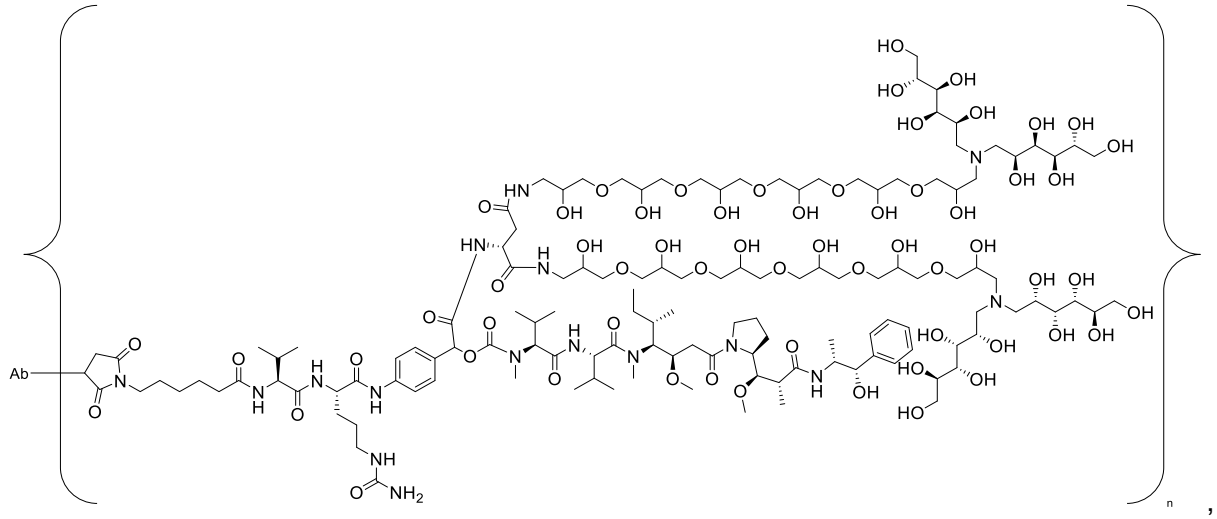




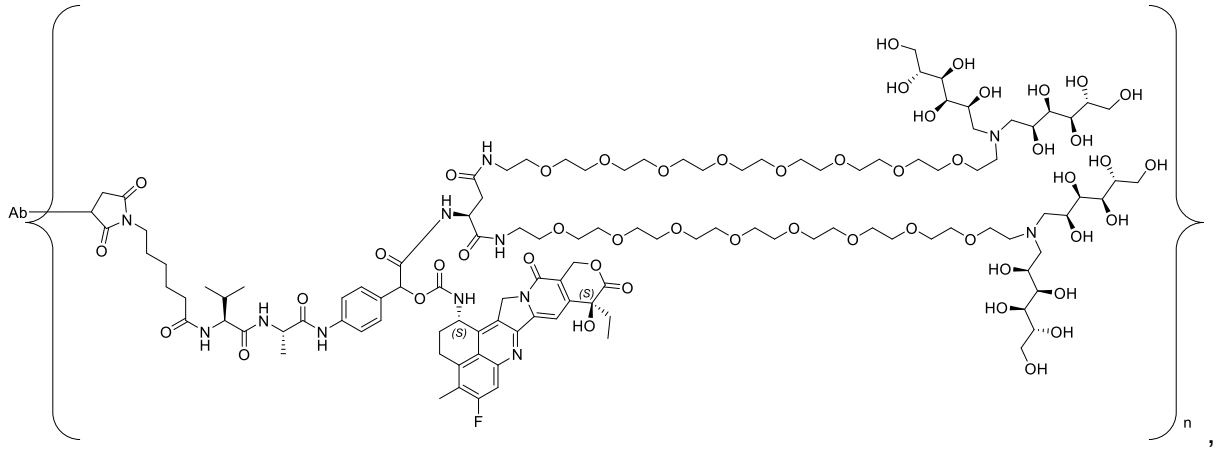




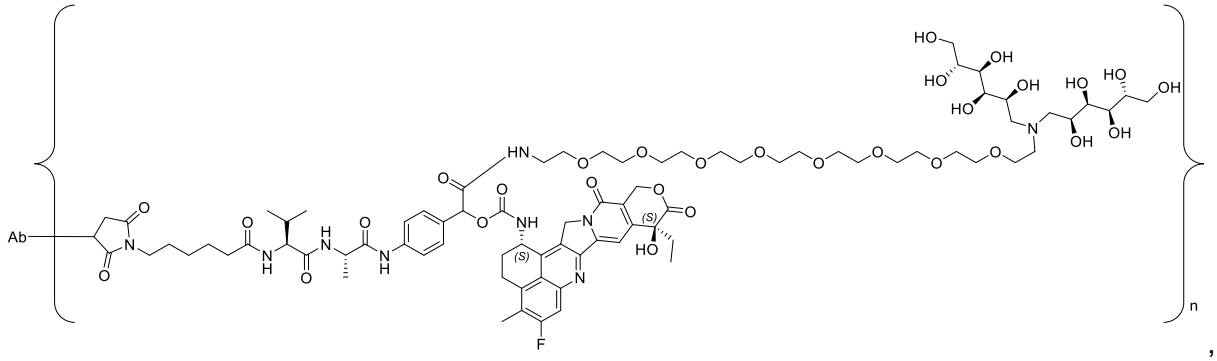




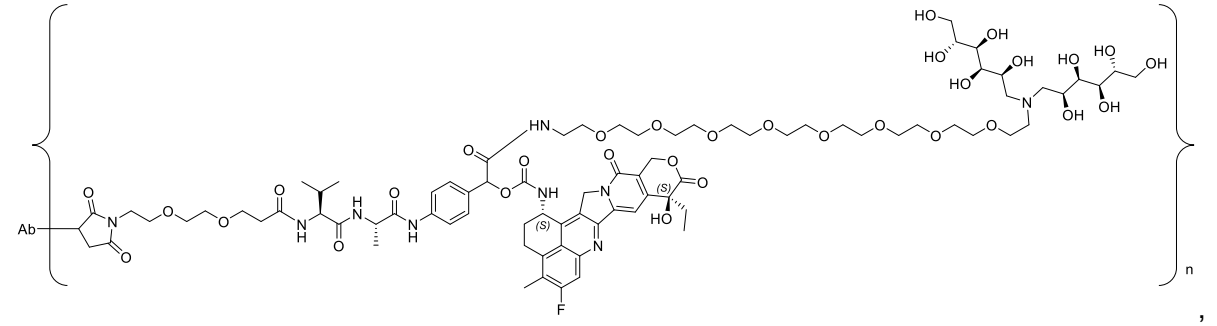
,



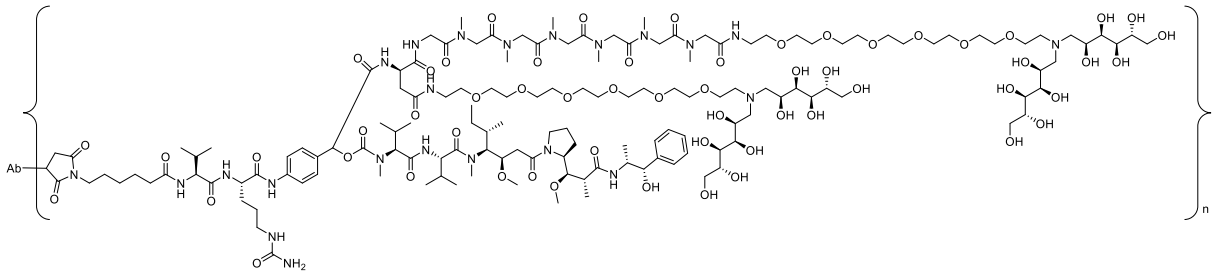
,



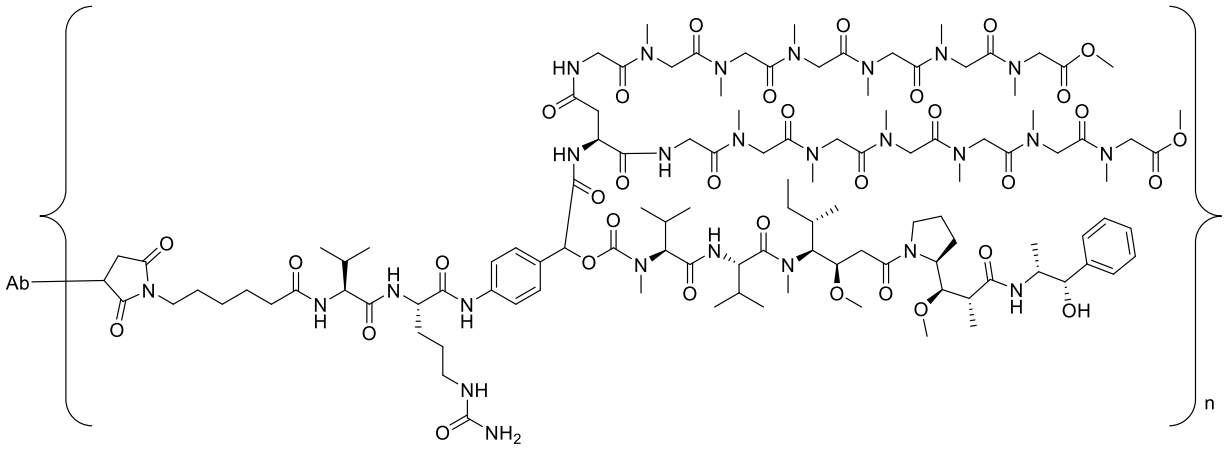
,



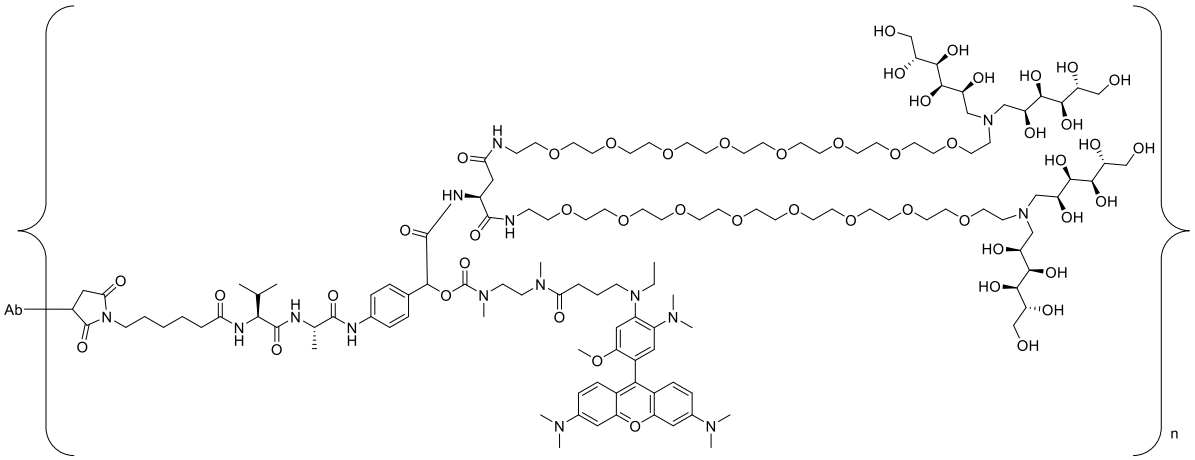
,



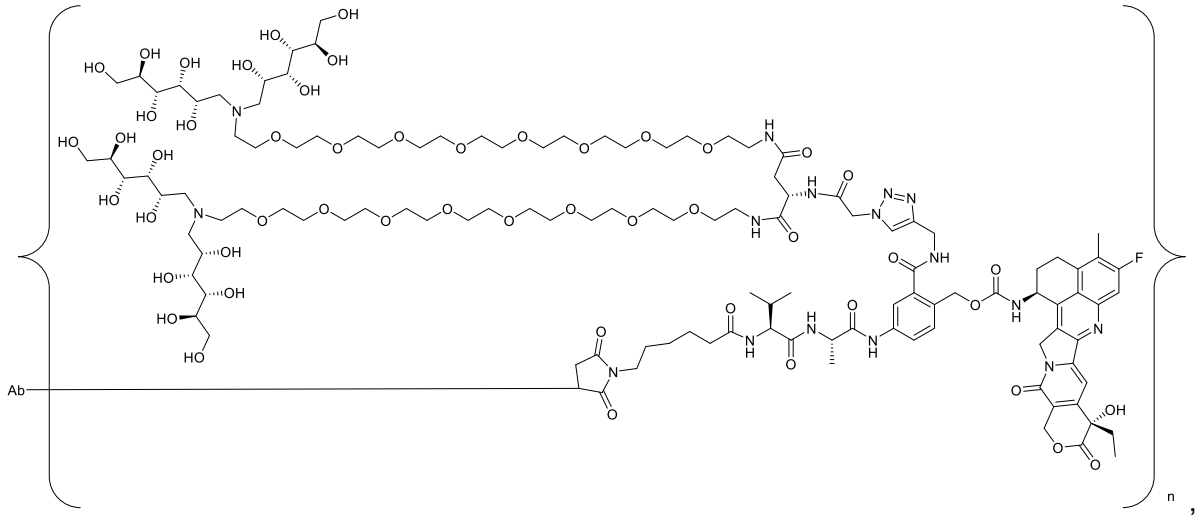
,



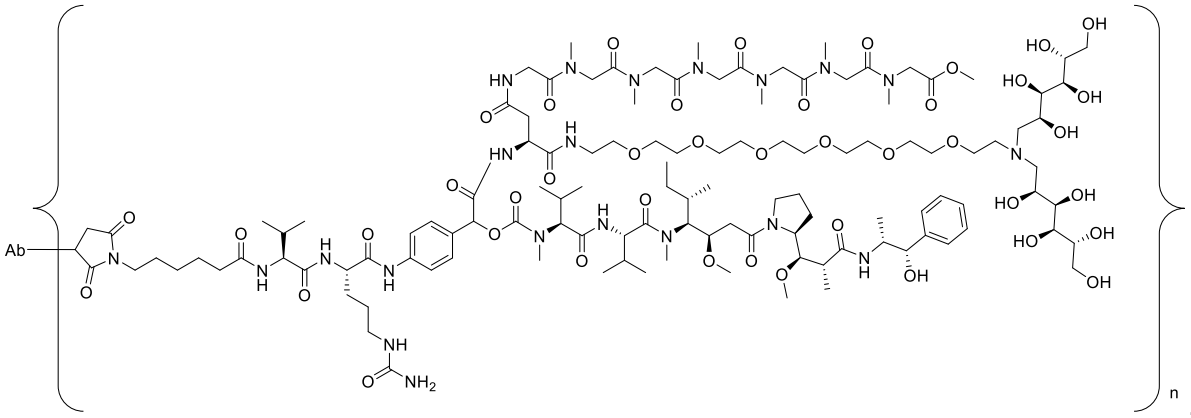
,



,



, o



en donde Ab es un grupo de direccionamiento y n es p^{carga}.

[470] Forma de realización 118: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109, 116 o 117, en donde el grupo de direccionamiento se une específicamente a una molécula diana.

[471] Forma de realización 119: El conjugado de la forma de realización 118, en donde la molécula diana es CD19, CD20, CD30, CD33, CD70, LIV-1 o EGFRv3.

[472] Forma de realización 120: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109, 116 o 117, en donde el grupo de direccionamiento se selecciona entre: un scFv1-ScFv2, un ScFv12-Fc-scFv22, un IgG-scFv, un DVD-Ig, un triomab/cuadroma, una IgG dos en uno, un scFv2-Fc, un TandAb y un scFv-HSA-scFv.

[473] Forma de realización 121: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109, 116 o 117, en donde la molécula diana es un antígeno asociado con cáncer.

[474] Forma de realización 122: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109, 116 o 117, en donde la molécula diana es CD19, CD20, CD30, CD33, CD38, CA125, HER2, MUC-1, un antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), molécula de adhesión superficial CD44, mesotelina (MLSN), un antígeno carcinoembrionario (CEA), un receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), EGFRvIII, el receptor 2 del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR2), un antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), MAGE-A1, IL-13R-a2, GD2, 1p19q, ABL1, AKT1, ALK, APC, AR, ATM, BRAF, BRCA1, BRCA2, cKIT, cMET, CSF1R, CTNNB1, FGFR1, FGFR2, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, KDR (VEGFR2), KRAS, MGMT, MGMT-Me, MLH1, MPL, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, Pgp, PIK3CA, PR, PTEN, RET, RRM1, SMO, SPARC, TLE3, TOP2A, TOPO1, TP53, TS, TUBB3, VHL, CDH1, ERBB4, FBXW7, HNF1A, JAK3, NPM1, PTPN11, RB1, SMAD4, SMARCB1, STK1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, ROS1, ERCC1, 5T4 (TPBG), B7-H3, CCR7, CD105, CD22, CD46, CD47, CD56, CD70, CD71, CD79b, CDH6, CLDN6, CLDN18.2, CLEC12A, DLL3, DR5, ERBB3 (HER3), EPCAM, FOLR1, IGF1R, IL2RA (CD25), IL3RA, ITGB6, LIV-1, LRRC15, mesotelina (MSLN), NaPi2b (SLC34A2), nectina-4, PTK7, ROR1, SEZ6, SLC44A4, SLITRK6, un factor tisular (TF), TROP2 o B7-H4.

[475] Forma de realización 123: El conjugado de cualquiera de las formas de realización 109, 116 o 117, en donde el grupo de direccionamiento es un anticuerpo, o un fragmento del mismo,

que comprende rituximab (Rituxan®), trastuzumab (Herceptin®), pertuzumab (Perjeta®)), bevacizumab (Avastin®), ranibizumab (Lucentis®), cetuximab (Erbitux®), alemtuzumab (Campath®), panitumumab (Vectibix®), ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), tositumomab (Bexxar®), ipilimumab, zalutumumab, dalotuzumab, figitumumab, ramucirumab, galiximab, farletuzumab, ocrelizumab, ofatumumab (Arzerra®), tositumumab, ibritumomab, los anticuerpos CD20 2F2 (HuMax-CD20), 7D8, IgM2C6, IgG1 2C6, 11B8, B1, 2H7, LT20, 1FS o AT80, daclizumab (Zenapax®), o anticuerpos anti-receptor de LHRH que incluyen los clones A9E4, F1G4, AT2G7, GNRH03 o GNRHR2.

[476] Forma de realización 124: Una composición farmacéutica que comprende el conjugado de cualquiera de las formas de realización 109 a 123 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[477] Forma de realización 125: Un método de tratamiento de un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto un conjugado de cualquiera de las formas de realización 109 a 123 o la composición farmacéutica de la forma de realización 124, en donde el sujeto tiene cáncer o una enfermedad autoinmune y el conjugado se une a un antígeno diana asociado con el cáncer o con la enfermedad autoinmune.

[478] La descripción de las formas de realización de la divulgación no pretende ser exhaustiva ni limitar la divulgación a la forma exacta divulgada. En tanto las formas de realización específicas, y los ejemplos, de la divulgación se describen en la presente a efectos ilustrativos, diversas modificaciones equivalentes son posibles dentro del alcance de la divulgación, como podrán reconocer aquellos con experiencia en el arte relevante. Las enseñanzas de la divulgación provistas en la presente se pueden aplicar a otros procedimientos o métodos, según corresponda. Las diversas formas de realización que se describe en la presente se pueden combinar a fin de proporcionar otras formas de realización. Se pueden modificar los aspectos de la divulgación, si fuera necesario, para emplear las composiciones, funciones y conceptos de las referencias y aplicación precedentes para proporcionar aún otras formas de realización de la divulgación. Estos y otros cambios se pueden efectuar en la divulgación a la luz de la descripción detallada.

[479] Los elementos específicos de cualquiera de las formas de realización precedentes se pueden combinar o sustituir por elementos en otras formas de realización. Además, si bien se han descritos las ventajas asociadas con determinadas formas de realización de la divulgación en el contexto de estas formas de realización, también hay otras formas de realización que presentan dichas ventajas, y no todas las formas de realización deben presentar necesariamente tales ventajas para su inclusión dentro del alcance de la divulgación. Todas las patentes y otras publicaciones identificadas se incorporan expresamente en la presente a modo de referencia con el propósito de describir y divulgar, por ejemplo, las metodologías descritas en dichas publicaciones que se podrían usar con relación a la presente invención. Estas publicaciones se proveen al solo efecto de su divulgación antes de la fecha de presentación de

la presente solicitud. Nada debe interpretarse en este sentido como una admisión que no da derecho a los inventores a preceder dicha exposición en virtud de la invención previa o por ninguna otra razón. Todas las declaraciones con respecto a la fecha o representación en cuanto al contenido de estos documentos se basa en la información disponible para los solicitantes y no constituye admisión con respecto a la veracidad de los datos o contenidos de estos documentos.

EJEMPLOS

Abreviaturas

[0480] Boc_2O: dicarbonato de di-tert-butilo

[0481] Bu_4NBr: bromuro de tetrabutilamonio

[0482] DCM: diclorometano

[0483] DEA: dietanolamina

[0484] DEAD: azodicarboxilato de dietilo

[0485] DIPEA: N,N-diisopropiletilamina

[0486] DMAP: 4-(Dimetilamino)piridina

[0487] DMF: N,N-dimetilformamida

[0488] DMTMM: cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metil-morfolinio

[0489] DMSO: sulfóxido de dimetilo

[0490] EEDQ: N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina

[0491] ESI: ionización por electroaspersión

[0492] HATU: hexafluorofosofato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio

[0493] HOBt: hidroxilbenzotriazol

[0494] LCMS: cromatografía líquida – espectrometría de masa

[0495] MeCN: acetonitrilo

[0496] MeOH: metanol

[0497] m-CPBA: ácido meta-cloroperoxibenzoico

[0498] MTBE: éter metílico tert-butílico

[0499] RMN: espectroscopía por resonancia magnética nuclear

[0500] Ph_3CCl: cloruro de trifenilmetilo

[0501] PNPC: carbonato de bis(4-nitrofenilo)

[0502] PPh_3: trifenilfosfina

[0503] TFA: ácido trifluoroacético

[0504] THF: tetrahidrofurano

[0505] TLC: cromatografía en capa delgada

[0506] TsOH: ácido p-toluenosulfónico

Métodos generales

[0507] Los espectros de ^1H RMN y otros RMN se registraron en Bruker AVIII 400 o Bruker AVIII 500. Los datos se procesaron con el programa Nuts o el programa MestReNova, midiendo los desplazamientos de protones en partes por millón (ppm) campo abajo a partir de un estándar interno de tetrametilsilano.

[0508] La medición de HPLC-MS se realizó en un sistema Agilent 1200 HPLC/6100 SQ usando las siguientes condiciones:

Método A: Fase Móvil: A: Agua (0,01% de TFA) B: acetonitrilo (0,01% de TFA); Fase de

Gradiente: 5% de B aumentando hasta 95% de B en 15 min; Tasa de flujo: 1,0 mL/min; Columna: XBridge C18, 4,6*150 mm, 3,5 µm; Temperatura de Columna: 40 ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), ES-API.

Método B: Fase Móvil: A: Agua (0,01% de TFA) B: acetonitrilo (0,01% de TFA); Fase de Gradiente: 5% de B aumentando hasta 95% de B en 15 min; Tasa de flujo: 1,0 mL/min; Columna: SunFire C18, 4,6*150 mm, 3,5 µm; Temperatura de Columna: 45 ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), ES-API.

Método C: Fase Móvil: A: Agua (10mM de NH_4HCO_3) B: acetonitrilo; Fase de Gradiente: 5% hasta 95% de B en 15 min; Tasa de flujo: 1,0 mL/min; Columna: XBridge C18, 4,6*150 mm, 3,5 µm; Temperatura de Columna: 40 ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), MSD (ES-API).

[0509] La medición de LCMS se realizó en un sistema Agilent 1200 HPLC/6100 SQ usando las siguientes condiciones:

Método A: Fase Móvil: A: Agua (0,01% de TFA) B: acetonitrilo (0,01% de TFA); Fase de Gradiente: 5% de B aumentando hasta 95% de B en 3 min; Tasa de flujo: 1,8 - 2,3 mL/min; Columna: SunFire C18, 4,6*50 mm, 3,5 µm; Temperatura de Columna: 50 ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), ES-API.

Método B: Fase Móvil: A: Agua (10mM de NH_4HCO_3) B: Acetonitrilo; Fase de Gradiente: 5% hasta 95% de B en 3 min; Tasa de flujo: 1,8 - 2,3 mL/min; Columna: XBridge C18, 4,6*50 mm, 3,5 µm; Temperatura de Columna: 50 ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), MSD (ES-API).

[0510] La cromatografía líquida de alta presión preparativa (HPLC prep.) se realizó en Gilson 281 usando las siguientes condiciones:

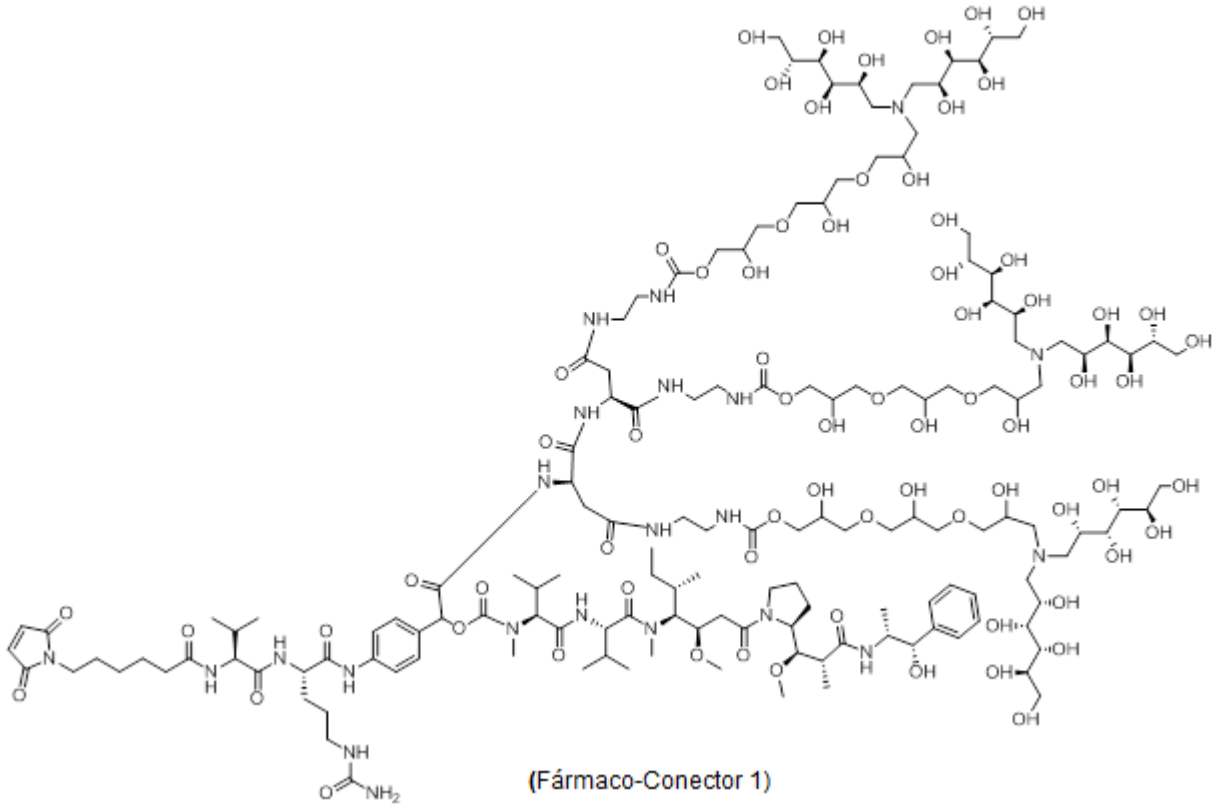
Método A: columna Waters SunFire 10 µm C18 (100 Å, 250 x 19 mm). El solvente A fue agua/0,01% de ácido trifluoroacético (TFA) y el solvente B fue acetonitrilo. La condición de elución fue un gradiente lineal de aumento del solvente B desde 5% hasta 100% a lo largo de un período de 20 minutos a una tasa de flujo de 30 mL/min.

Método B: columna Waters SunFire 10 µm C18 (100 Å, 250 x 19 mm). El solvente A fue agua/0,05% de ácido fórmico (FA) y el solvente B fue acetonitrilo. La condición de elución fue un gradiente lineal de aumento del solvente B desde 5% hasta 100% a lo largo de un período de 20 minutos a una tasa de flujo de 30 mL/min.

Método C: columna Waters Xbridge 10 µm C18 (100 Å, 250 x 19 mm). El solvente A fue agua/10 mM de bicarbonato de amonio (NH_4HCO_3) y el solvente B fue acetonitrilo. La condición de elución fue un gradiente lineal de aumento del solvente B desde 5% hasta 100% a lo largo de un período de 20 minutos a una tasa de flujo de 30 mL/min.

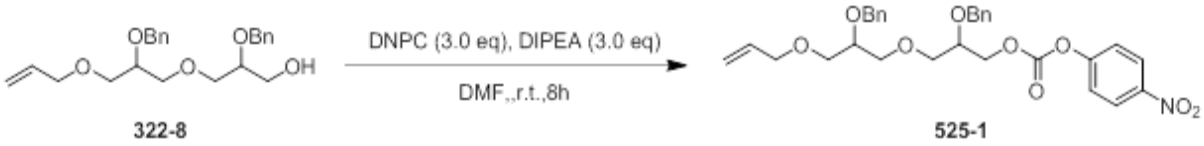
[0511] La cromatografía flash se llevó a cabo en un instrumento de Biotage, con Columna Agela Flash Silica-CS; la cromatografía flash en fase reversa se llevó a cabo en un instrumento de Biotage, con Boston ODS o Agela C18.

Ejemplo 1: Preparación del Fármaco-Conector 1



(Fármaco-Conector 1)

Paso 1

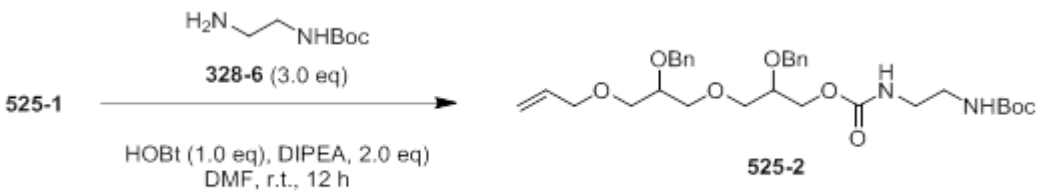


322-8 525-1

paso 1

[0512] A una solución de **322-8** (600 mg, 1,554 mmol) en DMF (12 mL) se agregó DIPEA (602,4 mg, 4,661 mmol), seguido por carbonato de 4,4'-dinitrodifenilo (1,42 g, 4,661 mmol), luego la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas hasta que **322-8** se consumió, según la detección por LCMS. La solución de la reacción se usó directamente en el siguiente paso sin tratamiento posterior.

Paso 2



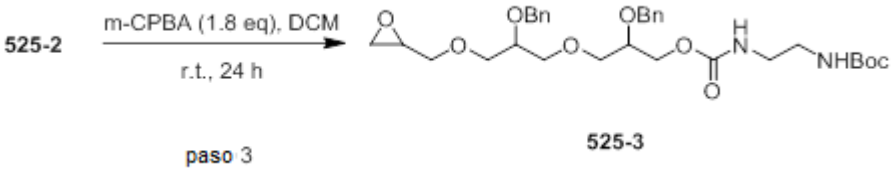
525-2

paso 2

[0513] A la mezcla de reacción precedente se agregó HOBt (210 mg, 1,554 mmol), DIPEA (401,7 mg, 3,108 mmol) y **328-6** (746,5 mg, 4,662 mmol) en forma sucesiva, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas hasta que **525-1** se consumió,

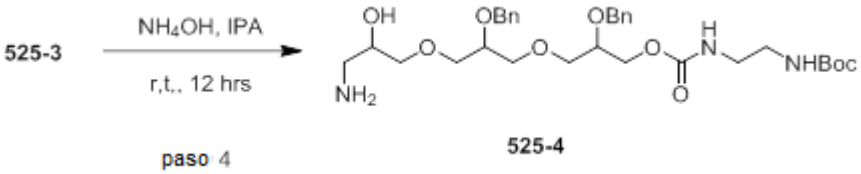
según la detección por LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (180 mL) y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (acuoso, 45 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-80% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **525-2** (893 mg, 1,56 mmol, 100,4% al cabo de 2 pasos) como un aceite amarillo pálido.

Paso 3



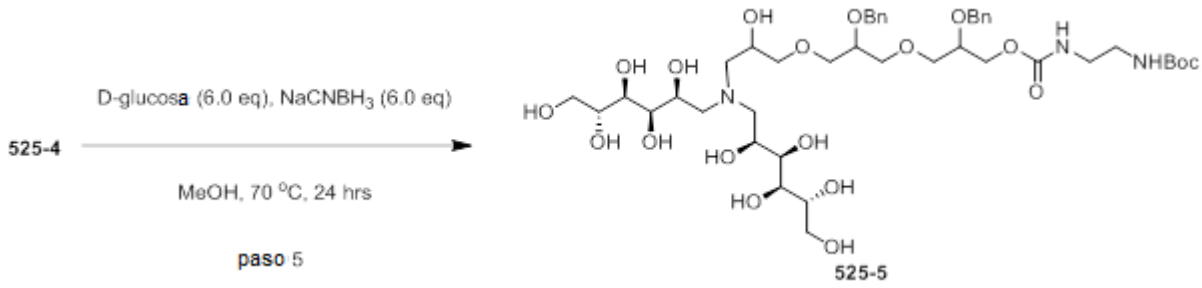
[0514] A una solución de **525-2** (890 mg, 1,555 mmol) en DCM (10 mL) se agregó una solución de m-CPBA (483 mg, 2,80 mmol) en DCM (10 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **525-2** se consumió, y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ (acuoso, 10 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 10 mL) saturados. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (50 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (20 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **525-3** (790 mg, 1,343 mmol, 86,4%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



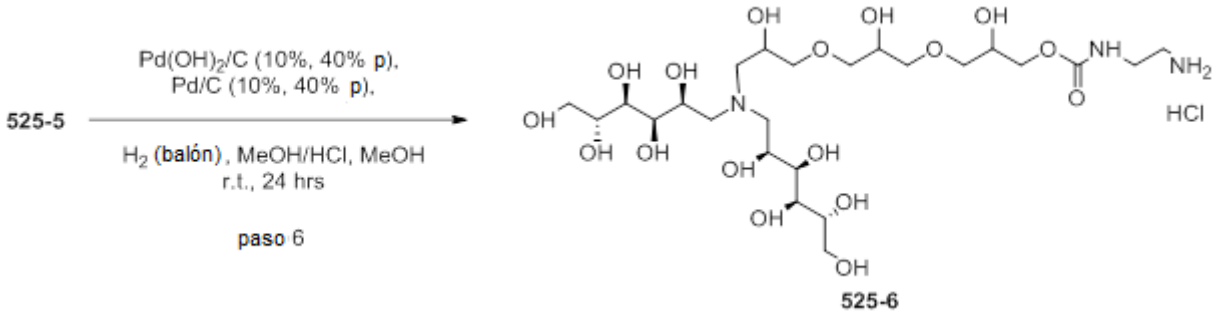
[0515] A una solución de **525-3** (790 mg, 1,343 mmol) en alcohol isopropílico (110 mL) se agregó amoníaco (110 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **525-3** se consumió. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **525-4** (801,2 mg, 1,323 mmol, 98,6%) como un aceite amarillo, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

Paso 5



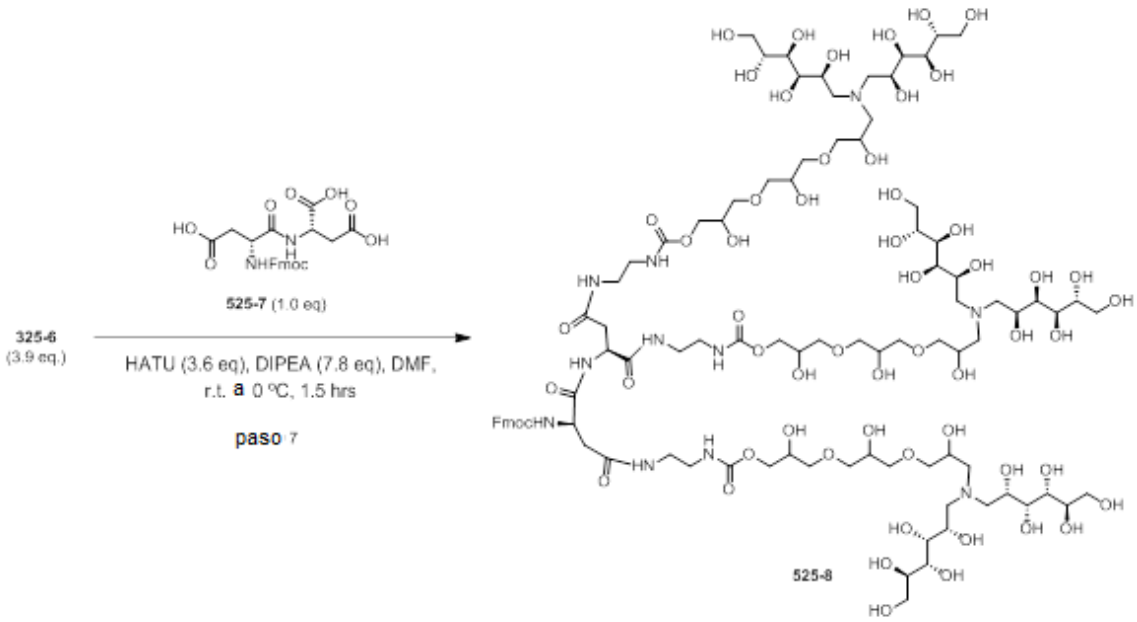
[0516] Una mezcla de **525-4** (801,2 mg, 1,324 mmol), D-glucosa (1,43 g, 7,937 mmol) y $NaCNBH_3$ (499,2 mg, 7,94 mmol) en MeOH anhidro (21 mL) se agitó a 70 °C durante 24 horas hasta que la mayor parte de **525-4** se consumió y **525-5** se detectó por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **525-5** (1,2 g, 1,29 mmol, 97,1%) como un aceite incoloro. Pureza = 85%-90%.

Paso 6



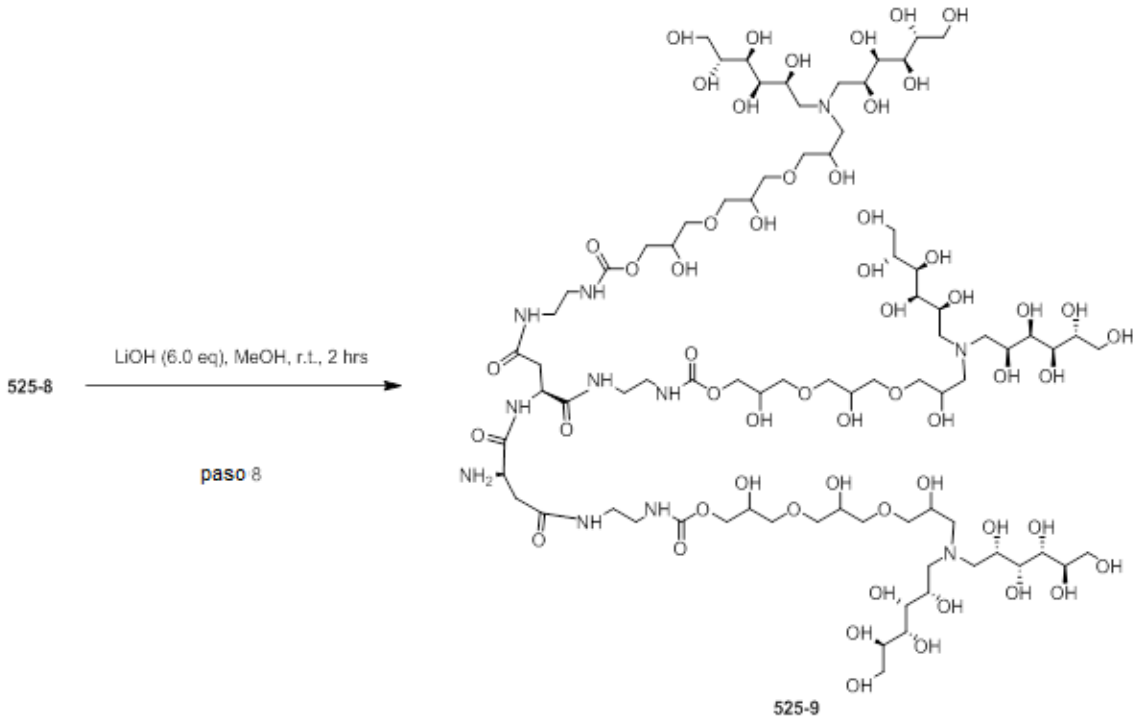
[0517] Una mezcla de **525-5** (1,2 g, 1,286 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 250 mg) y Pd/C (10%, 250 mg) en HCl/MeOH (4M, 25 mL), MeOH (25 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **525-5** se convirtió completamente a **525-6**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **525-6** (886 mg, 1,285 mmol, 100,0%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 7



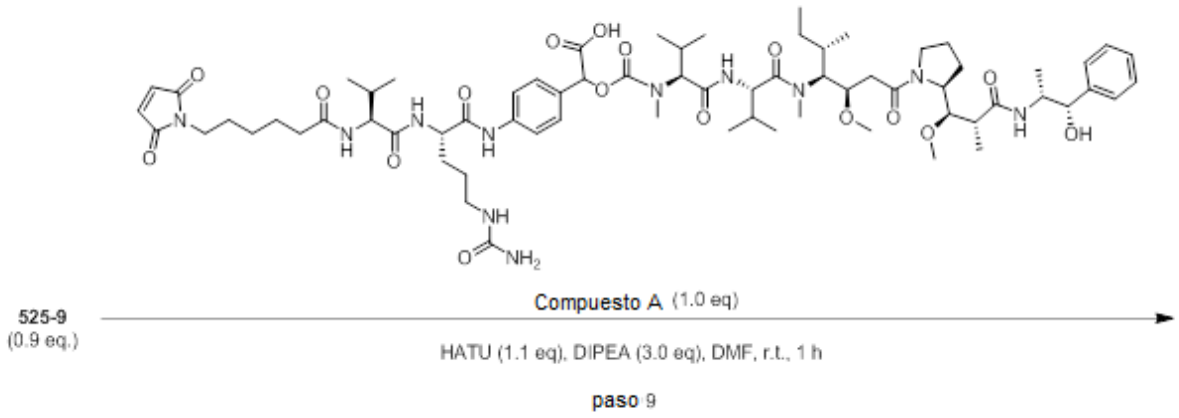
[0518] Una solución de **525-7** (104,9 mg, 0,223 mmol) y HATU (305,4 mg, 0,803 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se agitó en un baño de hielo. Una solución de **525-6** (600 mg, 0,870 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agregó por goteo, seguida por DIPEA (225 mg, 1,74 mmol). La mezcla resultante se agitó en un baño de hielo durante 1 h hasta que la mayor parte de **526-7** se consumió. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **525-8** (269,8 mg, 0,113 mmol, 50,9%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,87 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,64 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,47 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,42 – 7,32 (m, 2H), 4,65 – 4,57 (m, 1H), 4,53 – 4,36 (m, 3H), 4,33 – 4,13 (m, 10H), 4,08 – 3,87 (m, 12H), 3,84 – 3,69 (m, 18H), 3,67 – 3,35 (m, 53H), 3,30 – 3,07 (m, 12H), 2,77 – 2,32 (m, 4H).

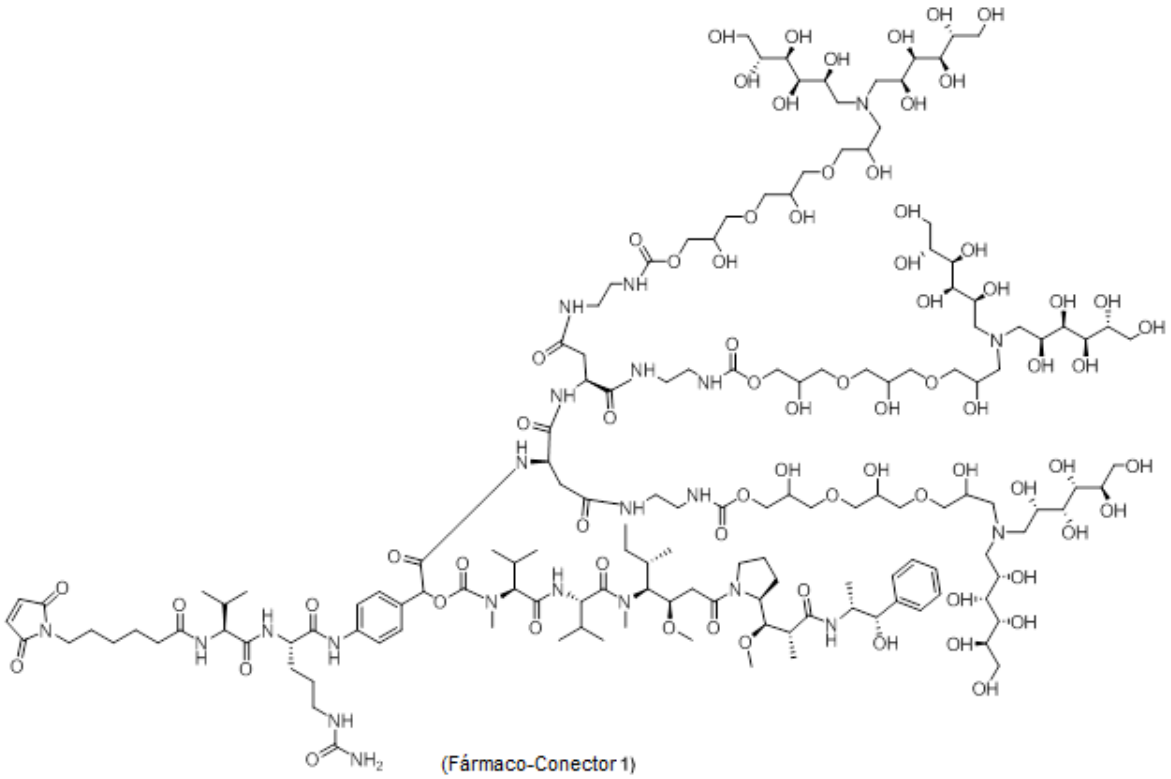
Paso 8



[0519] A una solución de **525-8** (100 mg, 0,0421 mmol) en MeOH (3 mL) y H_2O (1 mL) se agregó LiOH•H_2O (10,6 mg, 0,252 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que **525-8** se consumió. La solución de la reacción se neutralizó con HCl 1N hasta pH = 7, y se concentró bajo presión reducida para dar un producto crudo, el cual se disolvió en H_2O (15 mL) y se lavó con hexano (10 mL x 3). La fase acuosa se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **525-9** (74,6 mg, 0,0346 mmol, 82,3%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 9

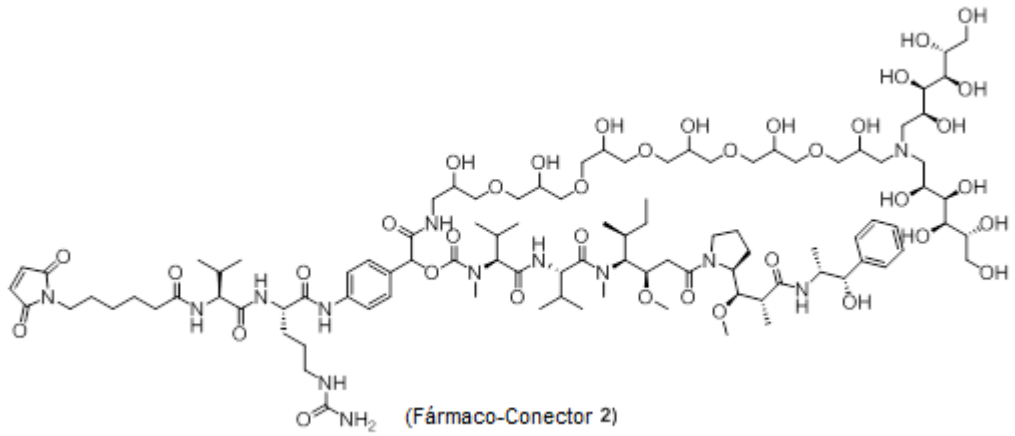




(Fármaco-Conector 1)

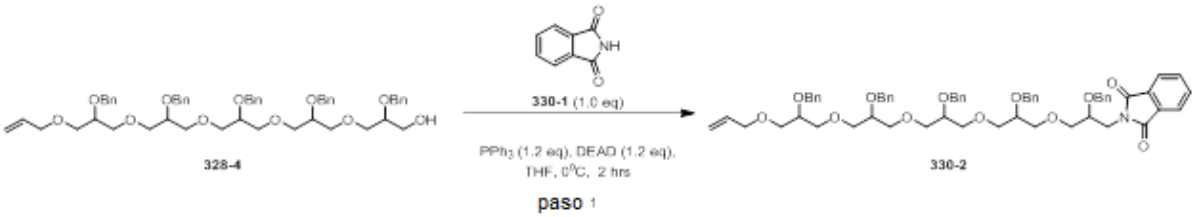
[0520] Una solución de **525-9** (70,0 mg, 0,0325 mmol), el **Compuesto A** (49 mg, 0,0360 mmol), HATU (15,1 mg, 0,0397 mmol) y DIPEA (14,0 mg, 0,108 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 1** (23,5 mg, 0,00672 mmol, 20,7%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1749,66 $(M/2+H)^+$, m/z = 1166,72 $(M/2+H)^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,61 – 7,40 (m, 4H), 7,39 – 7,26 (m, 4H), 7,25 – 7,13 (m, 1H), 6,77 (s, 2H), 5,98 (t, J = 13,6 Hz, 1H), 4,75 – 4,52 (m, 7H), 4,49 – 4,38 (m, 2H), 4,37 – 3,90 (m, 25H), 3,87 – 3,38 (m, 73H), 3,37 – 2,87 (m, 28H), 2,87 – 2,08 (m, 12H), 2,07 – 1,95 (m, 2H), 1,93 – 1,65 (m, 5H), 1,68 – 1,41 (m, 8H), 1,37 – 1,11 (m, 8H), 1,09 – 1,02 (m, 2H), 1,00 – 0,75 (m, 20H), 0,74 – 0,67 (m, 1H), 0,57 – 0,48 (m, 1H), 0,33 (d, J = 6,4 Hz, 1H).

Ejemplo 2: Preparación del Fármaco-Conector 2



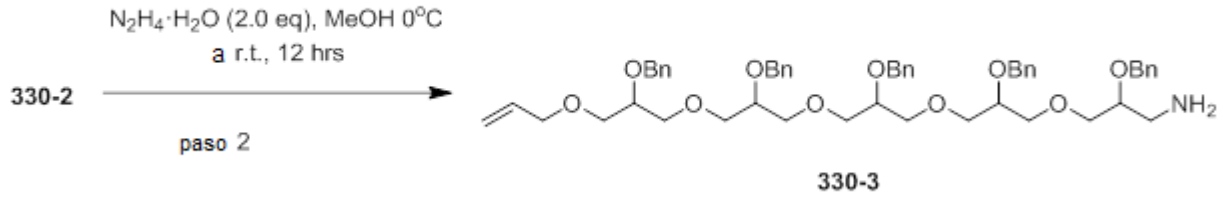
(Fármaco-Conector 2)

Paso 1



[0521] A una solución de **330-1** (217,6 mg, 1,48 mmol) y PPh_3 (465,5 mg, 1,776 mmol) en THF (8 mL) se agregó una solución de **328-4** (1,3 g, 1,48 mmol) en THF (4 mL) y la mezcla se agitó en un baño de hielo. Una solución de DEAD (309,3 mg, 1,776 mmol) en THF (1 mL) se agregó a la solución precedente y la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas hasta que **328-4** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con agua (1 mL), y la reacción se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **330-2** (1,307 g, 1,297 mmol, 87,7%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,77 (dd, J = 5,6, 3,2 Hz, 2H), 7,66 (dd, J = 5,6, 3,2 Hz, 2H), 7,34 – 7,20 (m, 20H), 7,19 – 7,15 (m, 2H), 7,12 – 7,04 (m, 3H), 5,95 – 5,81 (m, 1H), 5,29 – 5,22 (m, 1H), 5,15 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 4,69 – 4,63 (m, 9H), 4,51 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,99 – 3,95 (m, 2H), 3,93 – 3,83 (m, 2H), 3,76 – 3,69 (m, 5H), 3,60 – 3,52 (m, 18H).

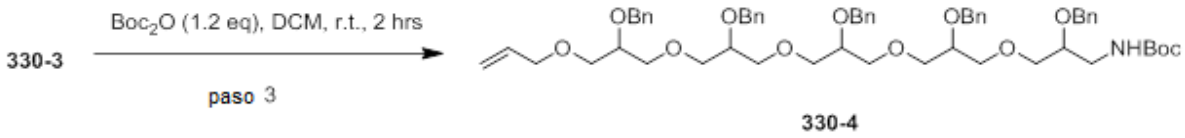
Paso 2



[0522] A una solución de **330-2** (1,472 g, 1,46 mmol) en MeOH (10 mL) se agregó N_2H_4•H_2O (146,3 mg, 2,92 mmol) en un baño de hielo, la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 10 horas hasta que **330-2** se consumió, según lo indicado por TLC.

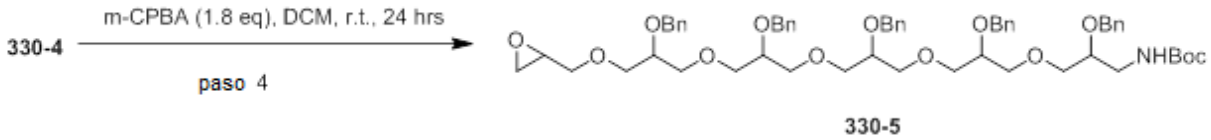
La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se disolvió en acetato de etilo (20 mL) y se filtró. El material filtrado se concentró bajo presión reducida para dar **330-3** (1,23 g, 1,402 mmol, 95,9%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3



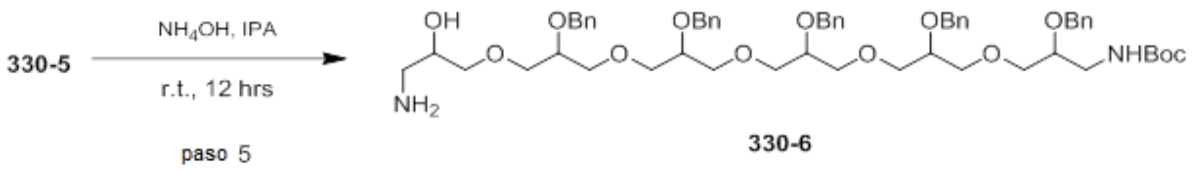
[0523] A una solución de **330-3** (1,23 g, 1,40 mmol) en DCM (8 mL) se agregó Boc_2O (367 mg. 1,68 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 2 horas hasta que **330-3** se consumió y **330-4** se detectó por LCMS. La reacción se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-40% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **330-4** (1,23 g, 1,26 mmol, 89,8%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



[0524] A una solución de **330-4** (800 mg, 0,818 mmol) en DCM (5 mL) se agregó una solución de m-CPBA (254 mg, 1,473 mmol) en DCM (5 mL) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 24 horas hasta que **330-4** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo agregando $Na_2S_2O_3$ saturado (5 mL) y $NaHCO_3$ saturado (5 mL), y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos antes de diluir con DCM (60 mL). La fase orgánica se lavó en forma secuencial con $Na_2S_2O_3$ saturado (20 mL) y $NaHCO_3$ saturado (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **330-5** (689 mg, 0,693 mmol, 84,8%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

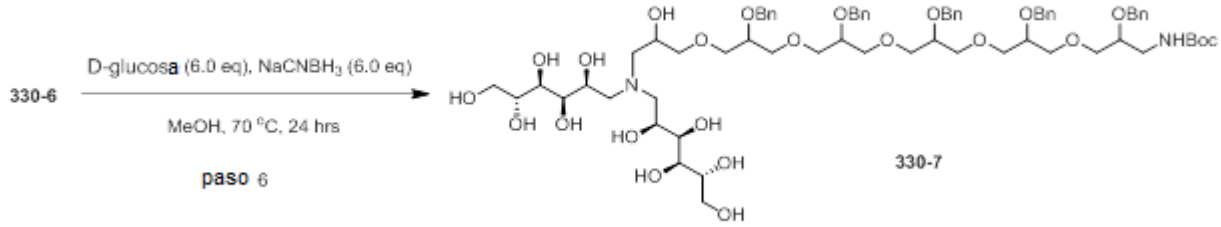
Paso 5



[0525] A una solución de **330-5** (689 mg, 0,693 mmol) en alcohol isopropílico (56 mL) se

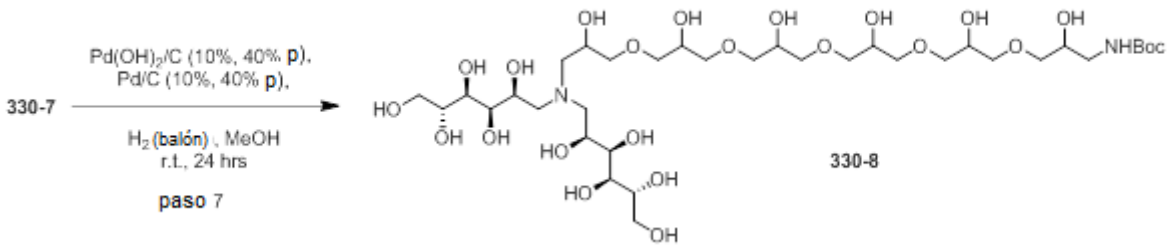
agregó amoníaco (43 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **330-5** se consumió. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-6** (698,7 mg, 0,691 mmol, 99,7%) como un aceite amarillo, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

Paso 6



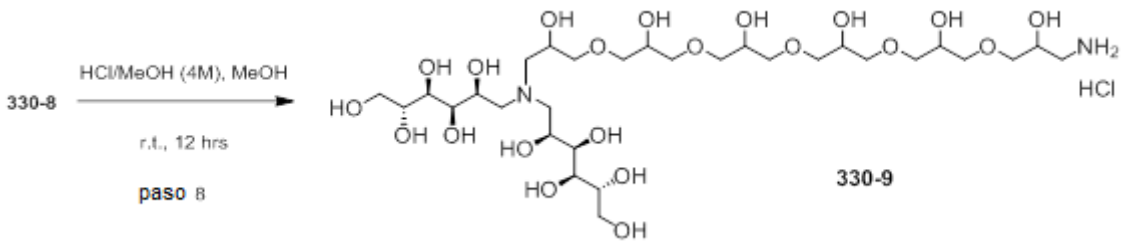
[0526] Una mezcla de **330-6** (983 mg, 0,973 mmol), D-glucosa (1,05 g, 5,836 mmol) y $NaCNBH_3$ (366,7 mg, 5,836 mmol) en MeOH anhidro (15 mL) se agitó a 70°C durante 24 horas hasta que la mayor parte de **330-6** se consumió y **330-7** se detectó por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **330-7** (889 mg, 0,664 mmol, 68,2%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

Paso 7



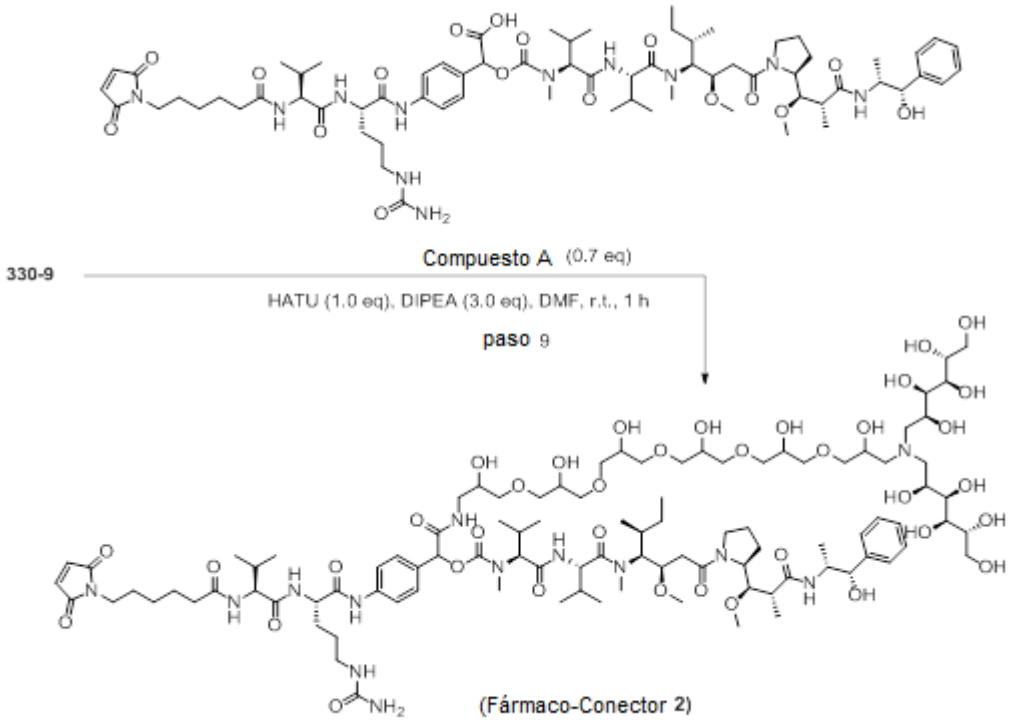
[0527] Una mezcla de **330-7** (270 mg, 0,202 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 120 mg) y Pd/C (10%, 120 mg) en MeOH (25 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **330-7** se convirtió completamente a **330-8**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-8** (138,2 mg, 0,156 mmol, 77,0%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 8



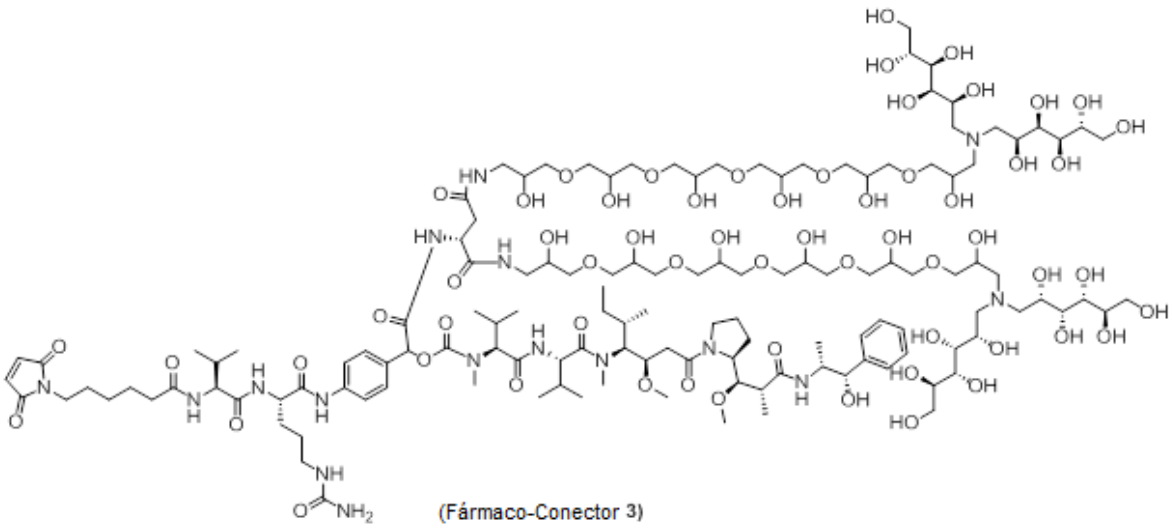
[0528] Una solución de **330-8** (138 mg, 0,155 mmol) en HCl/MeOH (4M, 3 mL) y MeOH (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas hasta que **330-8** se convirtió completamente a **330-9**. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-9** (128 mg, 0,155 mmol, 100%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 9



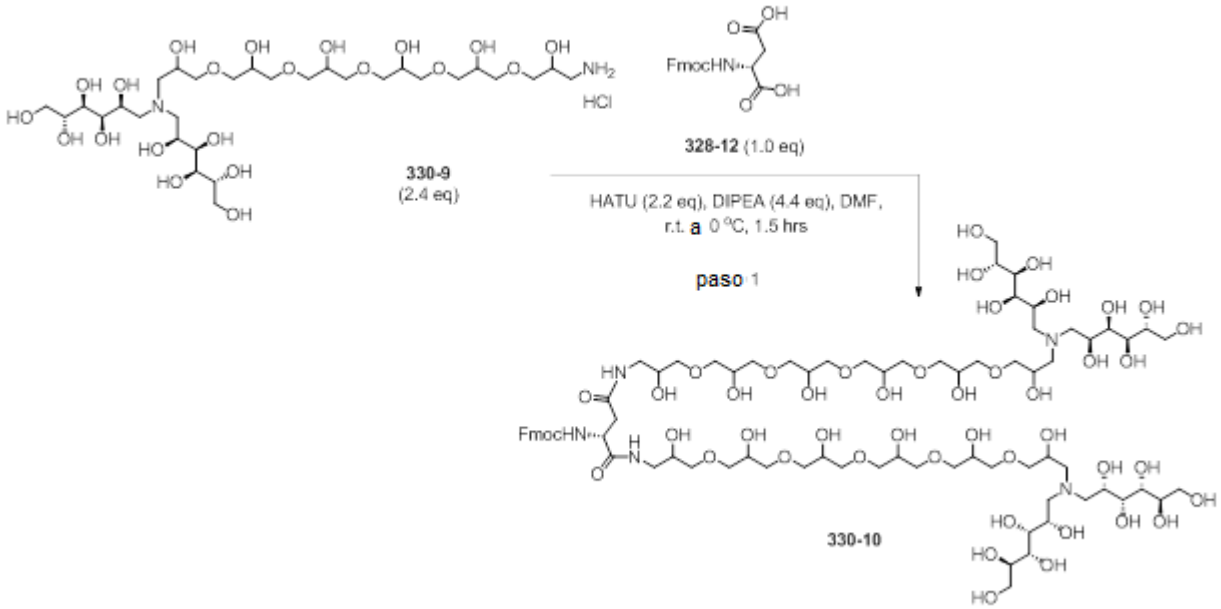
Una solución de **330-9** (46 mg, 0,0558 mmol), el **Compuesto A** (53 mg, 0,0390 mmol), HATU (21,2 mg, 0,0558 mmol) y DIPEA (21,6 mg, 0,167 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 2** (28 mg, 0,0131 mmol. 33,7%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1066,11 $(M/2+H)^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,50 – 7,42 (m, 4H), 7,40 – 7,26 (m, 4H), 7,25 – 7,13 (m, 1H), 6,77 (s, 2H), 6,04 – 5,87 (m, 1H), 4,72 – 4,55 (m, 2H), 4,52 – 4,40 (m, 2H), 4,37 – 4,17 (m, 5H), 4,13 – 3,96 (m, 5H), 3,94 – 3,85 (m, 2H), 3,84 – 3,72 (m, 6H), 3,69 – 3,21 (m, 43H), 3,18 – 2,90 (m, 8H), 2,71 (s, 1H), 2,61 – 2,39 (m, 2H), 2,35 – 2,11 (m, 4H), 2,04 (d, J = 9,8 Hz, 2H), 1,93 – 1,71 (m, 5H), 1,67 – 1,44 (m, 8H), 1,34 – 1,26 (m, 3H), 1,25 – 1,11 (m, 5H), 1,06 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 0,99 – 0,72 (m, 22H), 0,62 – 0,52 (m, 1H), 0,47 – 0,33 (m, 1H).

Ejemplo 3: Preparación del Fármaco-Conector 3



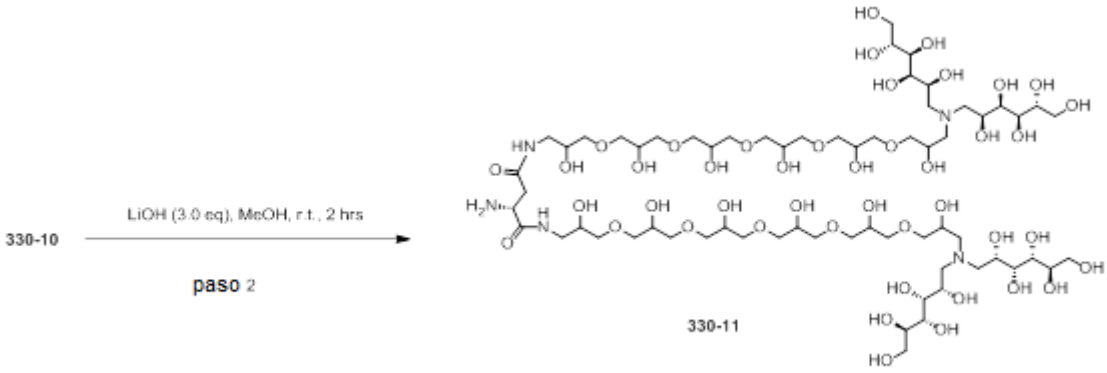
(Fármaco-Conector 3)

Paso 1



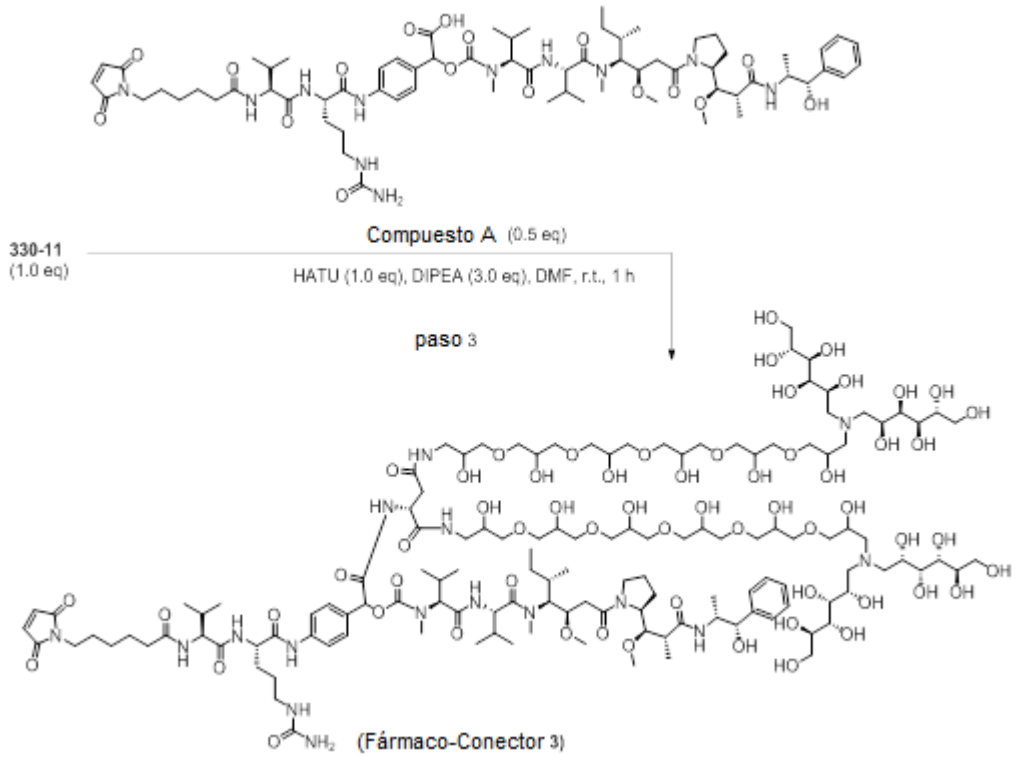
[0529] Una solución de **328-12** (16,5 mg, 0,0465 mmol) y HATU (38,9 mg, 0,102 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se agitó en un baño de hielo. Una solución de **330-9** (92 mg, 0,112 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agregó por goteo, seguida por DIPEA (26,5 mg, 0,205 mmol). La mezcla resultante se agitó en un baño de hielo durante 1 h hasta que la mayor parte de **328-12** se consumió. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **330-10** (14 mg, 0,00738 mmol, 15,9%) como un aceite incoloro.

Paso 2



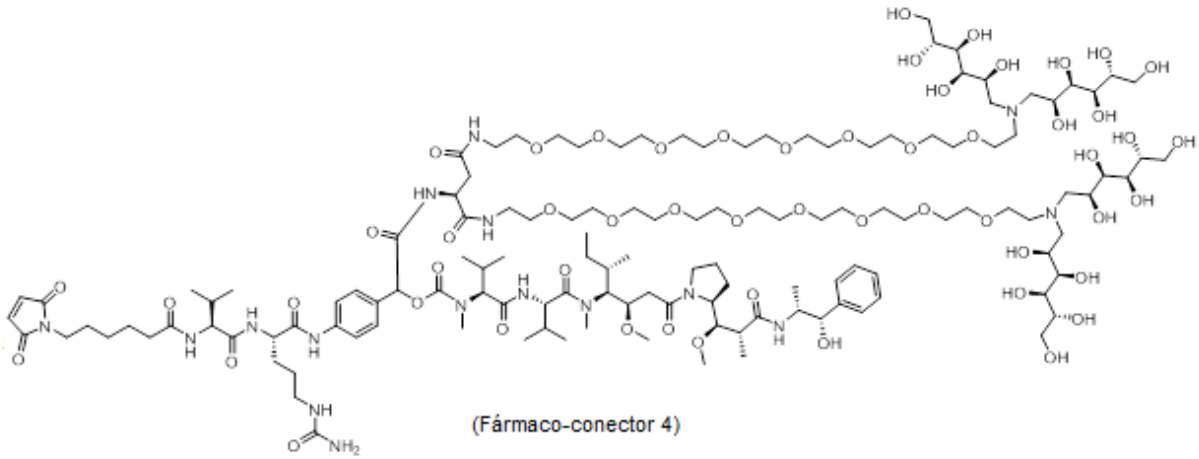
[0530] A una solución de **330-10** (14 mg, 0,00738 mmol) en MeOH (2 mL) se agregó LiOH•H_2O (2 mg, 0,0442 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que **330-10** se consumió. La solución de la reacción se neutralizó con HCl 1N hasta pH = 7, y se concentró bajo presión reducida para dar un producto crudo, el cual se disolvió en H_2O (5 mL) y se lavó con hexano (2 mL x 3). La fase acuosa se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-11** (12,4 mg, 0,0074 mmol, 100%) como un sólido blanco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3



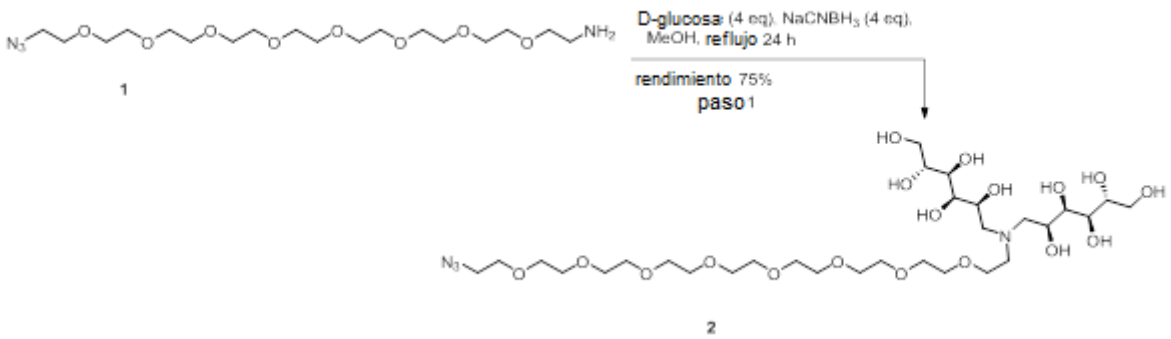
[0531] Una solución de **330-11** (12 mg, 0,00716 mmol), el **Compuesto A** (5,0 mg, 0,00368 mmol), HATU (2,7 mg, 0,0071 mmol) y DIPEA (2,8 mg, 0,0217 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 3** (5,0 mg, 0,00166 mmol, 45,1%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1509,00 $(M/2+H)^+$, m/z = 1006,6 $(M/3+H)^+$.

Ejemplo 4: Preparación del Fármaco-Conector 4



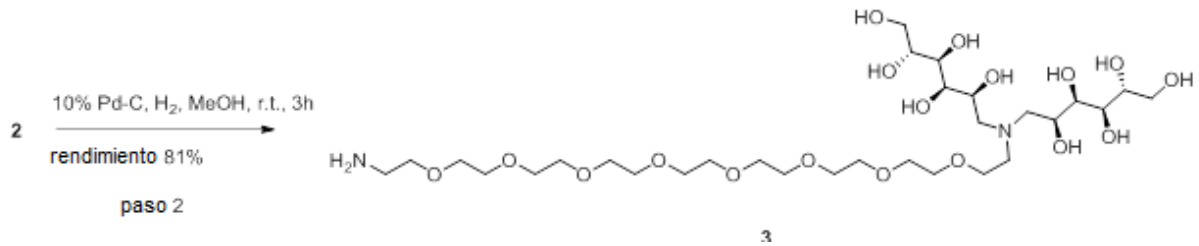
(Fármaco-conector 4)

Paso 1



[0532] A la solución de **1** (2,5 g, 5,701 mmol) en MeOH (20 mL) se agregó D-Glucosa (4,11 g, 22,804 mmol) y $NaBH_3CN$ (1,385 mL, 22,804 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 24 h hasta completarse la reacción. Luego la solución resultante se concentró hasta secar y el residuo se purificó mediante cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-45% de metanol en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto **2** como un aceite amarillo. ESI m/z: 767,5$(M+H)^+$.

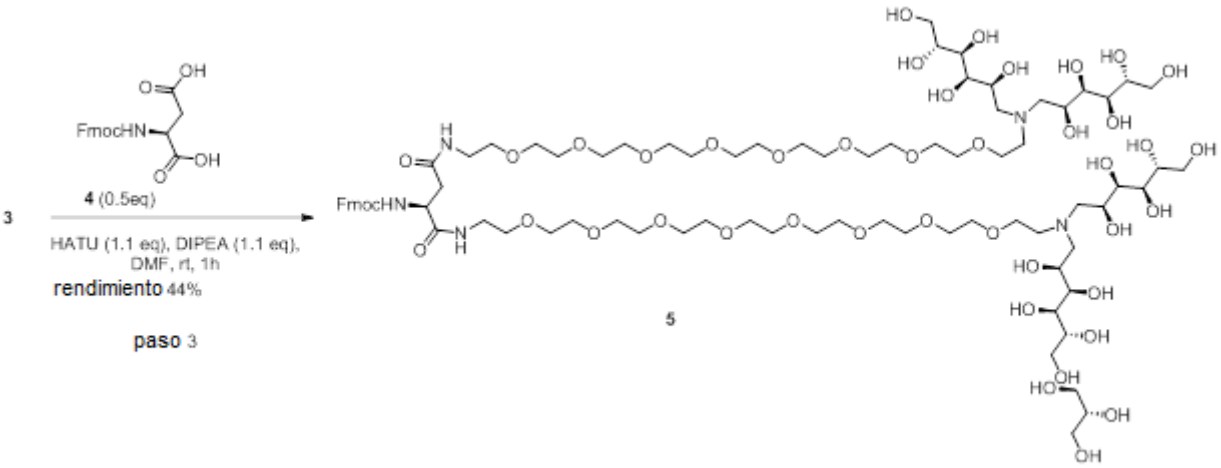
Paso 2



[0533] A la solución de **2** (3,3 g, 4,303 mmol) en MeOH (20 mL) se agregó Pd/C (10% p, 330 mg) bajo nitrógeno y se equipó con balón de H_2. El sistema de reacción se desgasificó y se llenó con hidrógeno tres veces y luego se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de hidrógeno durante 3 h hasta completarse la reacción. La mezcla resultante se filtró para

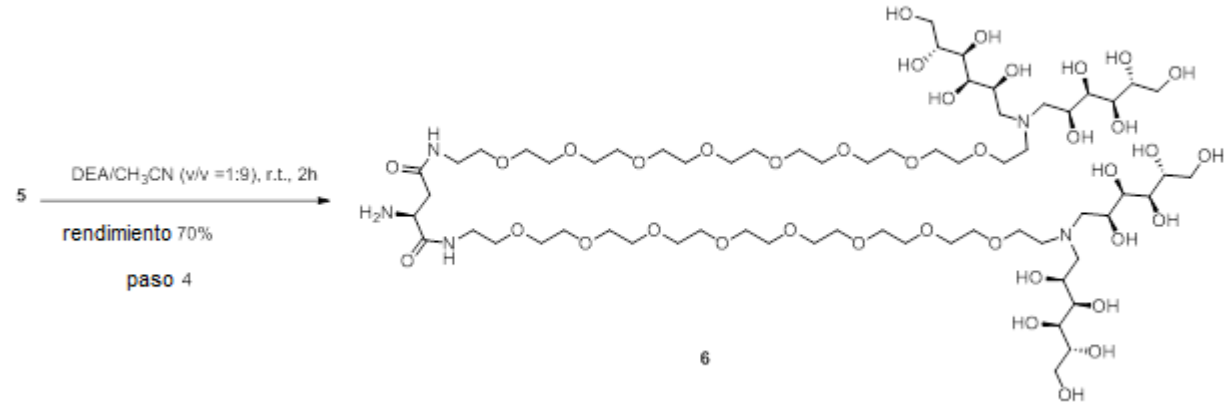
eliminar el catalizador sólido y el material filtrado se concentró, luego se purificó por cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-25% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto **3** (2,6 g, 3,510 mmol, 81,50%) como un aceite incoloro. ESI m/z: 371,3 (M/2+H)+, 741,4 (M+H)$^+$.

Paso 3



[0534] A una solución del compuesto 5 (0,62 g, 1,755 mmol) en DMF (5 mL) se agregó HATU (1,47 g, 3,860 mmol) seguido por DIPEA (0,50 g, 3,860 mmol). Luego de agitar a temperatura ambiente durante 15 min, la solución se agregó por goteo sobre la solución de **3** (2,6 g, 3,510 mmol) en DMF (5 mL). Después de la adición, la solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h adicional hasta completarse la reacción. La reacción completa luego se purificó directamente por cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-40% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto **5** (1,4 g, 0,777 mmol, 44,30%) como un aceite incoloro. ESI m/z: 601,0(M/3+H)$^+$, 901,0(M/2+H)$^+$.

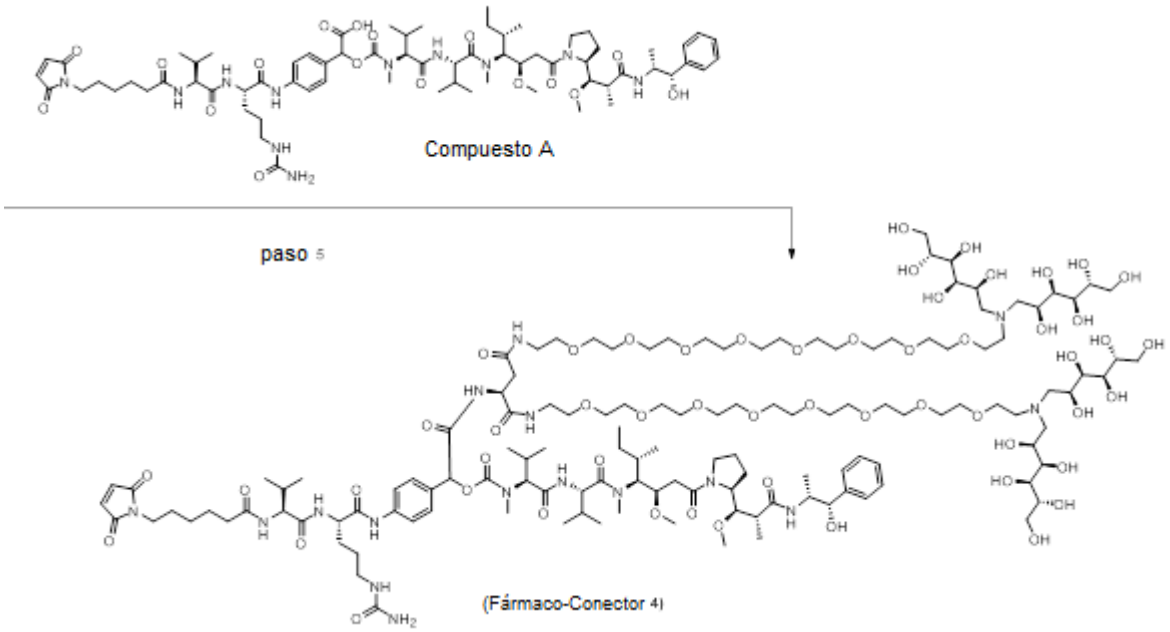
Paso 4



[0535] A la solución de **5** (1,4 g, 0,777 mmol) en MeCN (6 mL) se agregó dietilamina (0,7 mL, 8,930 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h para completar la desprotección. Luego la solución resultante se concentró bajo presión reducida para eliminar la mayor parte de la dietilamina, y el residuo se purificó mediante cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-20% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar las

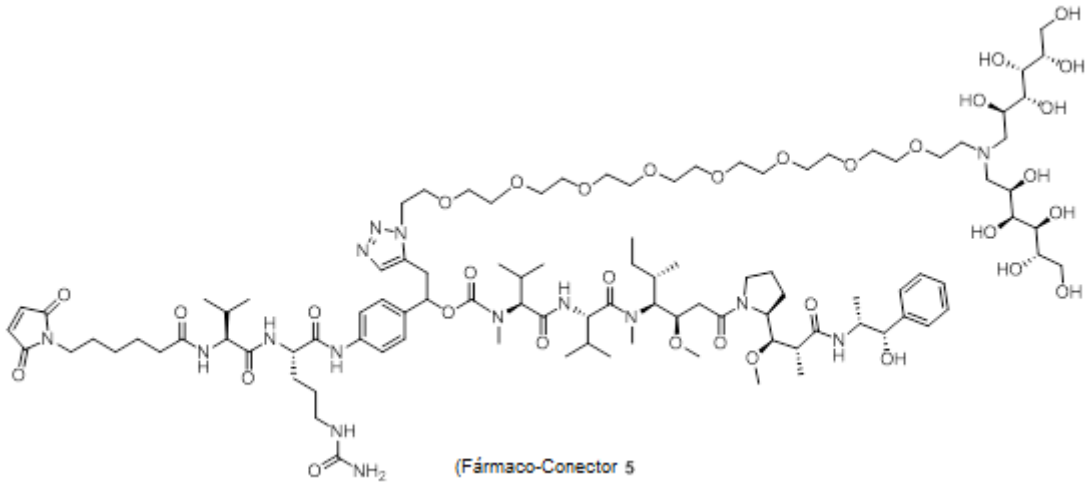
fracciones deseadas, que se secaron por congelamiento para dar **6** como un aceite pegajoso incoloro. ESI m/z: 526,9 $(M/3+H)^+$, 789,9 $(M/2+H)^+$. 1HNMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8,36 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 8,24 (t, J =5,6 Hz, 1H), 5,88-4,41 (m, 15H), 3,99-3,79 (m, 4H), 3,61-3,56 (m, 12H), 3,52-3,49 (m, 60H), 3,49-3,40 (m, 12H), 3,27-3,19 (m, 6H), 3,04-2,86 (m, 16H), 2,65-2,06 (m, 2H), 1,15 (t, J = 7,2 Hz, 2H) ppm.

Paso 5

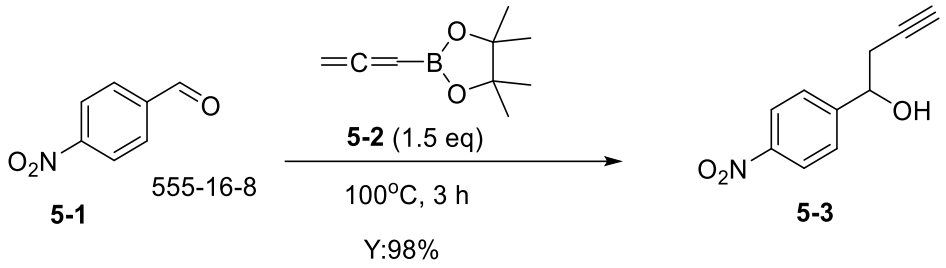


[0536] Una solución de **6** (100 mg, 0,063 mmol), el **Compuesto A** (86 mg, 0,063 mmol) y HATU (24 mg, 0,063 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (25 mg, 0,193 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 4** (40 mg, 0,014 mmol, 21,73%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1461,23$(M/2+H)^+$; ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,54-7,48 (m, 2H), 7,45-7,37 (m, 2H), 7,37-7,26 (m, 5H), 6,73 (s, 2H), 4,40-4,38 (m, 2H), 4,19-4,15 (m, 6H), 3,85-3,83 (m, 5H), 3,78-3,74 (m, 10H), 3,71-3,66 (m, 13H), 3,63-3,61 (m, 49H), 3,58-3,56 (m, 17H), 3,49-3,43 (m, 14H), 3,39-3,35 (m, 4H), 3,30-3,29 (d, 3H), 3,24-3,23 (d, 4H), 3,06-3,00 (m, 4H), 2,77-2,64 (m, 2H), 2,22-2,21 (m, 2H), 1,99-1,97 (m, 2H), 1,75 (s, 5H), 1,53-1,45 (m, 10H), 1,24-1,08 (m, 9H), 1,02-1,01 (m, 2H), 0,92-0,75 (m, 28H) ppm.

Ejemplo 5: Preparación del Fármaco-Conector 5

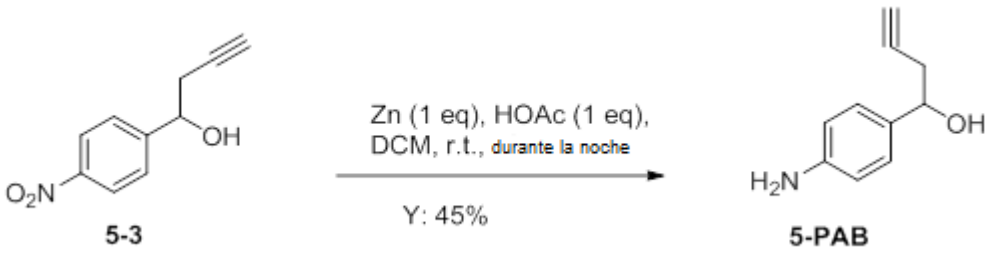


Paso 1



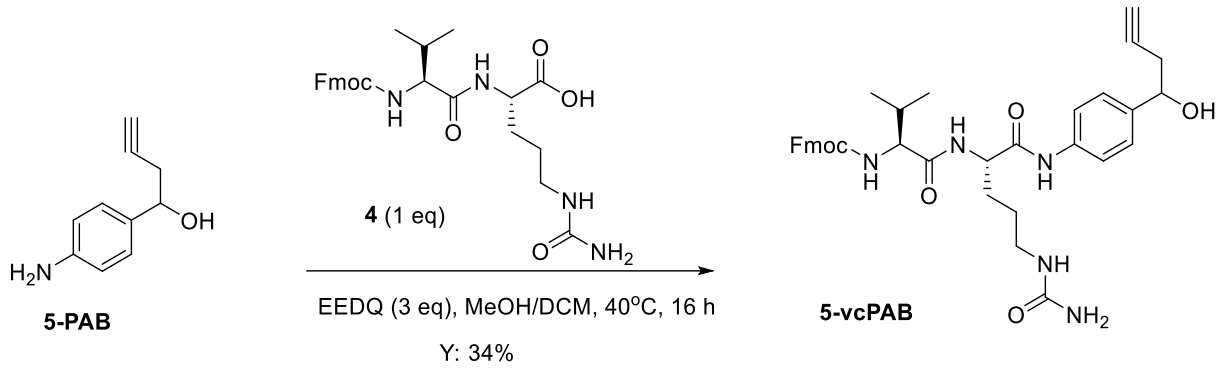
[0537] La mezcla de 4-nitrobenzaldehído **5-1** (10 g, 66,173 mmol) y 4,4,5,5-tetrametil-2-(propa-1,2-dien-1-il)-1,3,2-dioxaborolano **5-2** (17,532 mL, 99,259 mmol) se calentó a 100 °C bajo una atmósfera de nitrógeno con agitación durante 3 h para completar la conversión. Luego la solución resultante se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice, eluyendo con 0-30% de EA en PE) para dar el producto **5-3** (12,6 g, 65,903 mmol, 99,60%) como un sólido amarillo pálido. ESI m/z : 192,1(M+H)$^+$.

Paso 2



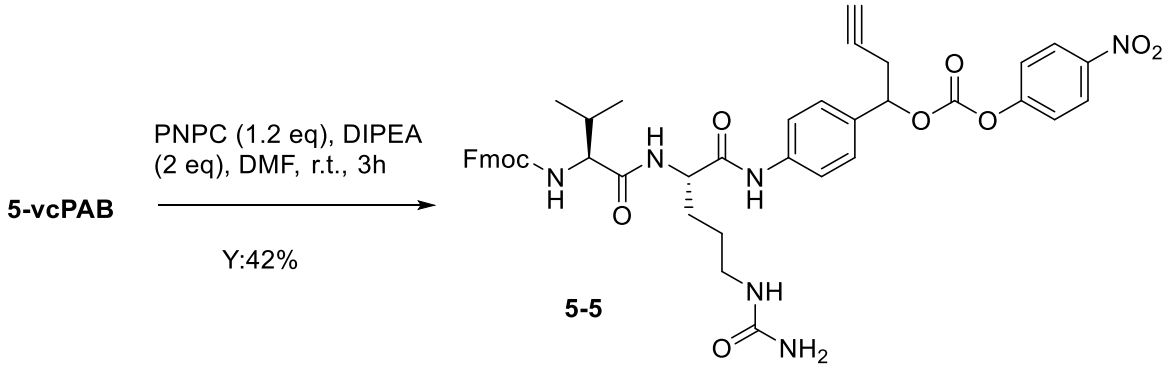
[0538] A la solución de 1-(4-nitrofenil)but-3-in-1-ol **5-3** (16 g, 83,686 mmol) en DCM (30 mL) se agregó Zn en polvo (0,767 mL, 83,686 mmol) y ácido acético (4,795 mL, 83,686 mmol). Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una vez completa la reacción, la mezcla se filtró para eliminar el zinc sólido, y el material filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía flash en fase reversa (columna C18, eluyendo con 0-15% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto 1-(4-aminofenil)but-3-in-1-ol **5-PAB** (6,1 g, 37,841 mmol, 45,22%) como un sólido marrón. ESI m/z: 162,2(M+H)$^+$.

Paso 3



[0539] A la solución de ácido (2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilbutanamido]pentanoico **4** (2,5 g, 5,035 mmol) en MeOH (8 mL) y DCM (32 mL) se agregó 1-(4-aminofenil)but-3-in-1-ol **5-PAB** (0,81 g, 5,035 mmol) y EEDQ (3,74 g, 15,104 mmol). La mezcla se agitó a 40 °C durante la noche hasta completarse la reacción. La solución resultante se concentró hasta secar y luego se purificó mediante cromatografía flash (gel de sílice, eluyendo con 0-10% de metanol en DCM) para dar el producto N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(carbamoilamino)-1-{[4-(1-hidroxibut-3-in-1-il)fenil]carbamoil}butil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo **5-vcPAB** (1,04 g, 1,626 mmol, 32,30%) como un sólido amarillo pálido. ESI m/z: 640,3$(M+H)^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,99 (s, 1H), 8,10 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,76 - 7,72 (m, 2H), 7,53 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,45 - 7,39 (m, 3H), 7,32 - 7,26 (m, 3H), 5,96 (m, 1H), 5,44-5,39 (m, 3H), 4,62 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,42-4,40 (m, 1H), 4,31-4,20 (m, 3H), 3,95-3,90 (m, 1H), 3,00-2,91 (m, 2H), 2,70-2,69 (m, 1H), 2,45-2,32 (m, 2H), 2,00-1,97 (m, 1H), 1,59-1,23 (m, 5H), 0,88-0,83 (m, 6H) ppm.

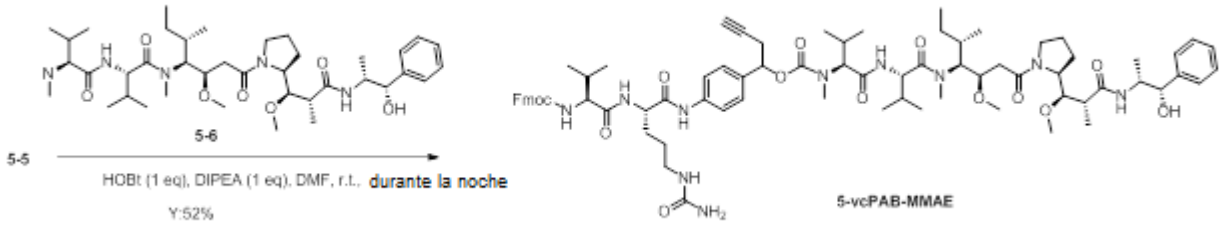
Paso 4



[0540] A la solución de N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(carbamoilamino)-1-{[4-(1-hidroxibut-3-in-1-il)fenil]carbamoil}butil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo **5-vcPAB** (1,04 g, 1,626 mmol) y DIPEA (0,42 g, 3,252 mmol) en DMF (15 mL) se agregó carbonato de bis(4-nitrofenilo) (PNPC, 0,59 g, 1,951 mmol) en porciones. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3h. Una vez completa la reacción de acuerdo con el monitoreo por LCMS, la solución resultante se purificó directamente por cromatografía flash en fase reversa (columna C18, eluyendo con 0-75% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA)

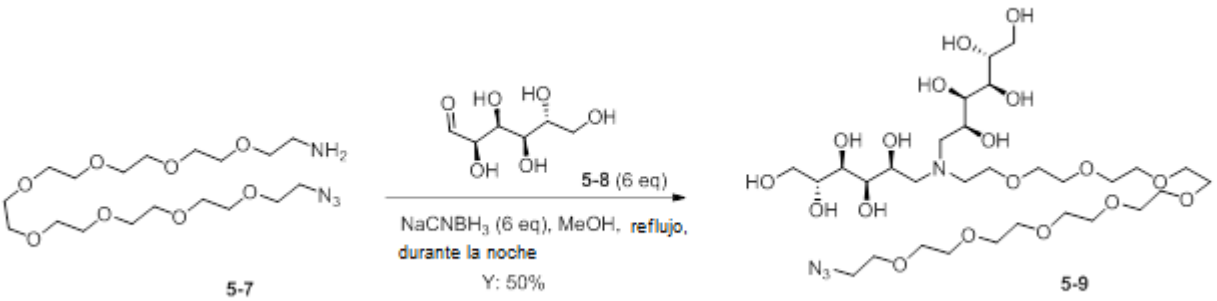
para dar el producto carbonato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilo butanamido]pentanamido]fenil}but-3-in-1-ilo 4-nitrofenilo **5-5** (560 mg, 0,696 mmol, 42,75%) como un sólido rosado. ESI m/z: 805,3(M+H)$^+$.

Paso 5



[0541] A la solución de carbonato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}but-3-in-1-ilo 4-nitrofenilo **5-5** (540 mg, 0,671 mmol) en DMF (15 mL) se agregó (2S)-N-[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]-3-metil-2-(metilamino)butanamida **5-6** (481,72 mg, 0,671 mmol), HOBt (90,66 mg, 0,671 mmol) y DIPEA (86,71 mg, 0,671 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche para completar la reacción. Luego la solución resultante se purificó directamente por cromatografía flash en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-70% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}but-3-in-1-ilo **5-vcPAB-MMAE** (486 mg, 0,351 mmol, 52,34%) como un sólido blanco. ESI m/z: 692,3(M/2+H)$^+$.

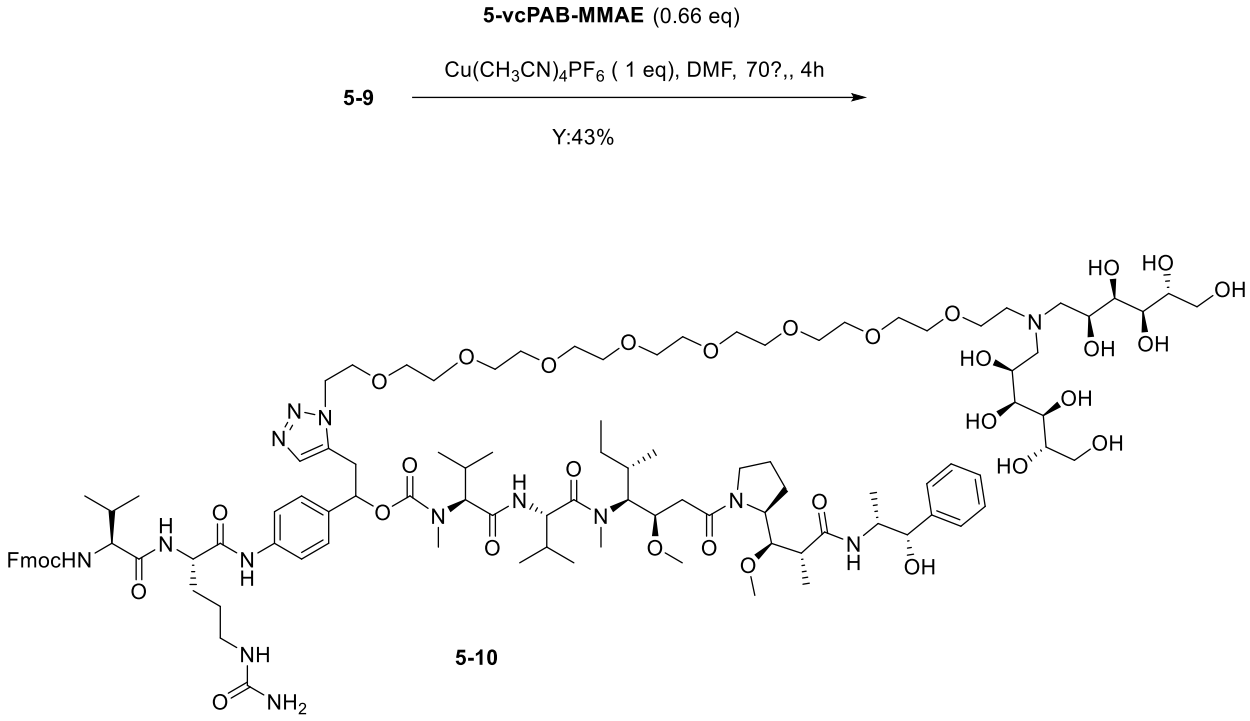
Paso 6



[0542] Una solución de 26-azido-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxahexacosan-1-amina **5-7** (160 mg, 0,365 mmol) y D-glucosa **5-8** (394,40 mg, 2,189 mmol) en MeOH (6 mL) se trató con $NaBH_3CN$ (0,133 mL, 2,189 mmol). Luego la mezcla se agitó a 75 °C durante la noche. Luego la reacción completa se concentró hasta secar y el residuo se purificó mediante cromatografía

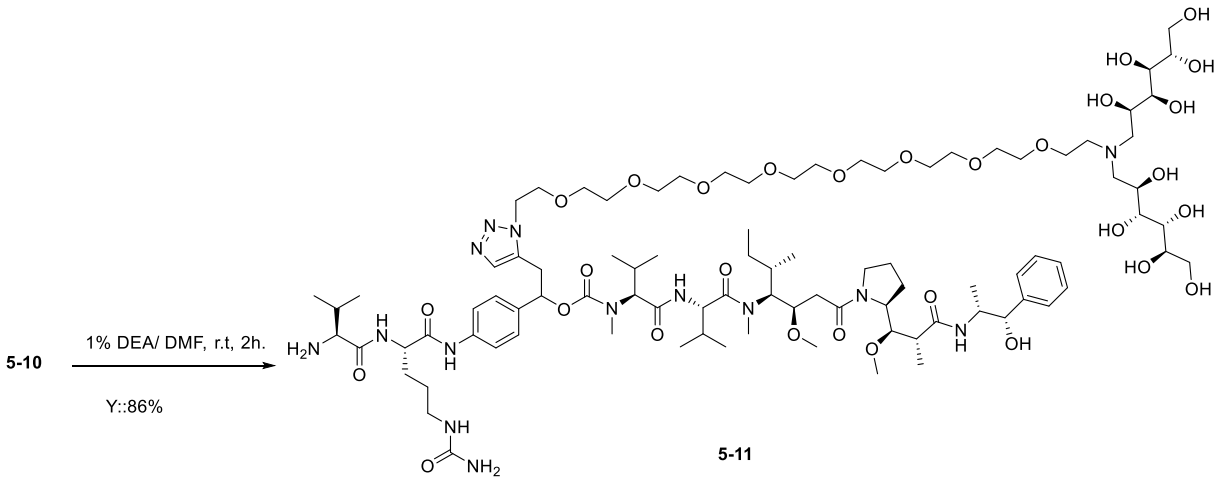
flash en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-10% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto (29S,30R,31R,32R)-1-azido-27-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontano-29,30,31,32,33-pentaol **5-9** (140 mg, 50%) como un aceite traslúcido. ESI m/z: 767,3(M+H)$^+$.

Paso 7



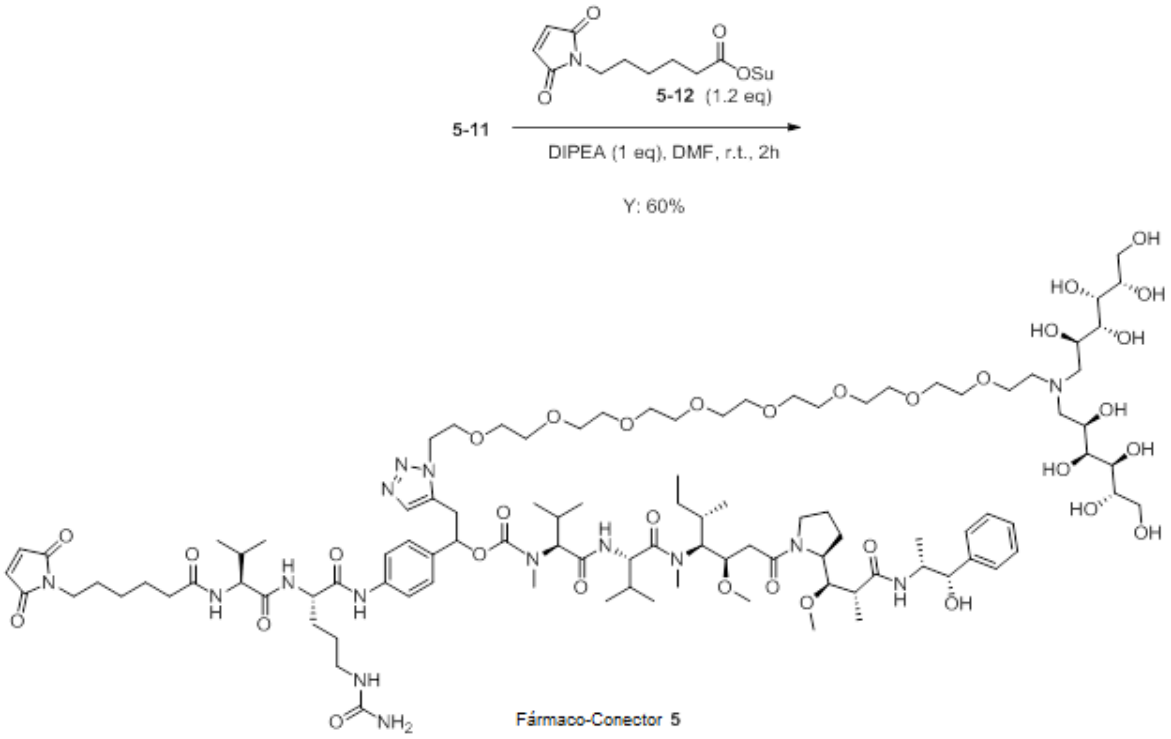
[0543] A la solución de N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}but-3-in-1-ilo **5-vcPAB-MMAE** (300 mg, 0,217 mmol) en DMF (6 mL) se agregó (29S,30R,31R,32R)-1-azido-27-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontano-29,30,31,32,33-pentaol **5-9** (249,38 mg, 0,325 mmol) y $Cu(CH_3CN)_4PF_6$ (121,55 mg, 0,325 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se calentó a 70 °C con agitación durante 4 h. La reacción completa luego se purificó por cromatografía flash en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-37% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}-2-{1-[(29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil]-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontan-1-il]-1H-1,2,3-triazol-5-il}etilo **5-10** (204 mg, 0,095 mmol, 43,71%) como un sólido blanco. ESI m/z: 1075,6(M/2+H)$^+$.

Paso 8



[0544] A la solución de N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}-2-{1-[(29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil]-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontan-1-il]-1H-1,2,3-triazol-5-il}etilo **5-10** (167 mg, 0,078 mmol) en DMF (2 mL) se agregó dietilamina (DEA, 0,02 mL, 0,125 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h hasta completarse la reacción. La solución resultante se purificó mediante cromatografía flash en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-40% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}-2-{1-[(29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil]-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontan-1-il]-1H-1,2,3-triazol-5-il}etilo **5-11** (130 mg, 0,067 mmol, 86,81%) como un sólido blanco. ESI m/z: 965,5 $(M/2+H)^+$.

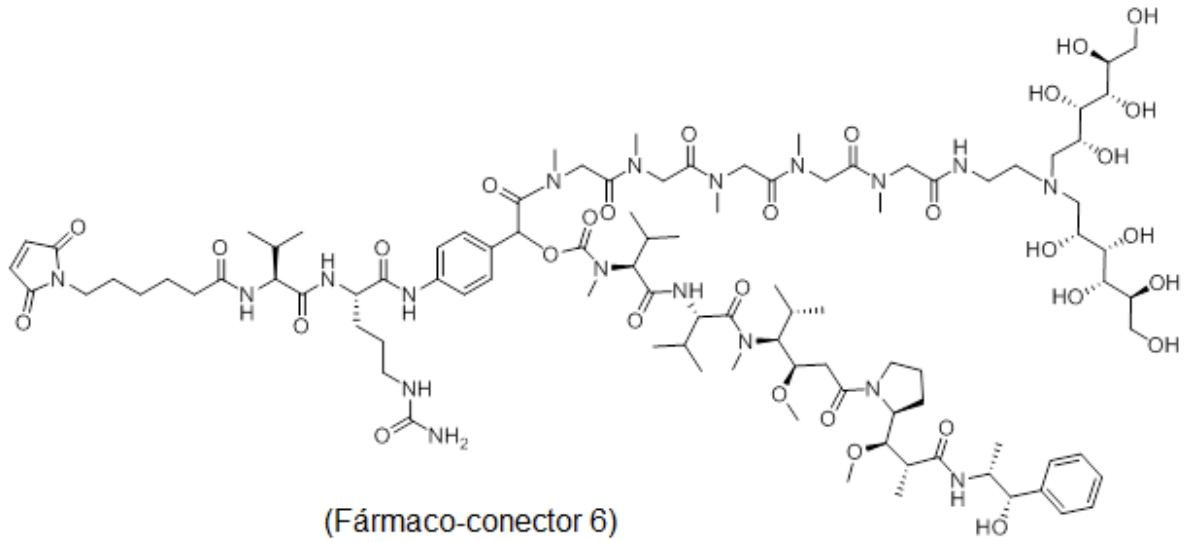
Paso 9



[0545] A la solución de N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}-2-{1-[(29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil]-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontan-1-il]-1H-1,2,3-triazol-5-il}etilo **5-11** (130 mg, 0,067 mmol) en DMF (3 mL) se agregó 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo **5-12** (24,79 mg, 0,080 mmol) y DIPEA (8,66 mg, 0,067 mmol) en forma secuencial. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h hasta completarse la conversión. La solución de la reacción luego se purificó directamente por cromatografía flash en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-40% de acetonitrilo en agua con 001% de TFA) para dar el producto N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(3S,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-{[(1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]carbamoil}-1-metoxi-2-metiletil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-2-metilpropil]-N-metilcarbamato de 1-{4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}-2-{1-[(29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil]-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontan-1-il]-1H-1,2,3-triazol-5-il}etilo (86 mg, 0,041 mmol, 60,13%) **Fármaco-Conector 5** como un sólido blanco. ESI m/z : 1061,8 $(M/2+H)^+$, tiempo de retención 6,062min (HPLC). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9,95 (s, 1H), 8,60-8,45 (m, 1H), 8,20-8,06 (m, 2H), 7,95-7,90 (m, 1H), 7,83-7,80 (m, 1H), 7,72-7,60 (m, 1,5H), 7,54-7,50 (m, 2H), 7,43-7,40 (m, 1H), 7,31-7,12 (m, 6H), 6,99 (s, 2H), 6,03 (brs, 1H),

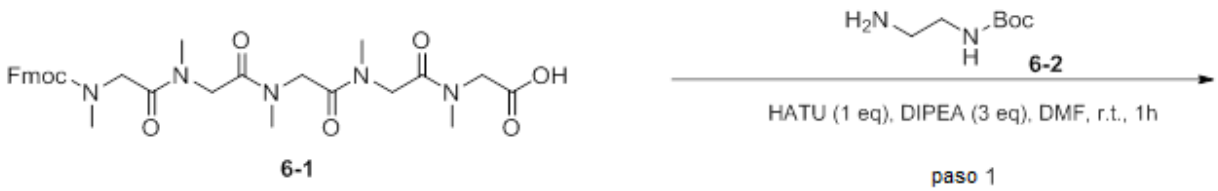
5,82-5,68 (m, 1,5H), 5,50-5,30 (m, 3H), 4,76-4,52 (m, 3H), 4,50-4,30 (m, 8H), 4,29-4,11 (m, 3H), 4,00-3,92 (m, 8H), 3,77-3,66 (m, 16H), 3,66-3,48 (m, 18H), 3,45-3,29 (m, 12H), 3,24-3,07 (m, 12H), 3,00-2,68 (m, 8H), 2,44-1,94 (m, 7H), 1,80-1,67 (m, 4H), 1,58-1,34 (m, 10H), 1,21-1,15 (m, 2H), 1,05-0,96 (m, 7H), 0,90-0,50 (m, 28H) ppm.

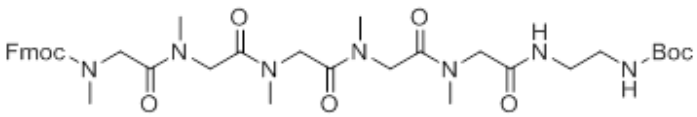
Ejemplo 6: Preparación del Fármaco-Conector 6



(Fármaco-conector 6)

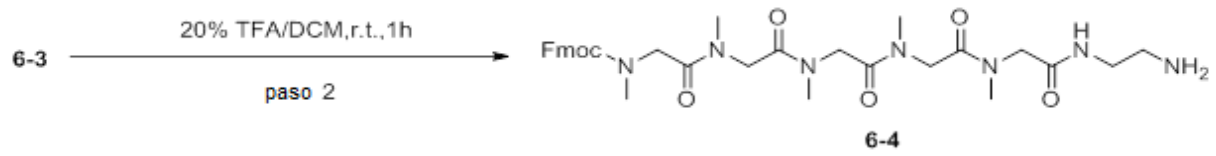
Paso 1





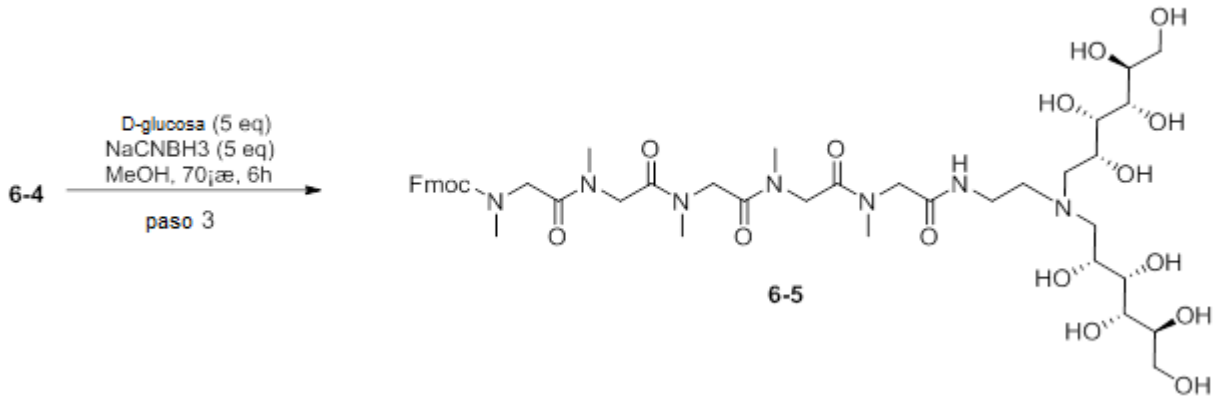
[0546] Una solución de **6-1** (300 mg, 0,504 mmol), **6-2** (81 mg, 0,504 mmol) y HATU (192 mg, 0,504 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (196 mg, 1,512 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **6-3** (227 mg, 0,308 mmol, 61,19%) como un sólido blanco.

Paso 2



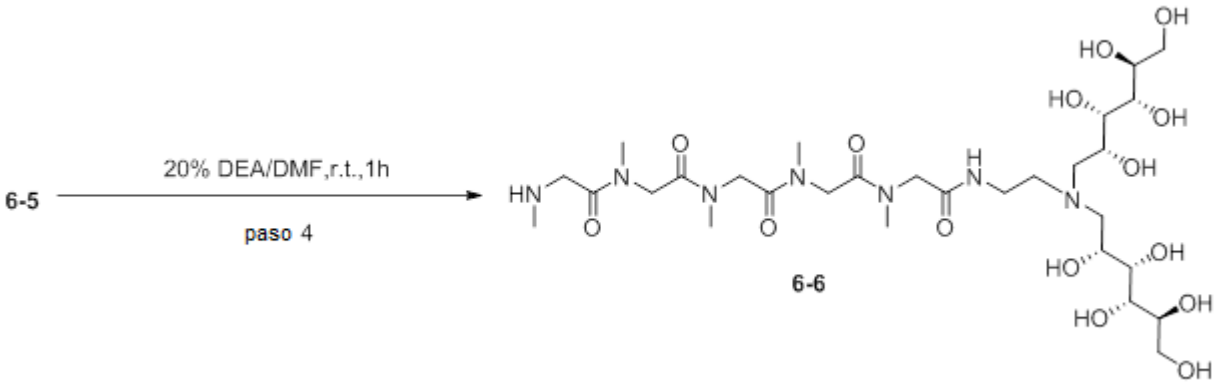
[0547] Una solución de **6-3** (227 mg, 0,308 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **6-4** (185 mg, 0,290 mmol, 94,18%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 3



[0548] Una solución de **6-4** (185 mg, 0,290 mmol) y D-Glucosa (261 mg, 1,450 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (92 mg, 1,450 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 6 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **6-5** (125 mg, 0,129 mmol, 44,48%) como un sólido blanco.

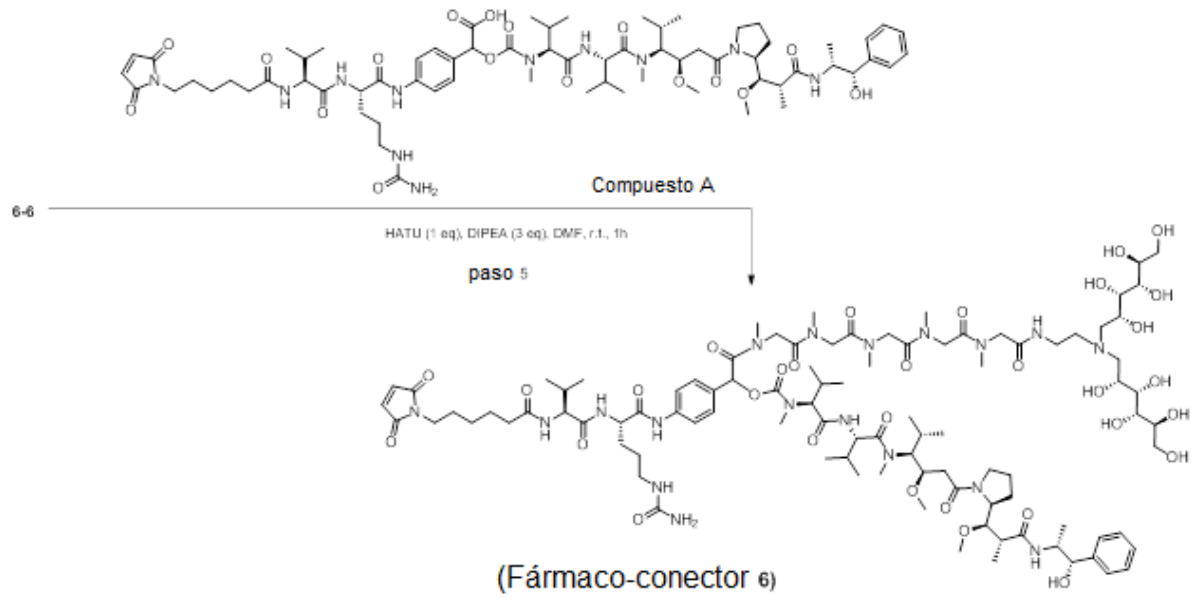
Paso 4



[0549] Una solución de **6-5** (125 mg, 0,129 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda

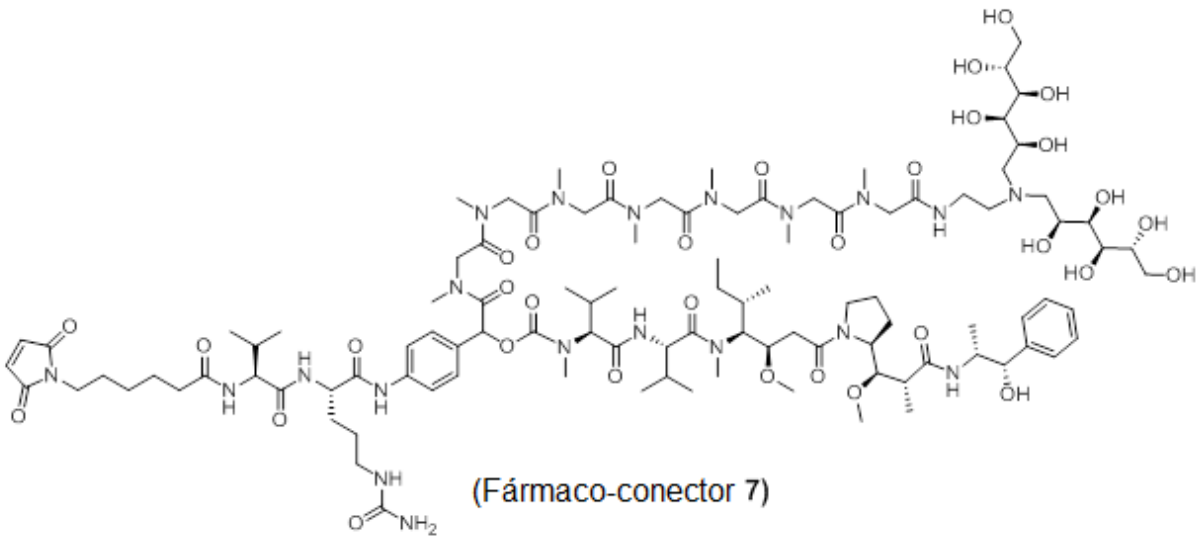
la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **6-6** (91 mg, 0,122 mmol, 94,57%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 5



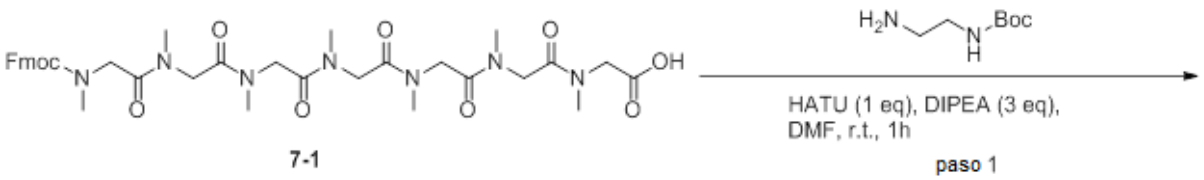
[0550] Una solución de **6-6** (12 mg, 0,015 mmol), el **Compuesto A** (20 mg, 0,015 mmol) y HATU (6 mg, 0,015 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (6 mg, 0,045 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 6** (12 mg, 0,006 mmol, 38,35%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1044,15$(M/2+H)^+$;^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,46-7,44 (m, 4H), 7,27-7,21 (m, 7H), 4,35-4,26 (m, 9H), 4,14-3,96 (m, 10H), 3,79-3,62 (m, 10H), 7,00 (s, 2H), 3,36-3,10 (m, 16H), 3,05-2,79 (m, 28H), 2,67-2,55 (m, 7H), 2,42-2,17 (m, 5H), 1,80-1,66 (m, 5H), 1,53-1,40 (m, 10H), 1,2-0,63 (m, 37H).

Ejemplo 7: Preparación del Fármaco-Conector 7



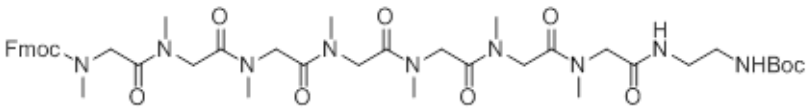
(Fármaco-conector 7)

Paso 1



7-1

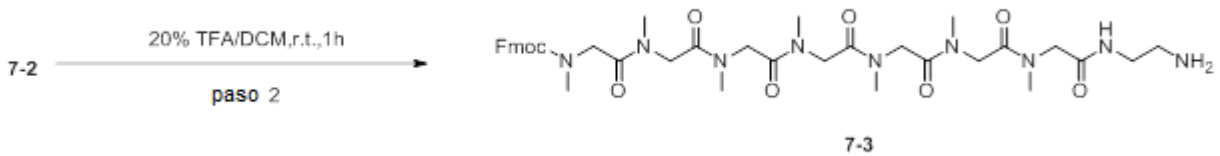
paso 1



7-2

[0551] Una solución de **7-1** (300 mg, 0,407 mmol), (2-aminoetil)carbamato de tert-butilo (65 mg, 0,407 mmol) y HATU (155 mg, 0,407 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (158 mg, 1,221 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **7-2** (243 mg, 0,276 mmol, 67,81%) como un sólido blanco.

Paso 2

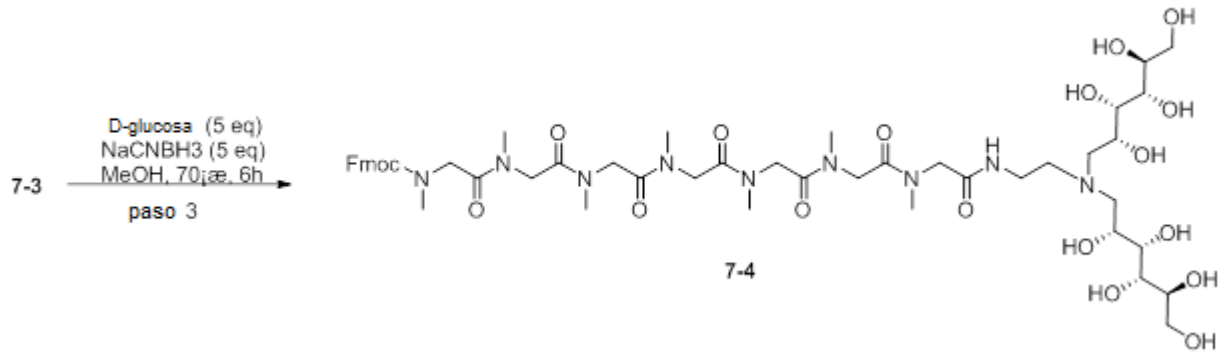


7-3

[0552] Una solución de **7-2** (243 mg, 0,276 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se

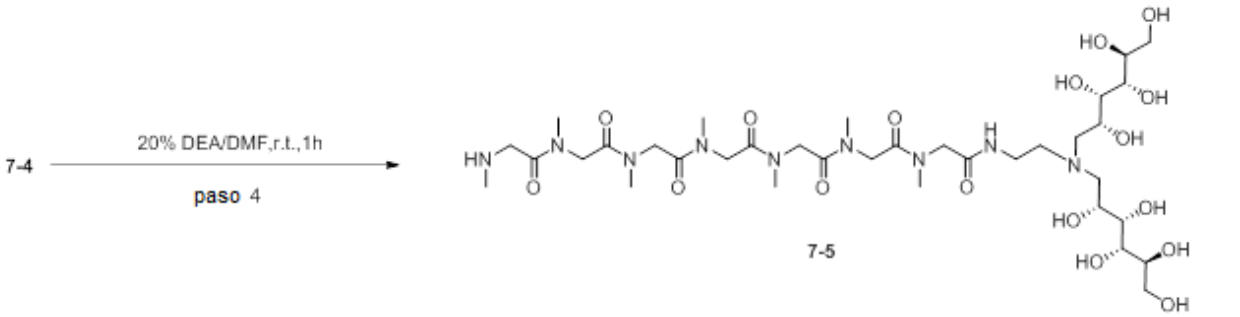
agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **7-3** (207 mg, 0,265 mmol, 96,17%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 3



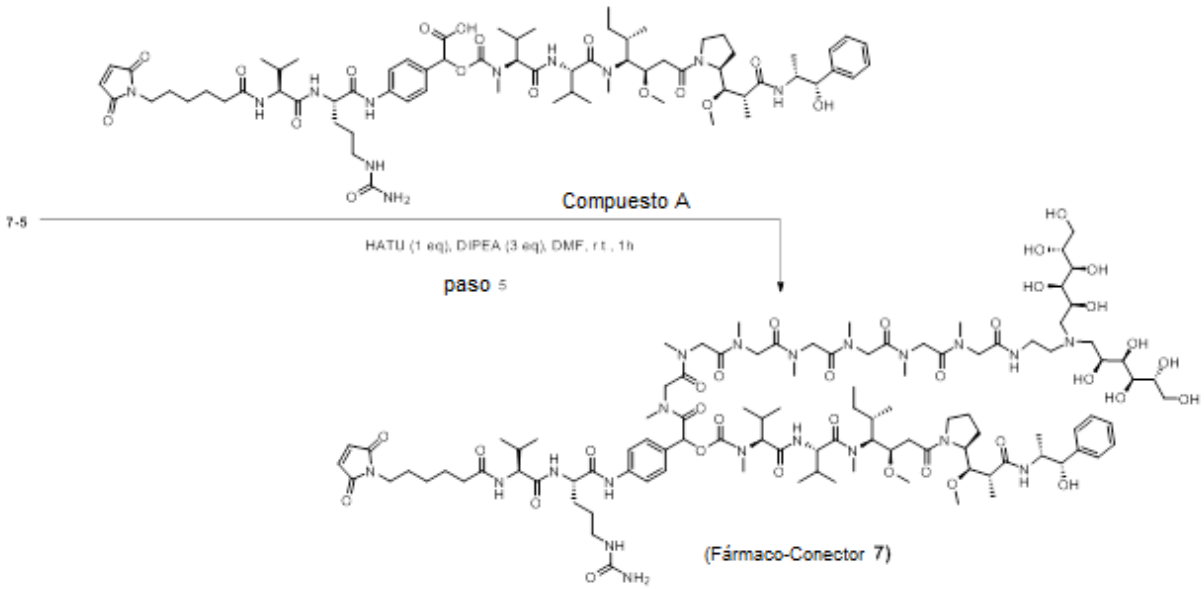
[0553] Una solución de **7-3** (207 mg, 0,265 mmol) y D-Glucosa (239 mg, 1,325 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (83 mg, 1,325 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 6 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **7-4** (147 mg, 0,133 mmol, 50,19%) como un sólido blanco.

Paso 4



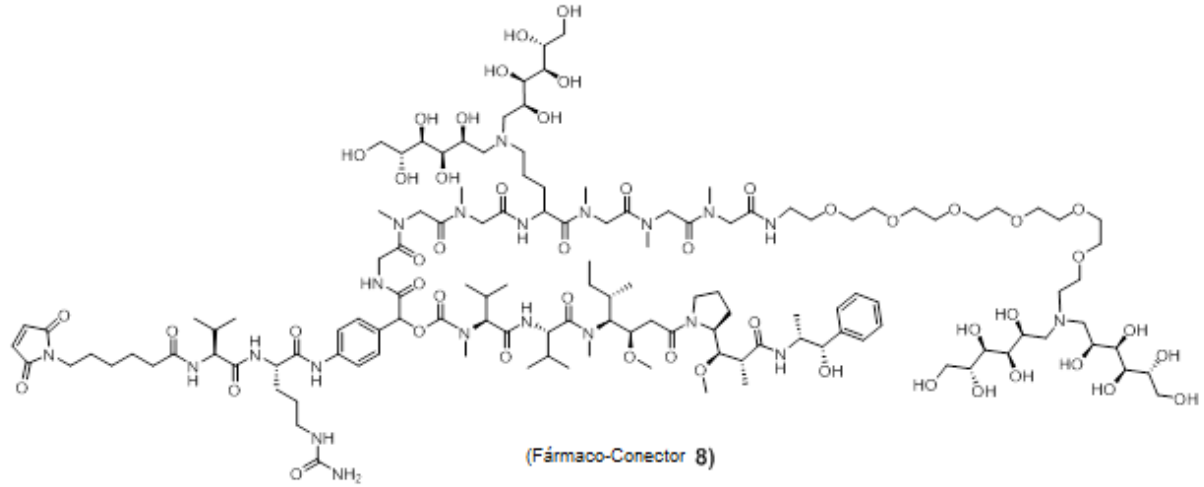
[0554] Una solución de **7-4** (147 mg, 0,133 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **7-5** (103 mg, 0,116 mmol, 87,41%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 5

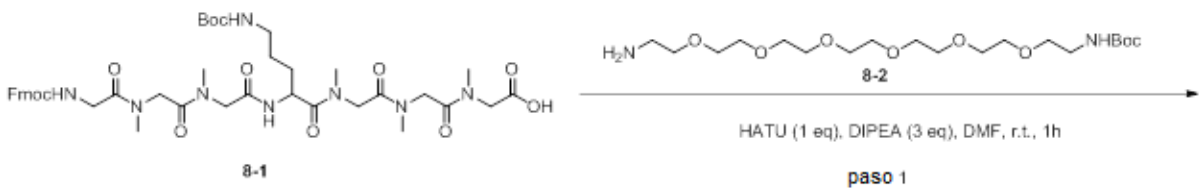


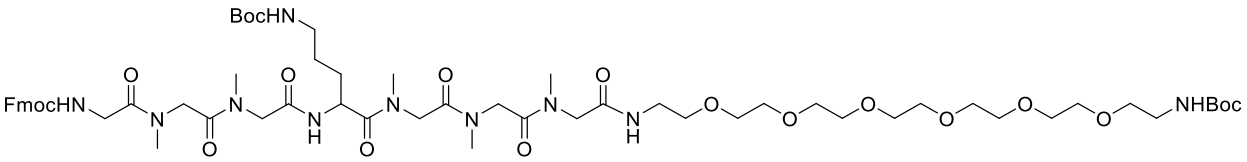
[0555] Una solución de **7-5** (14 mg, 0,015 mmol), el **Compuesto A** (20 mg, 0,015 mmol) y HATU (6 mg, 0,015 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (6 mg, 0,045 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 7** (15 mg, 0,007 mmol, 44,87%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1115,24$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 8: Preparación del Fármaco-Conector 8



Paso 1

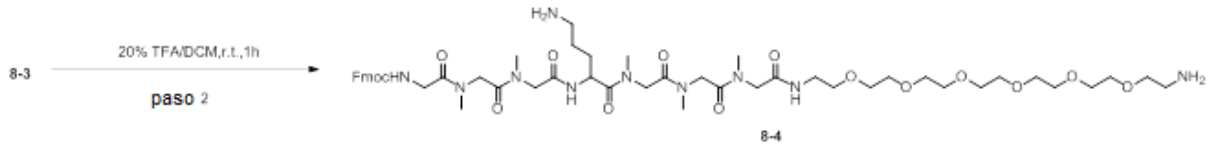




8-3

[0556] Una solución de **8-1** (300 mg, 0,346 mmol), **8-2** (147 mg, 0,346 mmol) y HATU (132 mg, 0,346 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (134 mg, 1,037 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **8-3** (310 mg, 0,243 mmol, 70,23%) como un sólido blanco. Pureza, 95%.

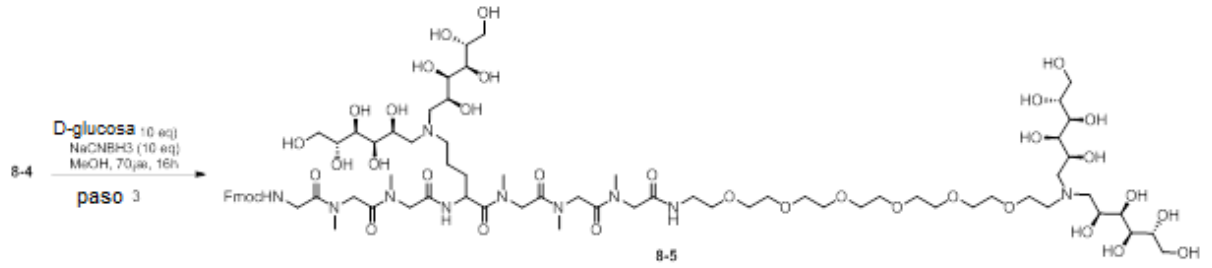
Paso 2



8-4

[0557] Una solución de **8-3** (310 mg, 0,243 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **8-4** (255 mg, 0,238 mmol, 97,78%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza, 95%.

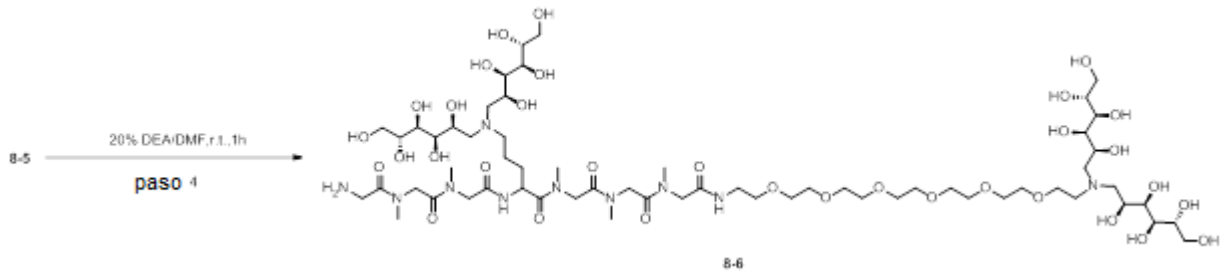
Paso 3



8-5

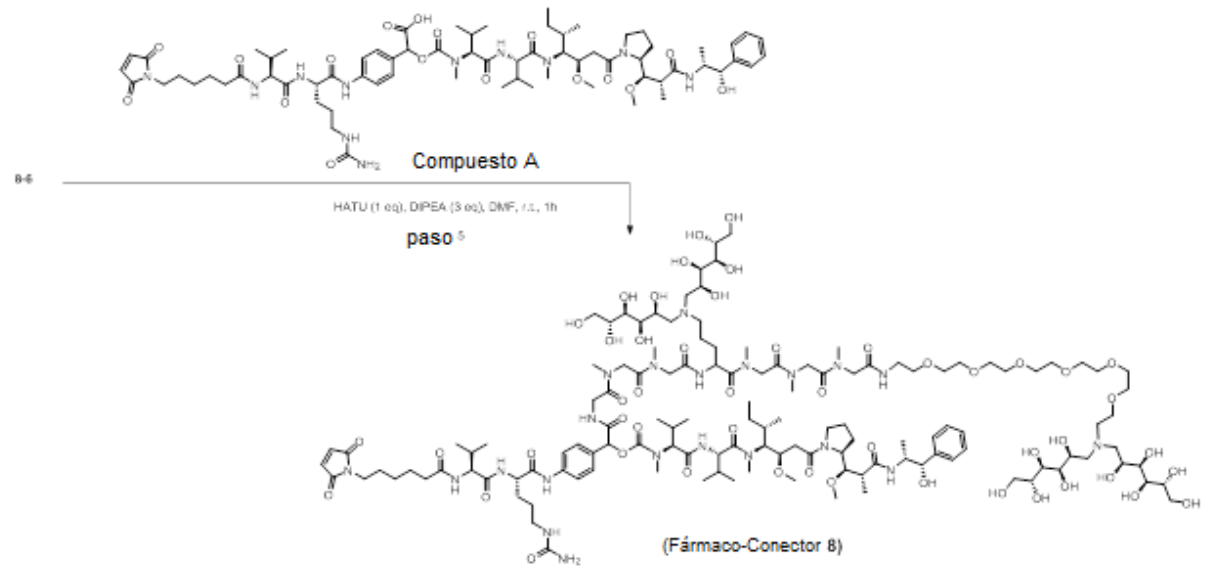
[0558] Una solución de **8-4** (255 mg, 0,238 mmol) y D-Glucosa (428 mg, 2,376 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (150 mg, 2,387 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 16 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **8-5** (185 mg, 0,107 mmol, 44,96%) como un sólido blanco. Pureza, 95%.

Paso 4



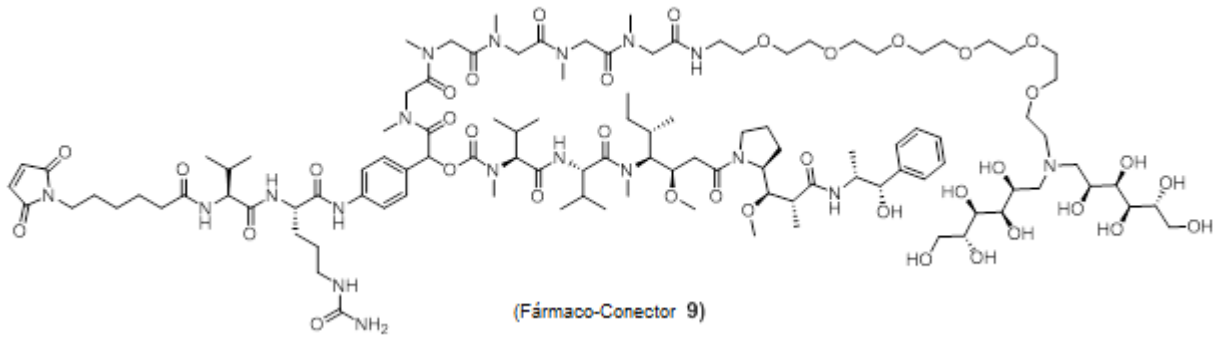
[0559] Una solución de **8-5** (185 mg, 0,107 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **8-6** (155 mg, 0,103 mmol, 96,08%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza, 95%.

Paso 5



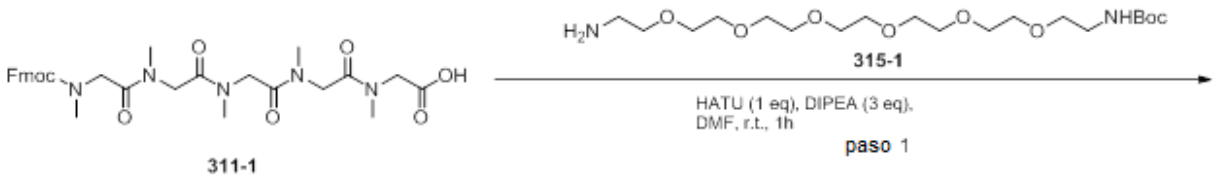
[0560] Una solución de **8-6** (100 mg, 0,066 mmol), el **Compuesto A** (90 mg, 0,066 mmol) y HATU (25 mg, 0,066 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (26 mg, 0,201 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 8** (10 mg, 0,004 mmol, 5,32%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1425,93$(M/2+H)^+$.

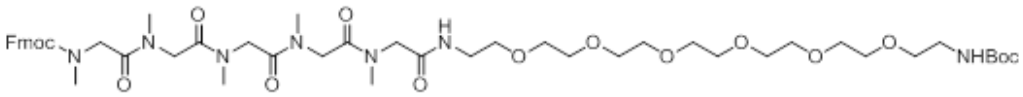
Ejemplo 9: Preparación del Fármaco-Conector 9



(Fármaco-Conector 9)

Paso 1

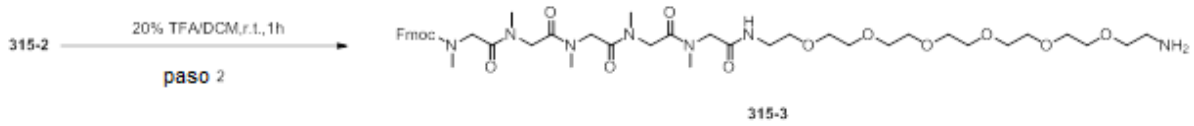




315-2

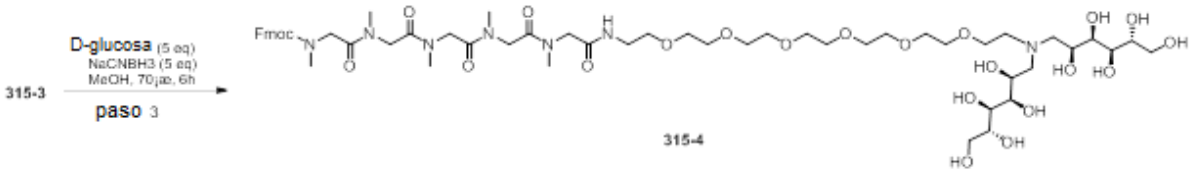
[0561] Una solución de **311-1** (300 mg, 0,504 mmol), **315-1** (213 mg, 0,504 mmol) y HATU (192 mg, 0,407 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (196 mg, 1,517 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **315-2** (315 mg, 0,314 mmol, 62,30%) como un sólido blanco.

Paso 2



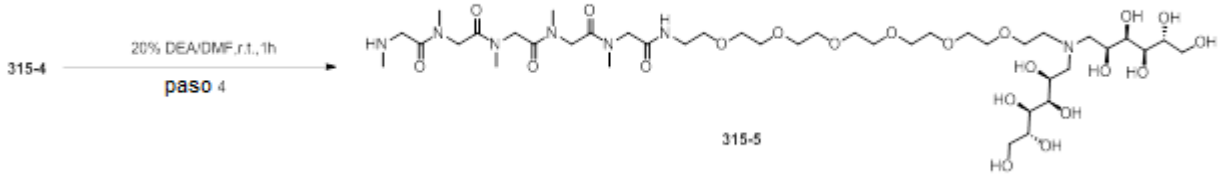
[0562] Una solución de **315-2** (315 mg, 0,314 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **315-3** (264 mg, 0,293 mmol, 93,31%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 3



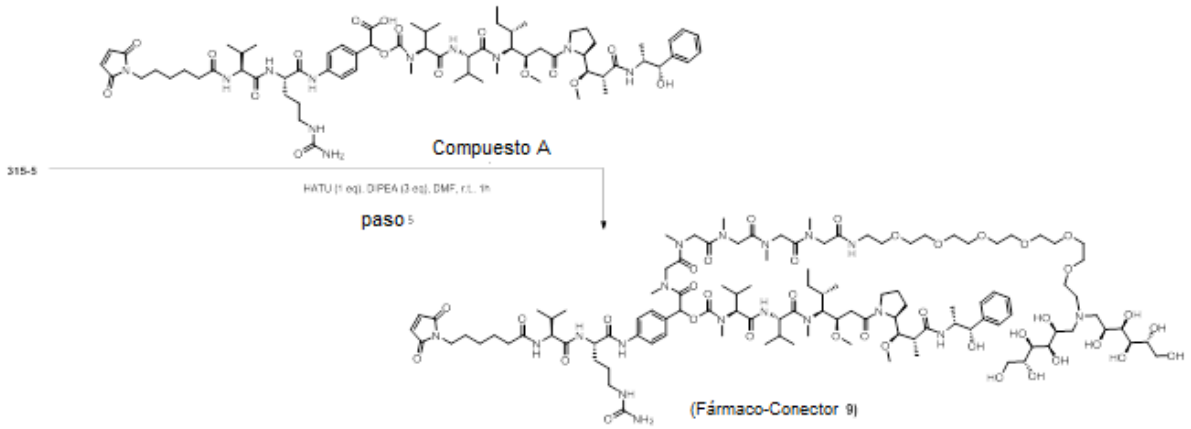
[0563] Una solución de **315-3** (264 mg, 0,293 mmol) y D-Glucosa (263 mg, 1,461 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (92 mg, 1,464 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 6 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **315-4** (233 mg, 0,189 mmol, 64,51%) como un sólido blanco.

Paso 4



[0564] Una solución de **315-4** (233 mg, 0,189 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **315-5** (177 mg, 0,176 mmol, 93,12%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

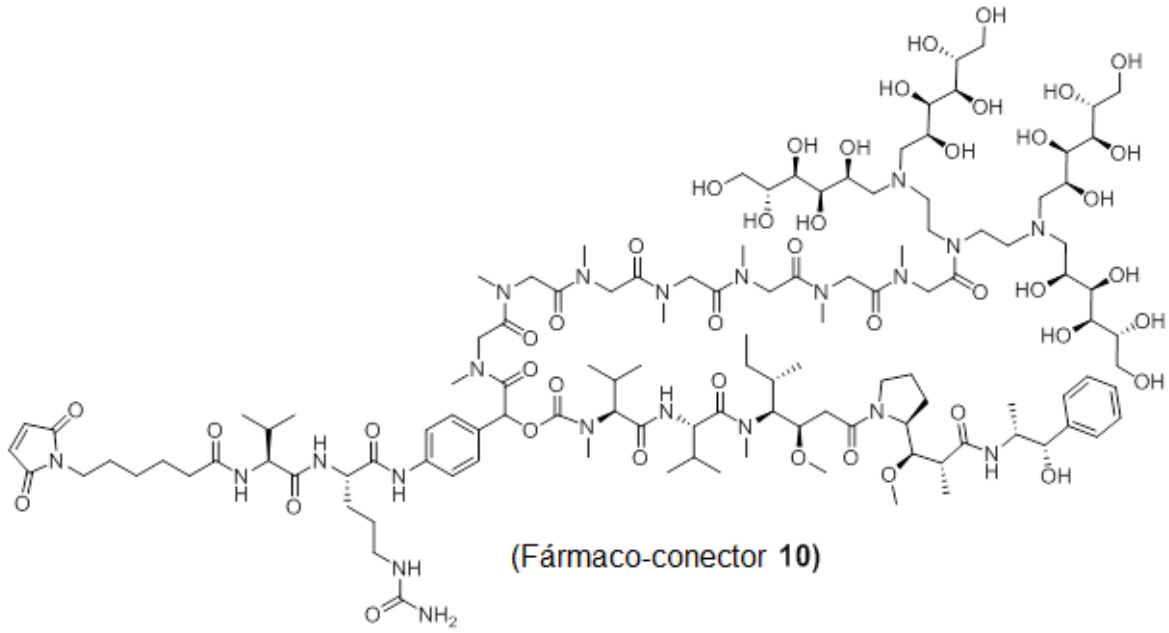
Paso 5



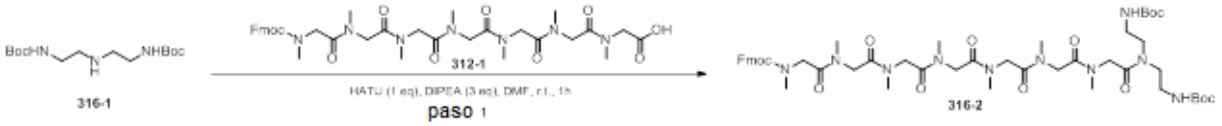
[0565] Una solución de **315-5** (30 mg, 0,030 mmol), el **Compuesto A** (40 mg, 0,030 mmol) y HATU (11 mg, 0,030 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (11 mg, 0,085 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la

solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 9** (18 mg, 0,007 mmol, 25,53%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1176,02(M/2+H)$^+$.

Ejemplo 10: Preparación del Fármaco-Conector 10

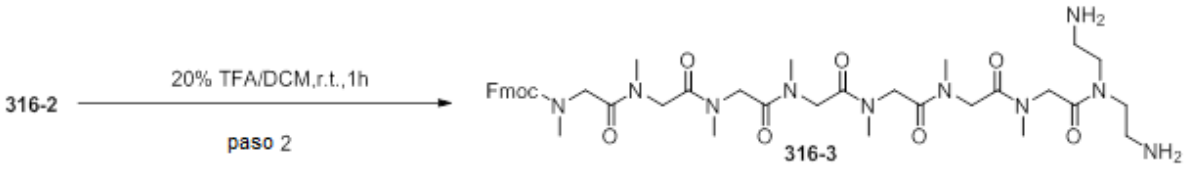


Paso 1



[0566] Una solución de **316-1** (82 mg, 0,270 mmol), **312-1** (200 mg, 0,270 mmol) y HATU (103 mg, 0,270 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (105 mg, 0,812 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **316-2** (205 mg, 0,200 mmol, 74,07%) como un sólido blanco.

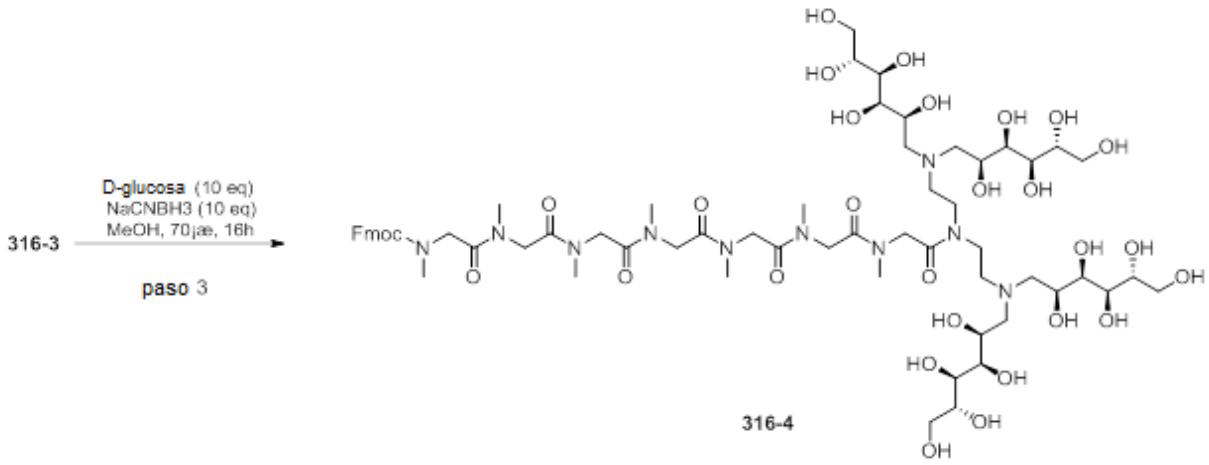
Paso 2



[0567] Una solución de **316-2** (205 mg, 0,200 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **316-3** (157 mg, 0,191 mmol, 93,17%) como un aceite amarillo, usado sin

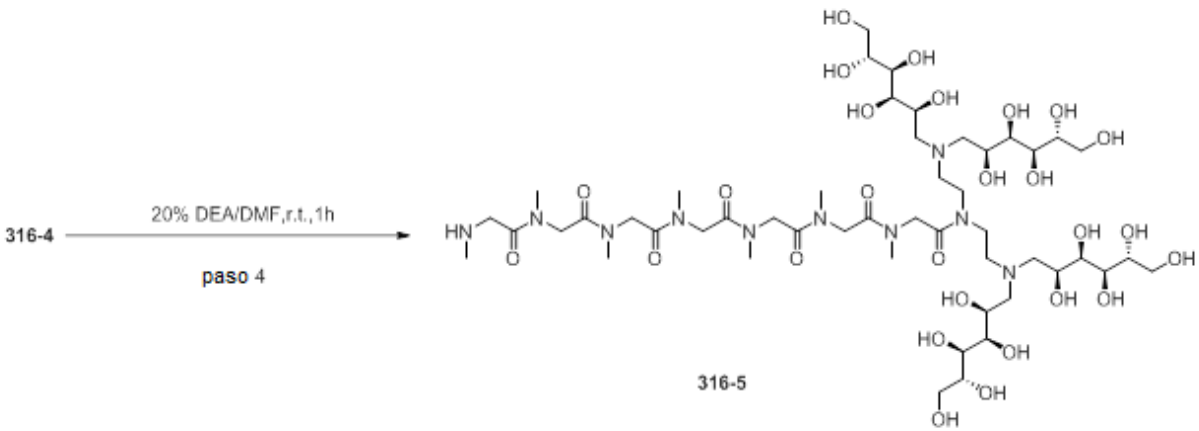
modificaciones en el siguiente paso.

Paso 3



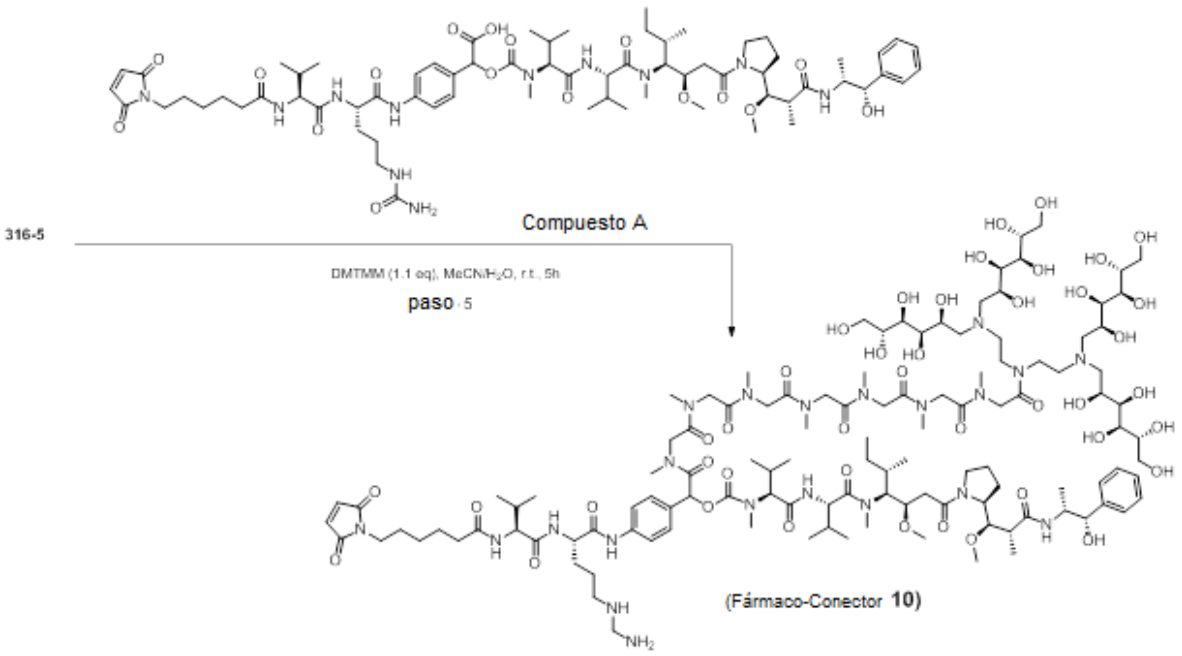
[0568] Una solución de **316-3** (157 mg, 0,191 mmol) y D-Glucosa (172 mg, 0,955 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (60 mg, 0,955 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 16 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **316-4** (135 mg, 0,091 mmol, 47,77%) como un sólido blanco.

Paso 4



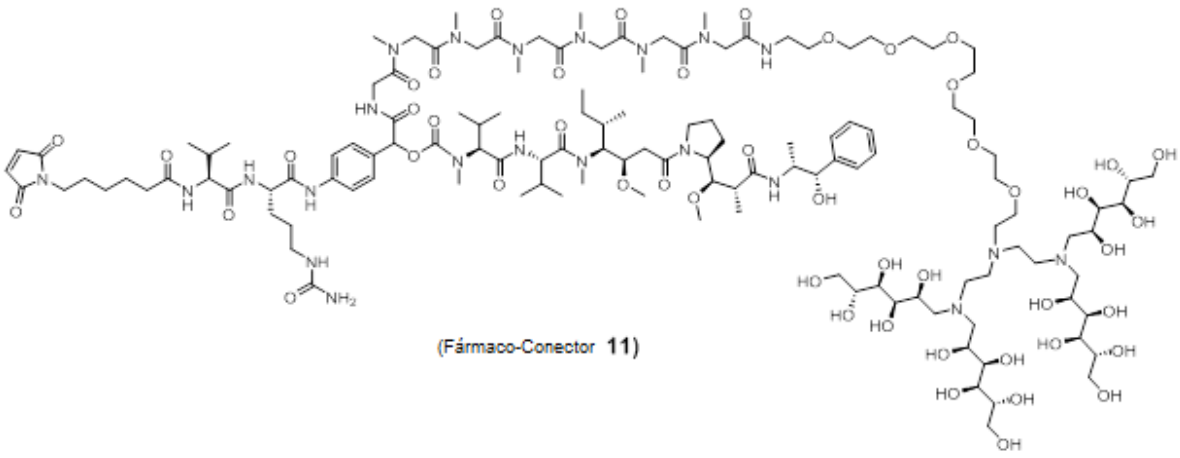
[0569] Una solución de **316-4** (135 mg, 0,091 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **316-5** (114 mg, 0,090 mmol, 98,90%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 5

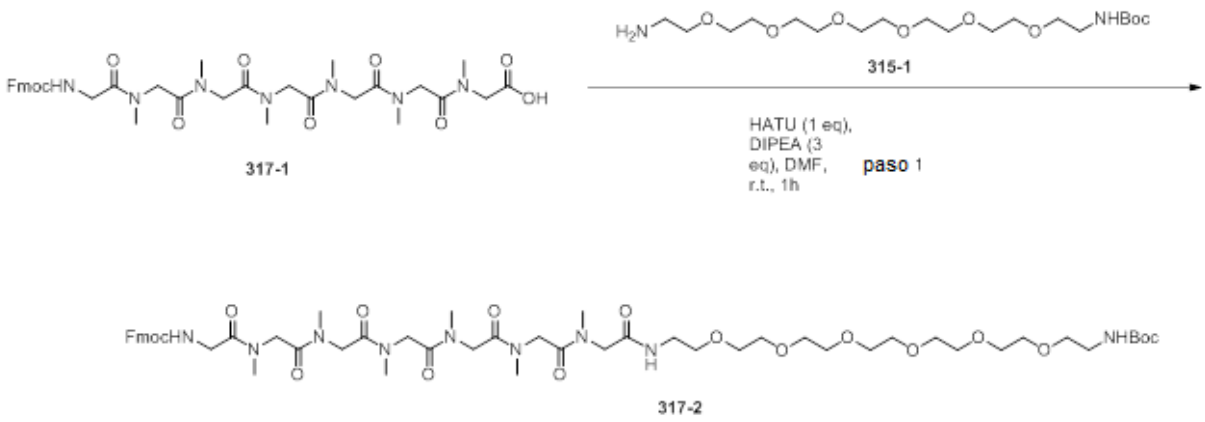


[0570] Una solución de **316-5** (100 mg, 0,080 mmol), el **Compuesto A** (108 mg, 0,080 mmol) y DMTMM (24 mg, 0,088 mmol) en H_2O (4 mL) y MeCN (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 hr. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 10** (7 mg, 0,003 mmol, 3,37%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1300,87$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 11: Preparación del Fármaco-Conector 11

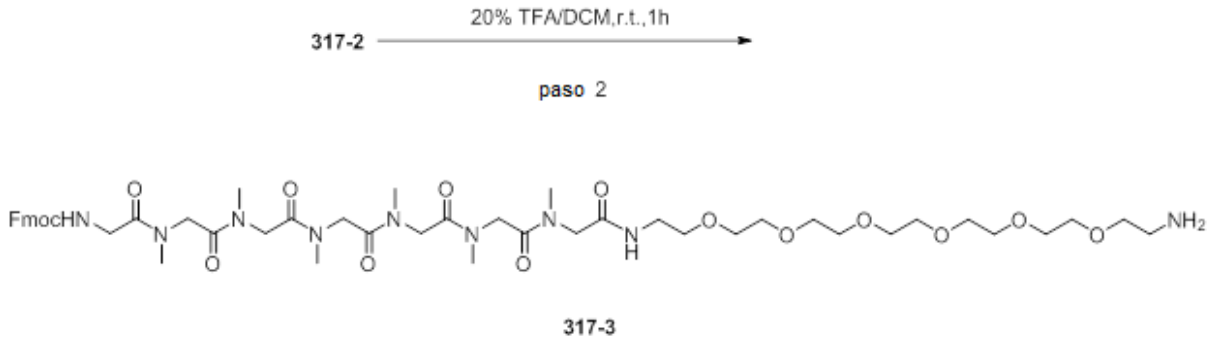


Paso 1



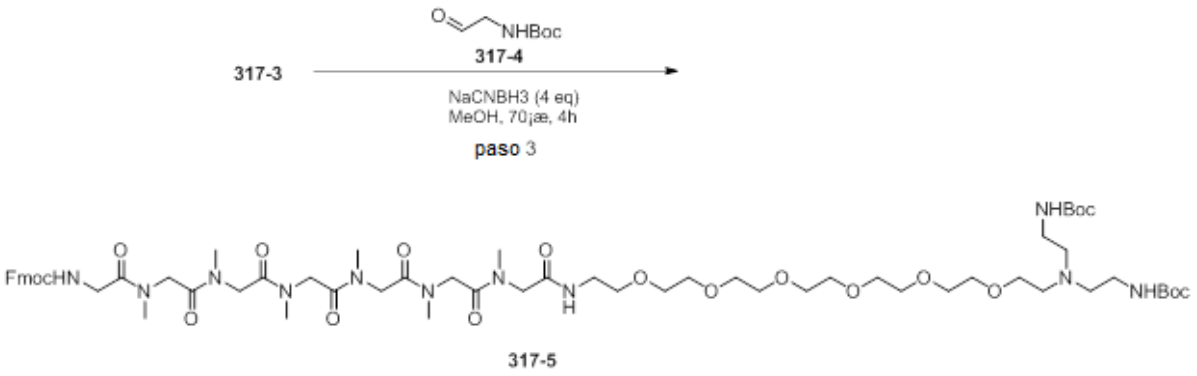
[0571] Una solución de **317-1** (400 mg, 0,553 mmol), **315-1** (235 mg, 0,554 mmol) y HATU (210 mg, 0,553 mmol) en DMF anhidro (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (214 mg, 1,656 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **317-2** (410 mg, 0,363 mmol, 65,59%) como un sólido blanco.

Paso 2



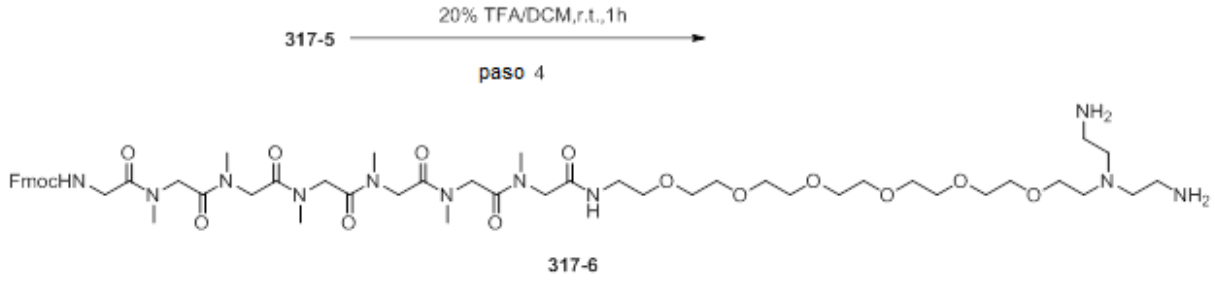
[0572] Una solución de **317-2** (410 mg, 0,363 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **317-3** (365 mg, 0,354 mmol, 97,60%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 3



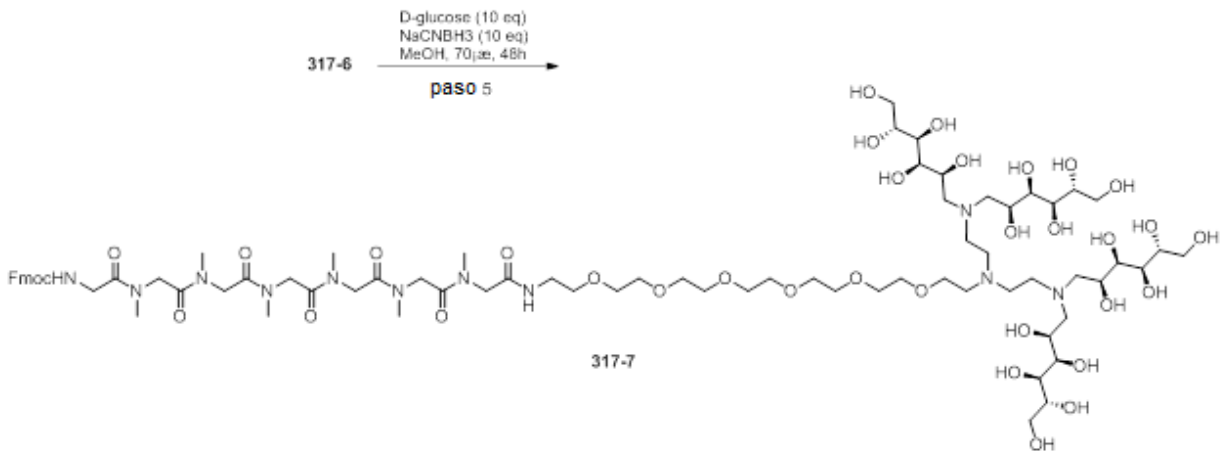
[0573] Una solución de **317-3** (365 mg, 0,354 mmol) y **317-4** (338 mg, 2,123 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (134 mg, 2,132 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 4 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **317-5** (310 mg, 0,235 mmol, 66,51%) como un sólido blanco.

Paso 4



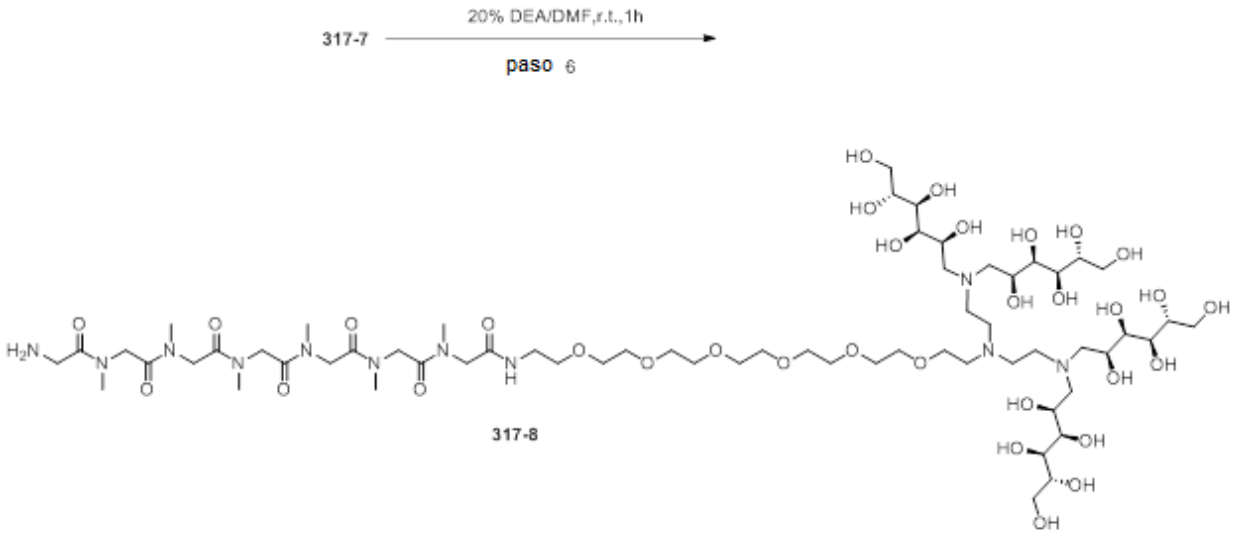
[0574] Una solución de **317-5** (310 mg, 0,235 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **317-6** (250 mg, 0,224 mmol, 95,30%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 5



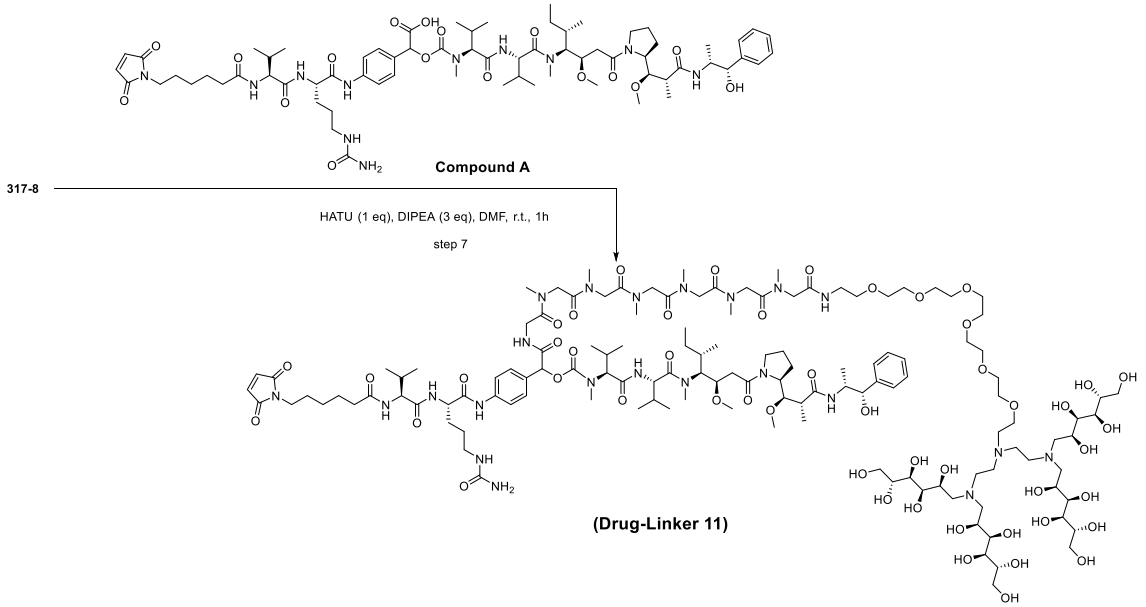
[0575] Una solución de **317-6** (250 mg, 0,224 mmol) y D-Glucosa (484 mg, 2,687 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (169 mg, 2,689 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 48 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **317-7** (174 mg, 0,098 mmol, 43,81%) como un sólido blanco.

Paso 6



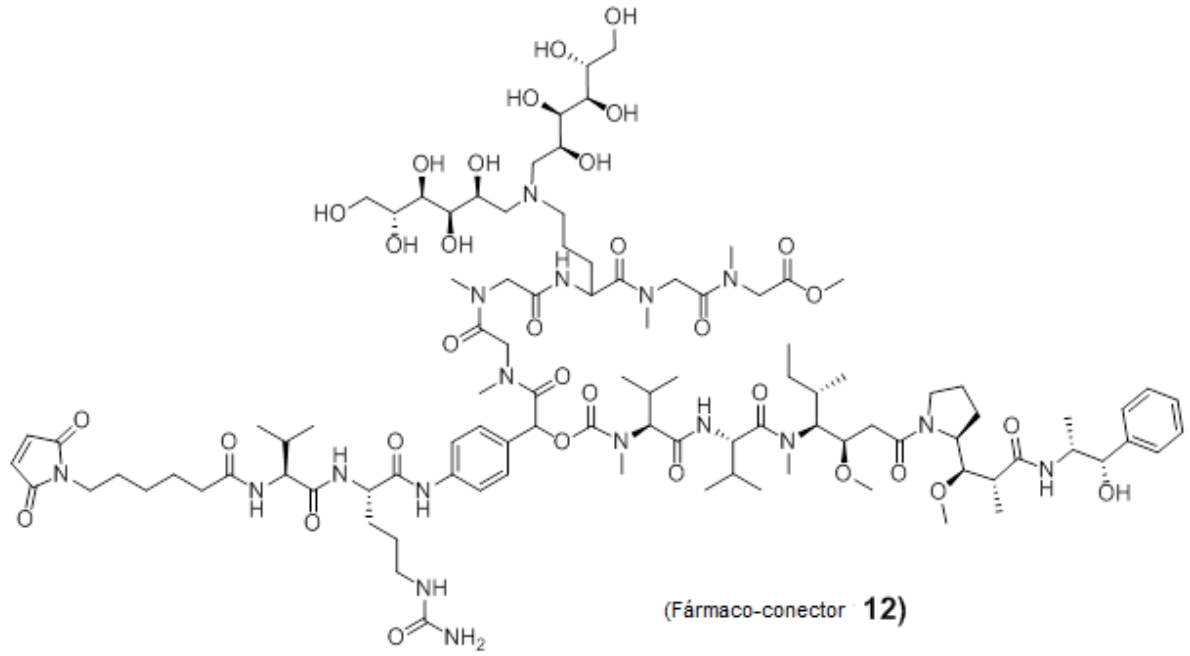
[0576] Una solución de **317-7** (174 mg, 0,098 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **317-8** (145 mg, 0,094 mmol, 95,41%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 7

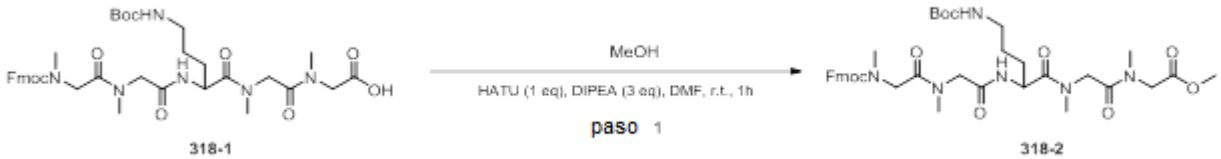


[0577] Una solución de **317-8** (80 mg, 0,052 mmol), el **Compuesto A** (70 mg, 0,052 mmol) y HATU (20 mg, 0,052 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (20 mg, 0,155 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 11** (40 mg, 0,014 mmol, 26,59%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1447,20(M/2+H)$^+$.

Ejemplo 12: Preparación del Fármaco-Conector 12

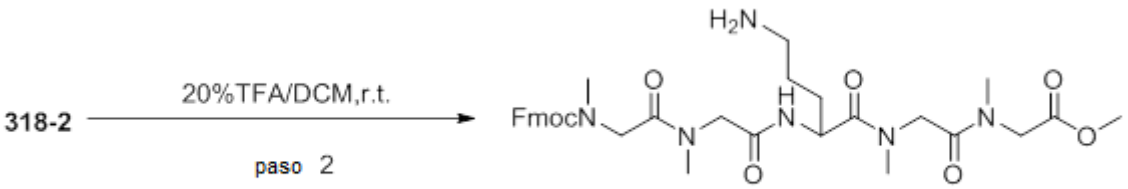


Paso 1



[0578] Una solución de **318-1** (200 mg, 0,271 mmol), MeOH (43 mg, 1,342 mmol) y HATU (103 mg, 0,271 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (105 mg, 0,812 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **318-2** (167 mg, 0,222 mmol, 81,92%) como un sólido blanco.

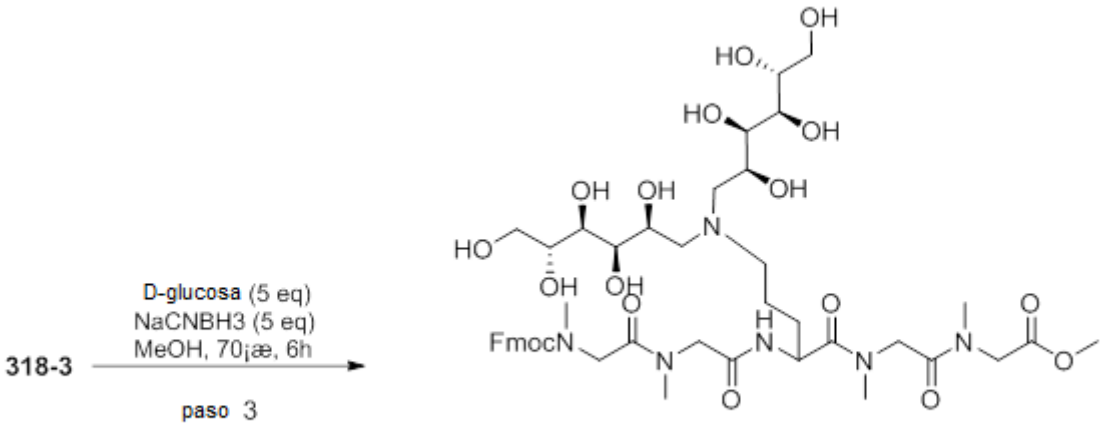
Paso 2



318-3

[0579] Una solución de **318-2** (167 mg, 0,222 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **318-3** (135 mg, 0,207 mmol, 93,24%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

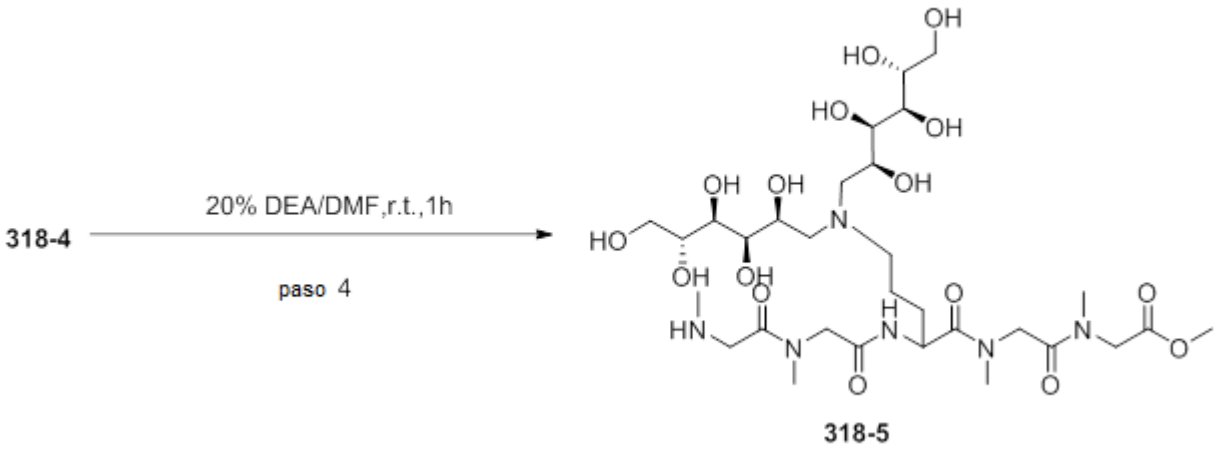
Paso 3



318-4

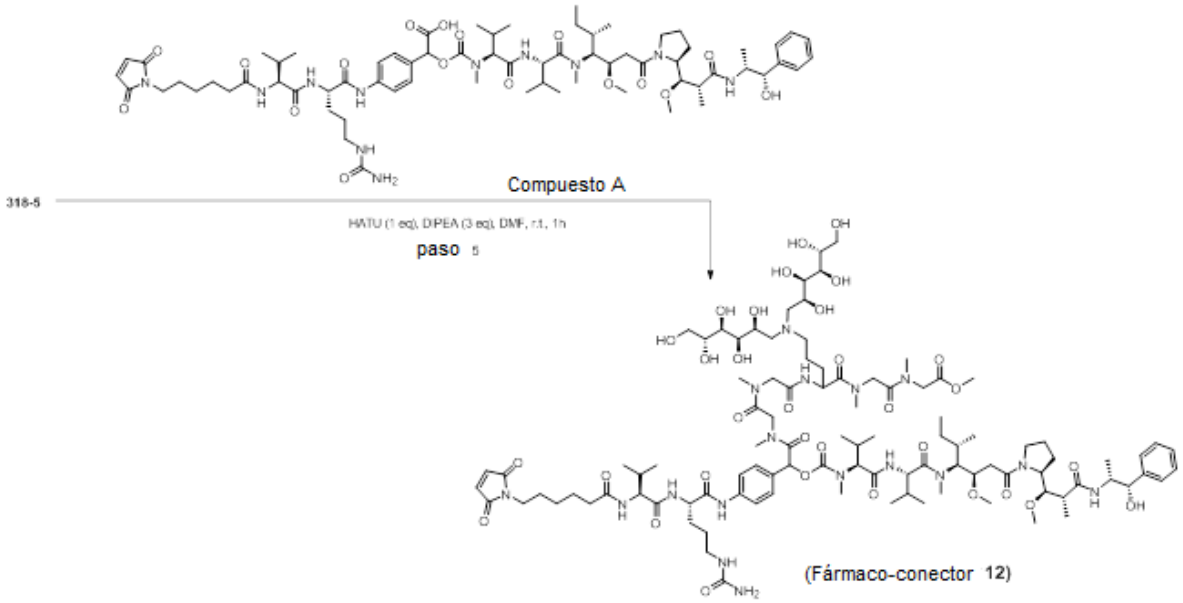
[0580] Una solución de **318-3** (135mg, 0,207 mmol) y D-Glucosa (186 mg, 1,032 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (65 mg, 1,034 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 6 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **318-4** (121 mg, 0,123 mmol, 59,42%) como un sólido blanco.

Paso 4



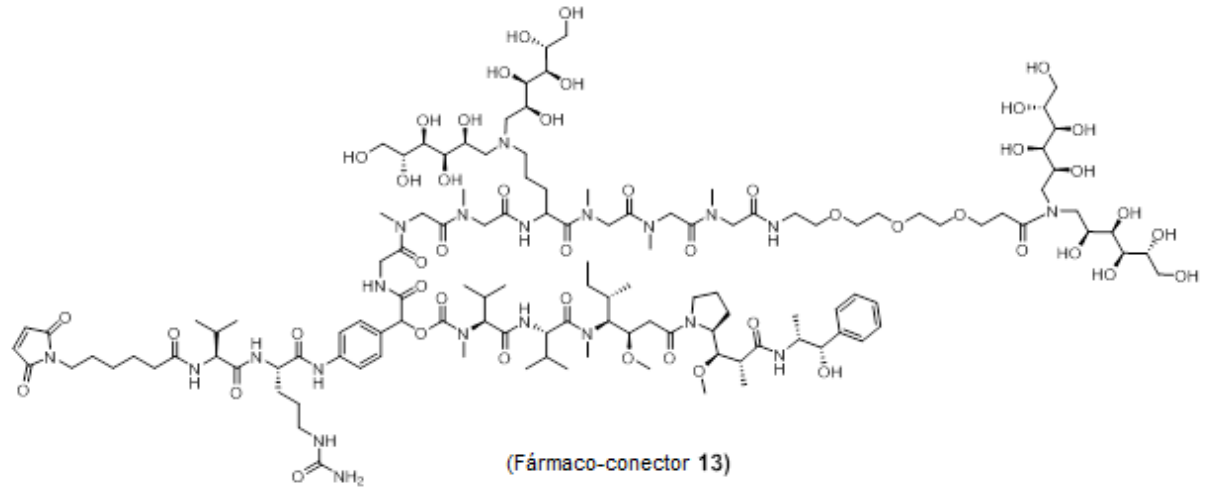
[0581] Una solución de **318-4** (121 mg, 0,123 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **318-5** (75 mg, 0,099 mmol, 80,49%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 5



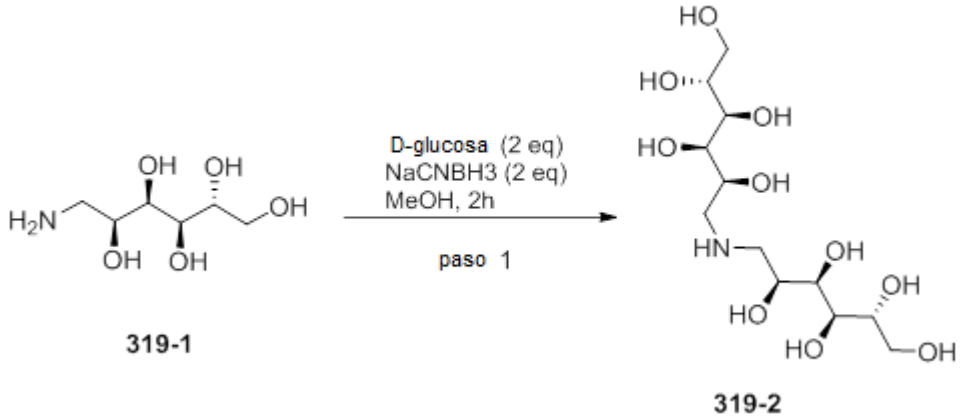
[0582] Una solución de **318-5** (17 mg, 0,022 mmol), el **Compuesto A** (30 mg, 0,022 mmol) y HATU (8 mg, 0,022 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (8 mg, 0,062 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 12** (16 mg, 0,008 mmol, 36,36%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1051,28$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 13: Preparación del Fármaco-Conector 13



(Fármaco-conector **13**)

Paso 1

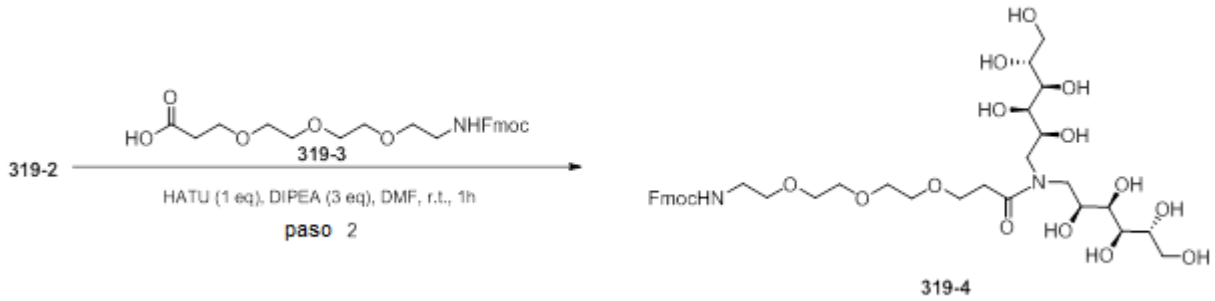


319-1

319-2

[0583] Una solución de **319-1** (2,0 g, 0,011 mol) y D-Glucosa (4,0 g, 0,022 mol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (1,4 g, 0,022 mol). La solución resultante se agitó durante otras 2 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **319-2** (2,6 g, 7,529 mmol, 68,44%) como un sólido blanco.

Paso 2

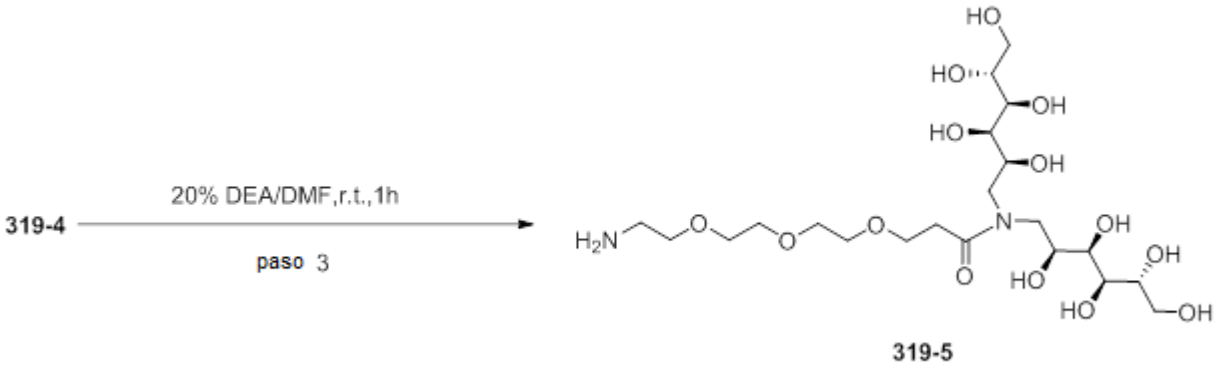


319-4

[0584] Una solución de **319-2** (2,6 g, 7,529 mmol), 319-3 (3,3 g, 7,529 mmol) y HATU (2,9 g, 7,529 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se

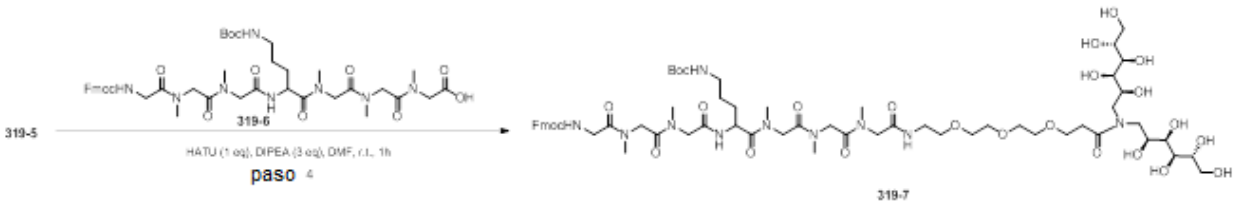
agregó DIPEA (2,9 g, 22,586 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **319-4** (1,5 g, 1,946 mmol, 25,85%) como un sólido blanco.

Paso 3



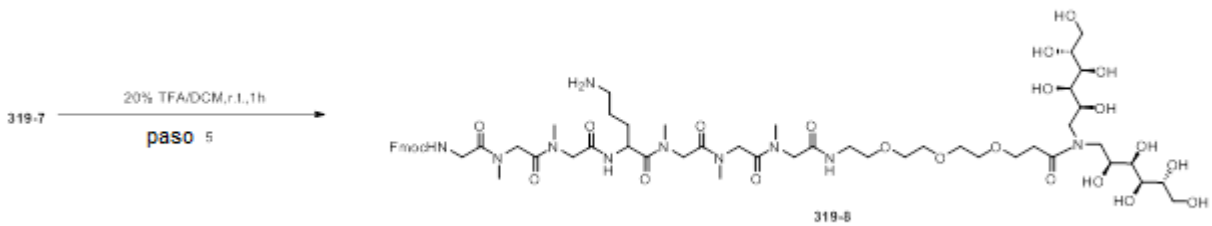
[0585] Una solución de **319-4** (1,5 g, 1,946 mmol) y DEA (2 mL) en DMF anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **319-5** (950 mg, 1,732 mmol, 89,00%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 4



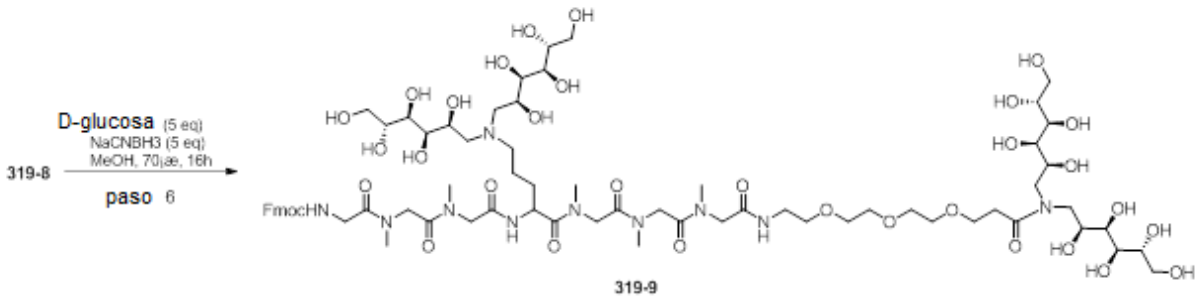
[0586] Una solución de **319-5** (950 mg, 1,732 mmol), **319-6** (1501 mg, 1,732 mmol) y HATU (658 mg, 1,732 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (670 mg, 5,184 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **319-7** (700 mg, 0,501 mmol, 28,93%) como un sólido blanco.

Paso 5



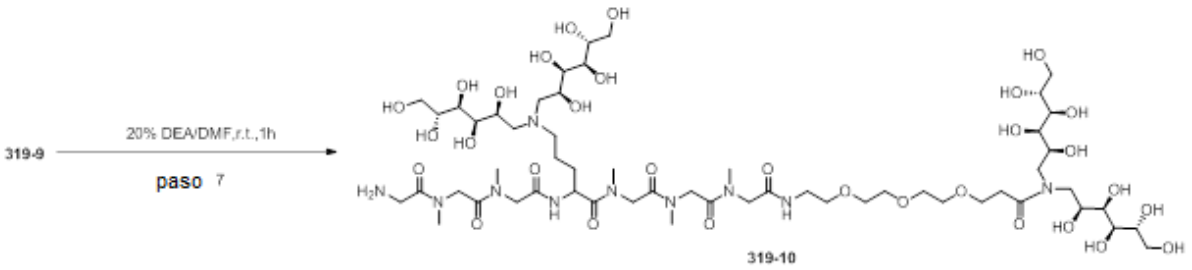
[0587] Una solución de **319-7** (300 mg, 0,215 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **319-8** (245 mg, 0,189 mmol, 87,91%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 6



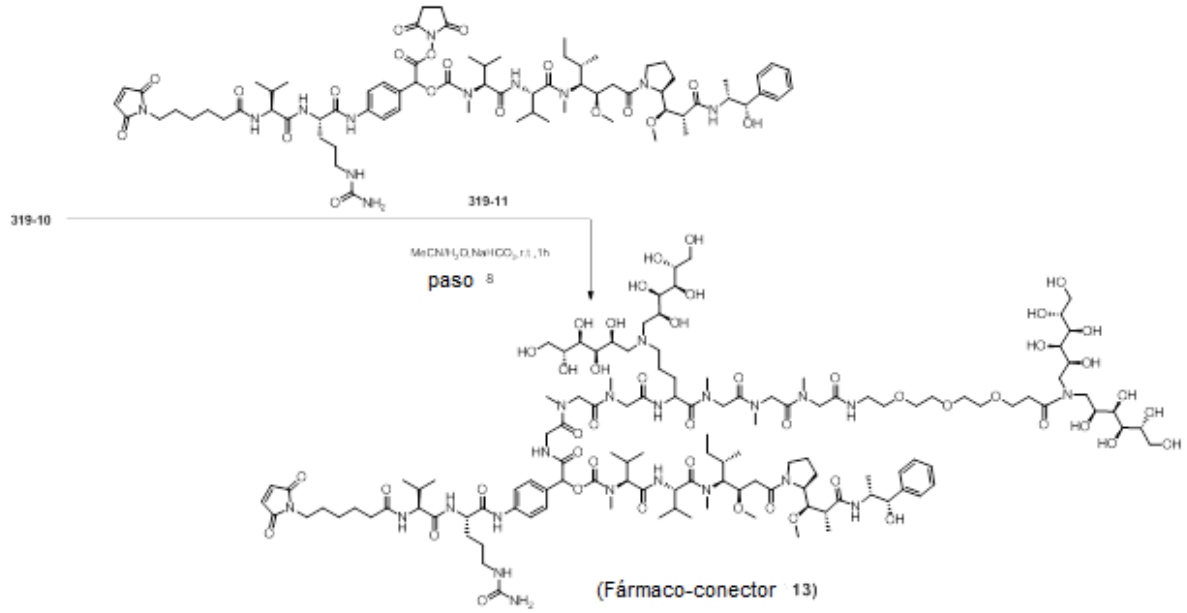
[0588] Una solución de **319-8** (245 mg, 0,189 mmol) y D-Glucosa (170 mg, 0,945 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (60 mg, 0,945 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 16 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **319-9** (140 mg, 0,086 mmol, 45,50%) como un sólido blanco.

Paso 7



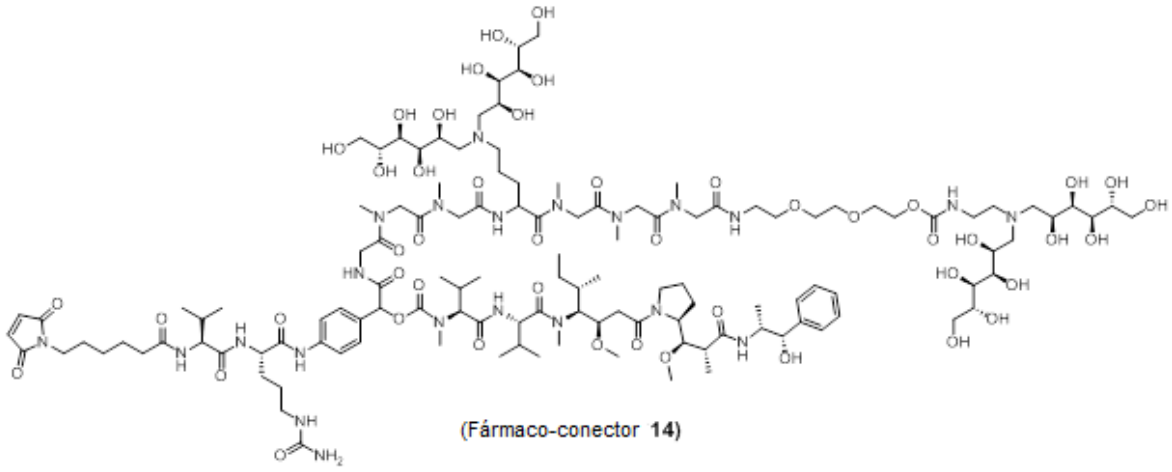
[0589] Una solución de **319-9** (140 mg, 0,086 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **319-10** (112 mg, 0,080 mmol, 93,02%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 8

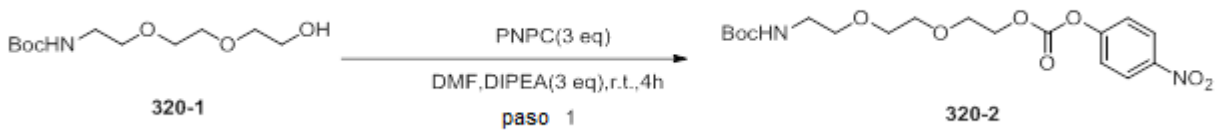


[0590] Una solución de **319-10** (112 mg, 0,080 mmol) y **319-11** (116 mg, 0,080 mmol) en H_2O (3 mL) y MeCN (3 mL) se ajustó a pH = 8 con bicarbonato de sodio acuoso. La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 13** (8 mg, 0,003 mmol, 3,75%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 916,23(M/3+H)$^+$.

Ejemplo 14: Preparación del Fármaco-Conector 14



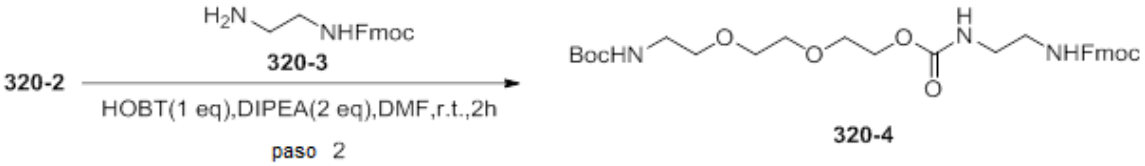
Paso 1



[0591] Una solución de **320-1** (1,0 g, 4,011 mol) y DIPEA (1,6 g, 12,380 mol) en DMF anhidro

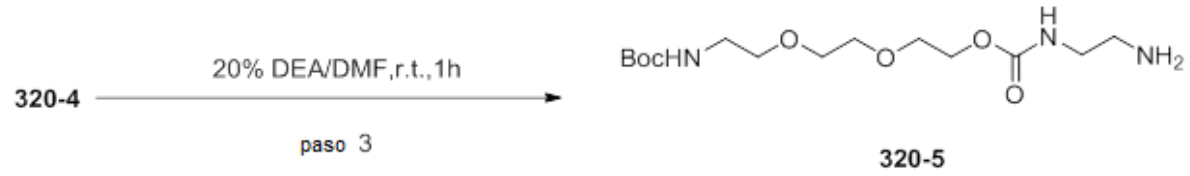
(15 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó PNPC (3,7 g, 12,163 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 4 h a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **320-2** (943 mg, 2,276 mmol, 56,73%) como un sólido amarillo.

Paso 2



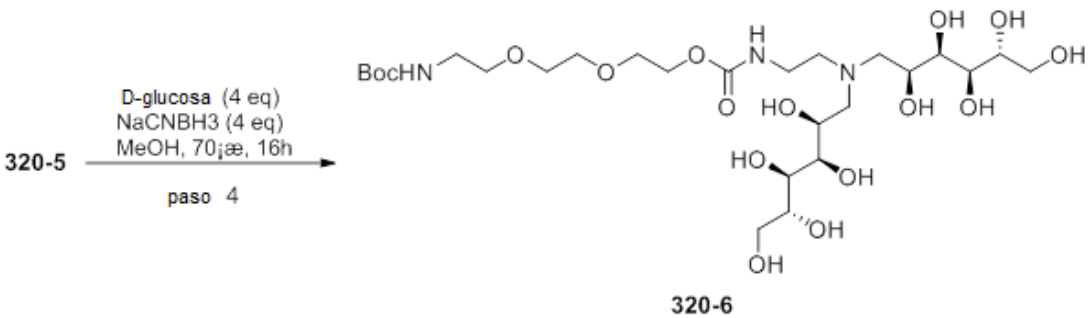
[0592] Una solución de **320-2** (943 mg, 2,276 mmol), **320-3** (642 mg, 2,274 mmol), y HOBT (307 mg, 2,274 mmol) en DMF anhidro (50 mL) se agitó a temperatura ambiente, luego se agregó DIPEA (588 mg, 4,550 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **320-4** (850 mg, 1,524 mmol, 66,97%) como un sólido blanco.

Paso 3



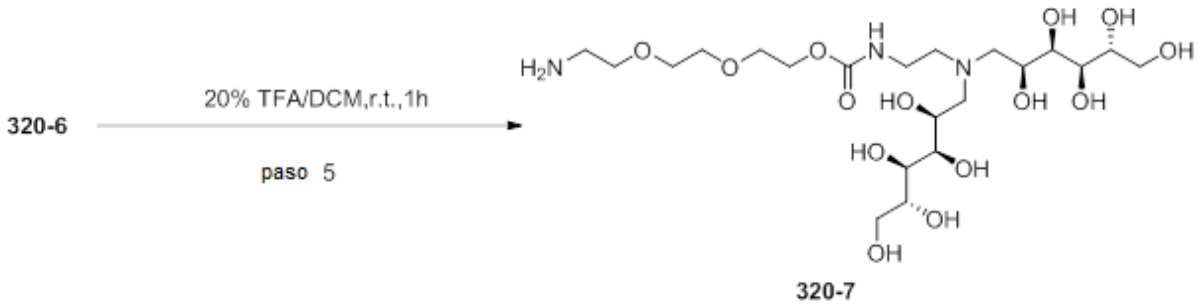
[0593] Una solución de **320-4** (850 mg, 1,524 mmol) y DEA (2 mL) en DMF anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **320-5** (491 mg, 1,464 mmol, 96,06%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 4



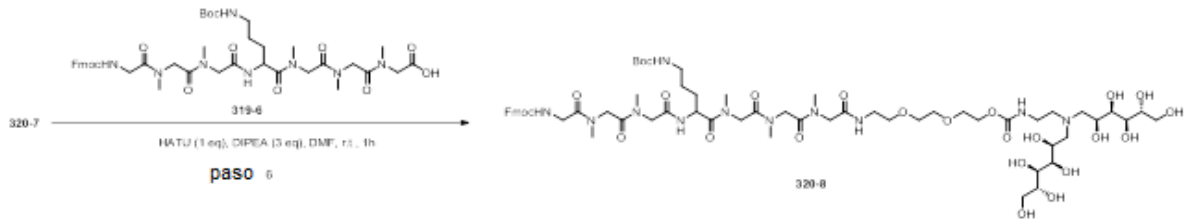
[0594] Una solución de **320-5** (491 mg, 1,464 mmol) y D-Glucosa (1,05 g, 5,828 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (368 mg, 5,856 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 16 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **320-6** (470 mg, 0,708 mmol, 48,37%) como un sólido blanco.

Paso 5



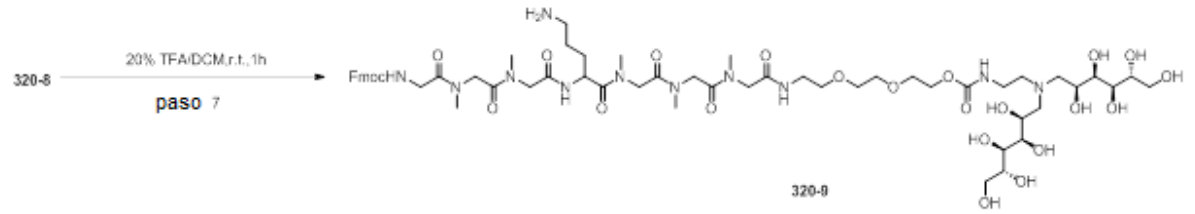
[0595] Una solución de **320-6** (470 mg, 0,708 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **320-7** (385 mg, 0,683 mmol, 96,48%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 6



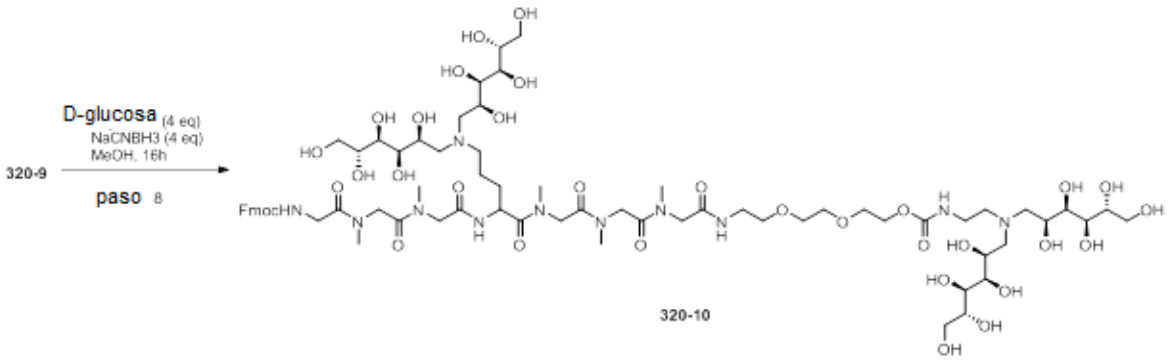
[0596] Una solución de **320-7** (385 mg, 0,683 mmol), **319-6** (592 mg, 0,683 mmol) y HATU (260 mg, 0,684 mmol) en DMF anhidro (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (265 mg, 2,050 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **320-8** (413 mg, 0,292 mmol, 42,81%) como un sólido blanco.

Paso 7



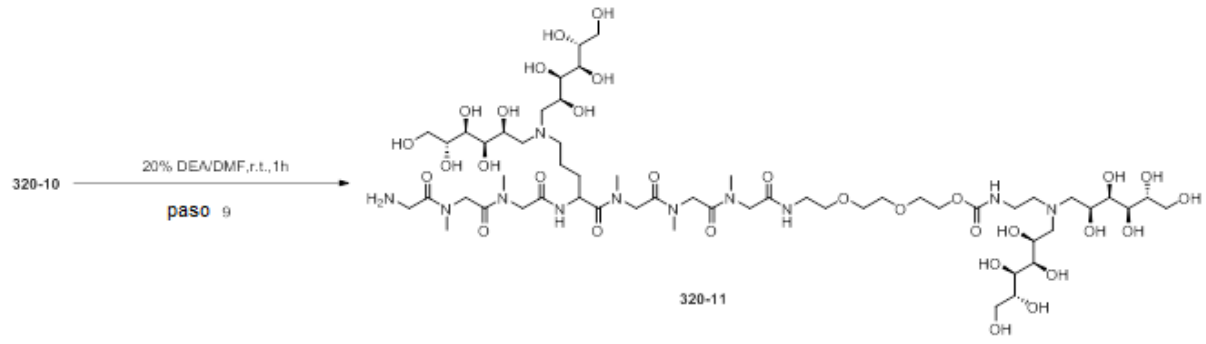
[0597] Una solución de **320-8** (413 mg, 0,292 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **320-9** (370 mg, 0,262 mmol, 89,70%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 8



[0598] Una solución de **320-9** (370 mg, 0,262 mmol) y D-Glucosa (203 mg, 1,127 mmol) en metanol anhidro (40 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (71 mg, 1,130 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 16 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **320-10** (210 mg, 0,128 mmol, 48,85%) como un sólido blanco.

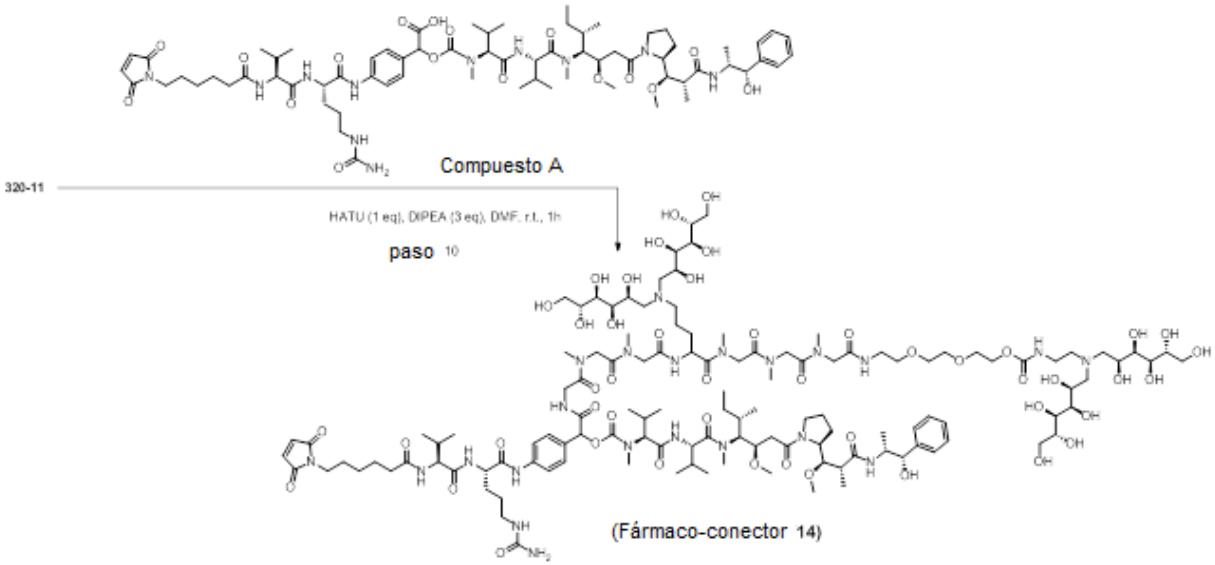
Paso 9



[0599] Una solución de **320-10** (210 mg, 0,128 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda

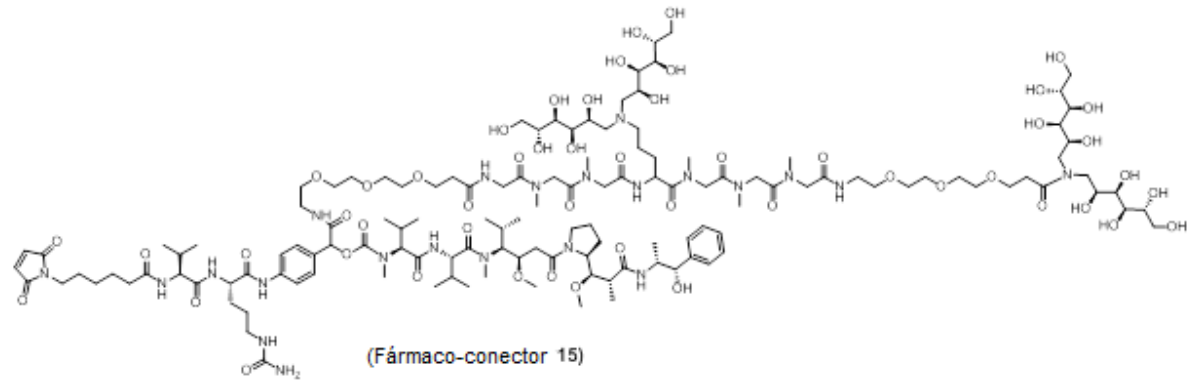
la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **320-11** (175 mg, 0,123 mmol, 96,38%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 10

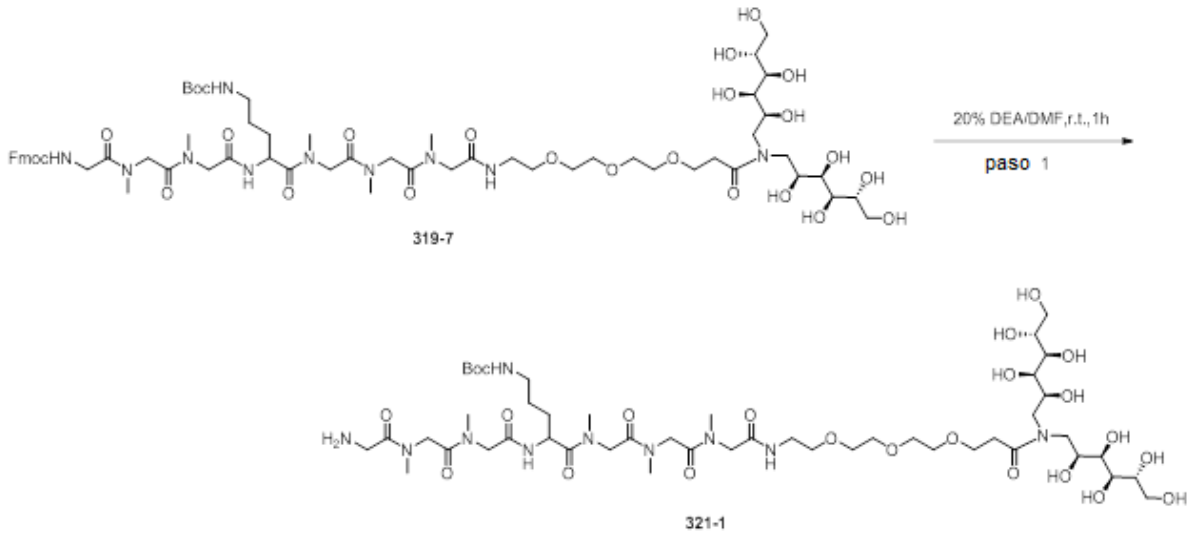


[0600] Una solución de **320-11** (42 mg, 0,030 mmol), el **Compuesto A** (40 mg, 0,029 mmol) y HATU (11 mg, 0,029 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (11 mg, 0,085 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 14** (16 mg, 0,006 mmol, 19,32%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1381,18$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 15: Preparación del Fármaco-Conector 15

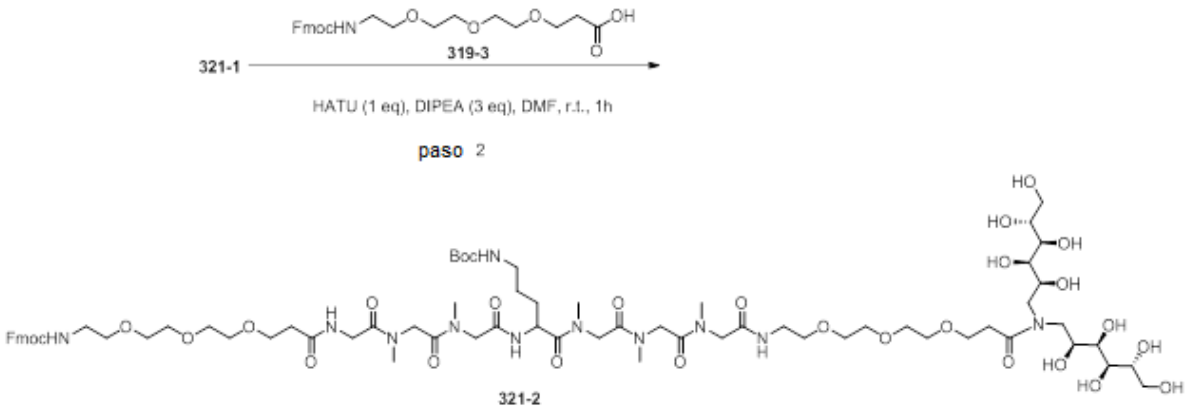


Paso 1



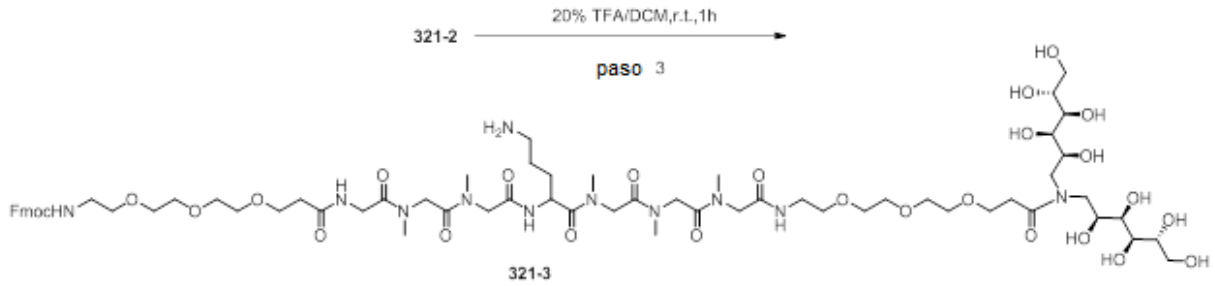
[0601] Una solución de **319-7** (350 mg, 0,250 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **321-1** (280 mg, 0,238 mmol, 95,29%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 2



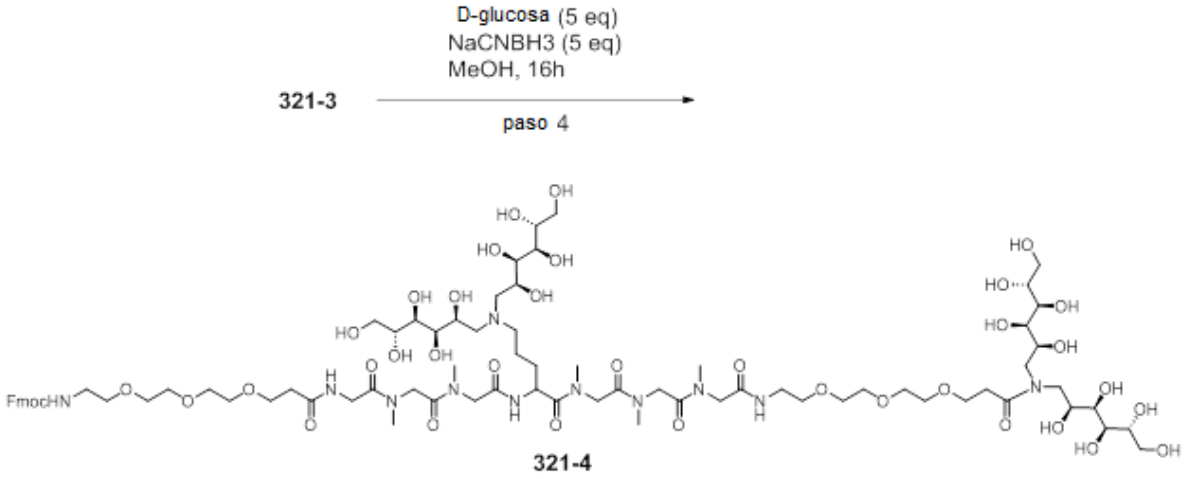
[0602] Una solución de **321-1** (280 mg, 0,238 mmol), **319-3** (105 mg, 0,237 mmol) y HATU (90 mg, 0,237 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (92 mg, 0,712 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 hora adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **321-2** (265 mg, 0,166 mmol, 69,56%) como un sólido blanco.

Paso 3



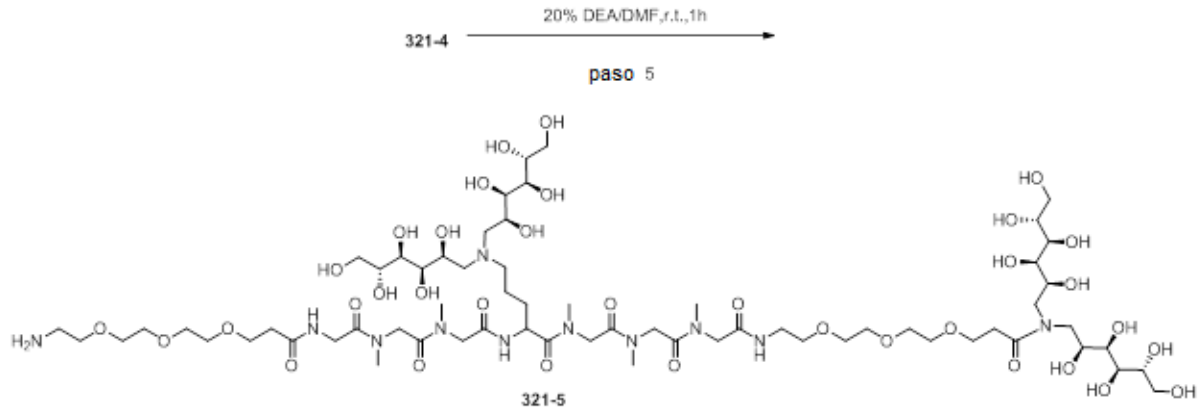
[0603] Una solución de **321-2** (265 mg, 0,166 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **321-3** (243 mg, 0,162 mmol, 97,55%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 4



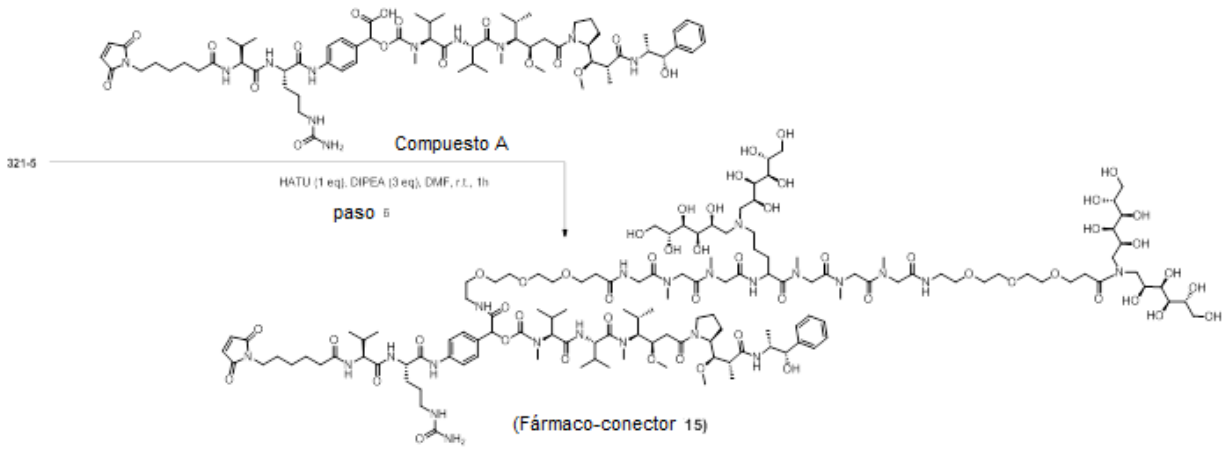
[0604] Una solución de **321-3** (243 mg, 0,162 mmol) y D-Glucosa (146 mg, 0,810 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (51 mg, 0,812 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 16 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **321-4** (155 mg, 0,085 mmol, 52,31%) como un sólido blanco.

Paso 5



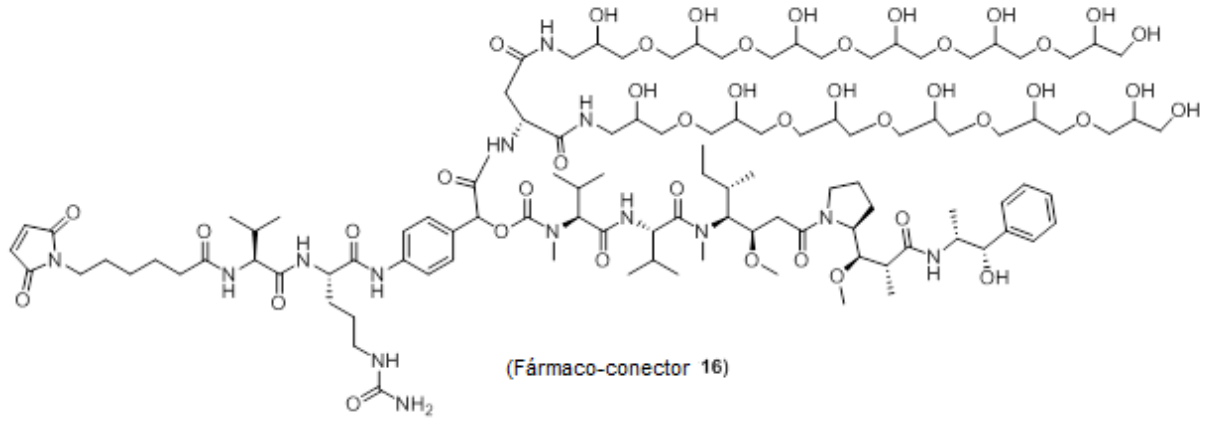
[0605] Una solución de **321-4** (155 mg, 0,085 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **321-5** (130 mg, 0,081 mmol, 95,19%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 6



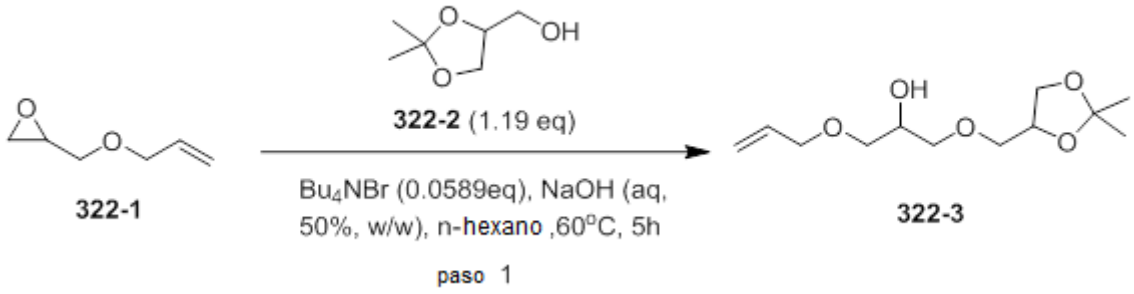
[0606] Una solución de **321-5** (130 mg, 0,081 mmol), el **Compuesto A** (110 mg, 0,081 mmol) y HATU (31 mg, 0,081 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (31 mg, 0,240 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 15** (24 mg, 0,008 mmol, 9,88%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 984,06$(M/3+H)^+$.

Ejemplo 16: Preparación del Fármaco-Conector 16



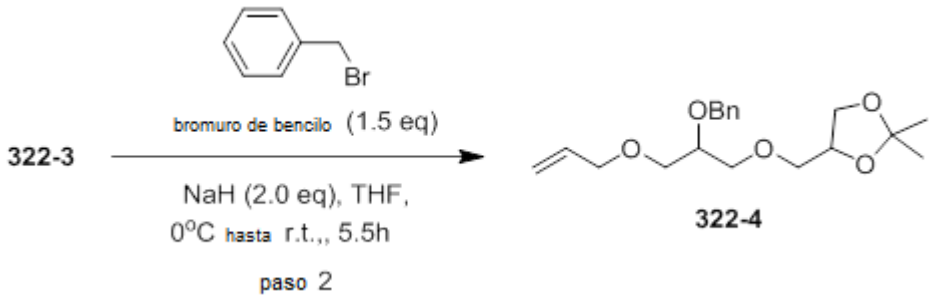
(Fármaco-conector **16**)

Paso 1



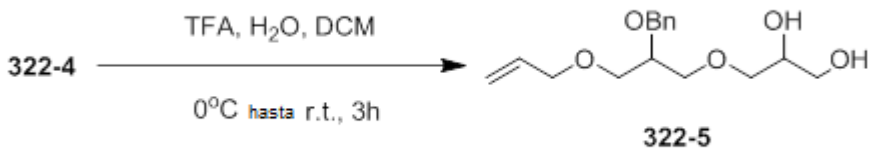
[0607] Una solución de **322-2** (12,5 g, 94,64 mmol) y Bu_4NBr (1,51g, 4,684mmol) en una mezcla de solventes de n-hexano (62,6 mL) y NaOH (acuoso, 50% p/p, 62,5mL) se agitó a 60 °C. Una solución de **322-1** (9,07 g, 79,53 mmol) en n-hexano (12,5 mL) se agregó a la mezcla de reacción, y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 5 horas hasta que la mayor parte de **322-1** se consumió, según lo indicado por TLC. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con agua (100 mL), luego se extrajo con MTBE (200 mLx2). Las fases orgánicas se combinaron, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-50% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-3** como un sólido incoloro 20,68 g. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,93 – 5,80 (m, 1H), 5,30 – 5,20 (m, 1H), 5,19 – 5,12 (m, 1H), 4,30 – 4,15 (m, 1H), 4,05 – 3,91 (m, 4H), 3,73 – 3,66 (m, 1H), 3,58 – 3,43 (m, 6H), 2,74 (s, 1H), 1,39 (d, J = 3,6 Hz, 3H), 1,33 (d, J = 2,8 Hz, 3H).

Paso 2



[0608] A una mezcla de NaH (5,58 g, 139,59 mmol) en THF anhidro (340 mL) enfriada en un baño de hielo se agregó una solución de **322-3** (17,18 g, 69,79 mmol) en THF anhidro (85 mL) por goteo, luego se agitó a esta temperatura durante 20 minutos. Se agregó bromuro de bencilo (17,79 g, 104,69 mmol) por goteo, luego la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas hasta que **322-3** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con amonio saturado (150 mL) y se extrajo con acetato de etilo (200 mL x 2). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-40% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-4** (14,7 g, 43,73 mmol, 62,7%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 – 7,22 (m, 5H), 5,97 – 5,81 (m, 1H), 5,27 (dt, *J* = 17,2, 1,8 Hz, 1H), 5,17 (dq, *J* = 10,5, 1,5 Hz, 1H), 4,75 – 4,62 (m, 2H), 4,24 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,07 – 3,95 (m, 3H), 3,79 – 3,70 (m, 2H), 3,68 – 3,59 (m, 2H), 3,58 – 3,52 (m, 3H), 3,51 – 3,45 (m, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

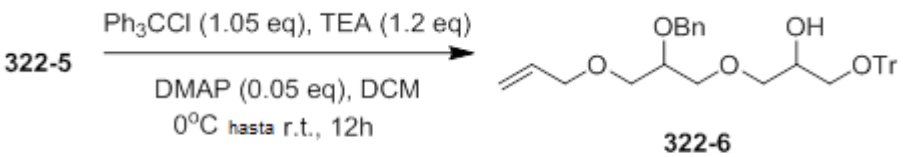
Paso 3



paso 3

[0609] Una solución de **322-4** (3,5 g, 10,411 mmol) en DCM (62,3 mL) y H_2O (0,78 mL) se agitó en un baño de hielo, luego se agregó ácido trifluoroacético (1,56 mL). La solución resultante se agitó durante 3 horas a esta temperatura hasta que **322-4** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con $NaHCO_3$ acuoso saturado y luego se diluyó con agua (20 mL). La mezcla se extrajo con DCM (30 mL x 2) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-5** (2,815 g, 9,505 mmol, 91,3%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 – 7,26 (m, 5H), 5,95 – 5,81 (m, 1H), 5,31 – 5,23 (m, 1H), 5,21 – 5,14 (m, 1H), 4,73 – 4,59 (m, 2H), 3,99 (dt, *J* = 5,6, 1,5 Hz, 2H), 3,85 – 3,78 (m, 1H), 3,76 – 3,71 (m, 1H), 3,66 – 3,49 (m, 8H), 2,55 (s, 2H).

Paso 4

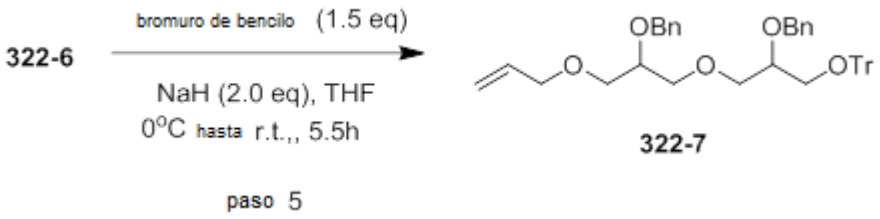


paso 4

[0610] Una solución de **322-5** (8,17 g, 27,586 mmol), TEA (3,349 g, 33,103 mmol) y DMAP

(168,5 mg, 1,379 mmol) en DCM (40,8 mL) se agitó en un baño de hielo, luego se agregó una solución de Ph_3CCl (8,075 g, 28,966 mmol) en DCM (40,8 mL) por goteo. La mezcla resultante se calentó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas hasta que la mayor parte de **322-5** se consumió, según lo indicado por TLC. La mezcla se diluyó con DCM (20 mL), se lavó con agua (20 mL x2), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-40% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-6** (13,86 g,25,749 mmol, 93,3%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,47 – 7,36 (m, 6H), 7,32 – 7,20 (m, 14H), 5,94 – 5,90 (m, 1H), 5,29 – 5,21 (m, 1H), 5,16 (dd, *J* = 10,4, 1,6 Hz, 1H), 4,69 – 4,57 (m, 2H), 4,0 – 3,86 (m, 3H), 3,73 – 3,67 (m, 1H), 3,63 – 3,55 (m, 3H), 3,55 – 3,48 (m, 3H), 3,24 – 3,12 (m, 2H), 2,61 (s, 1H).

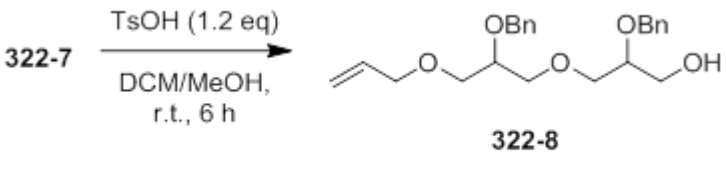
Paso 5



paso 5

[0611] Una mezcla de NaH (2,06 g, 51,498 mmol) en THF anhidro (90 mL) se agitó en un baño de hielo, luego se agregó una solución de **322-6** (13,86 g, 25,749 mmol) en THF anhidro (45 mL) por goteo. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 20 minutos, luego se agregó bromuro de bencilo (6,56 g, 38,62 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas hasta que **322-6** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con amonio saturado (50 mL) y se extrajo con (acetato de etilo 60 mL x 2). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-30% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-7** (15,67 g, 24,940 mmol, 96,86%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,51 – 7,40 (m, 6H), 7,35 – 7,20 (m, 19H), 5,94 – 5,80 (m, 1H), 5,29 – 5,21 (m, 1H), 5,17 – 5,10 (m, 1H), 4,65 (d, *J* = 12,1 Hz, 4H), 3,99 – 3,87 (m, 2H), 3,79 – 3,65 (m, 2H), 3,65 – 3,59 (m, 2H), 3,58 – 3,53 (m, 2H), 3,52 – 3,46 (m, 2H), 3,23 (d, *J* = 5,0 Hz, 2H).

Paso 6

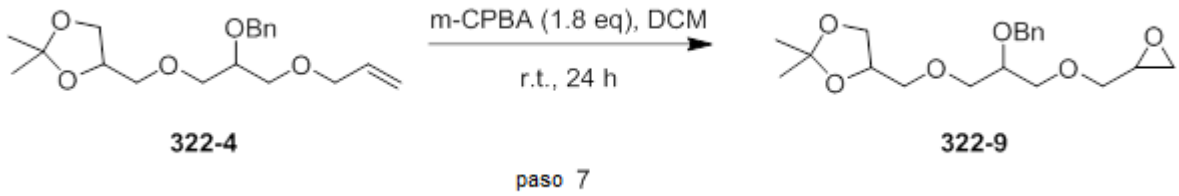


paso 6

[0612] A una solución de **322-7** (15,67 g, 24,939 mmol) en una mezcla de solventes de DCM

(62 mL) y MeOH (31 mL) se agregó TsOH•H_2O (5,7 g, 29,927 mmol), la mezcla resultante se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente hasta que **322-7** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con $NaHCO_3$ acuoso saturado, se diluyó con agua (30 mL), y luego se extrajo con DCM (50 mL x 3). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-50% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-8** (9,09 g, 23,54 mmol, 94,37%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,48 – 7,15 (m, 10H), 5,98 – 5,80 (m, 1H), 5,26 (d, *J* = 17,2 Hz, 1H), 5,17 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 4,75 – 4,53 (m, 4H), 3,99 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,78 – 3,70 (m, 2H), 3,68 – 3,48 (m, 8H).

Paso 7

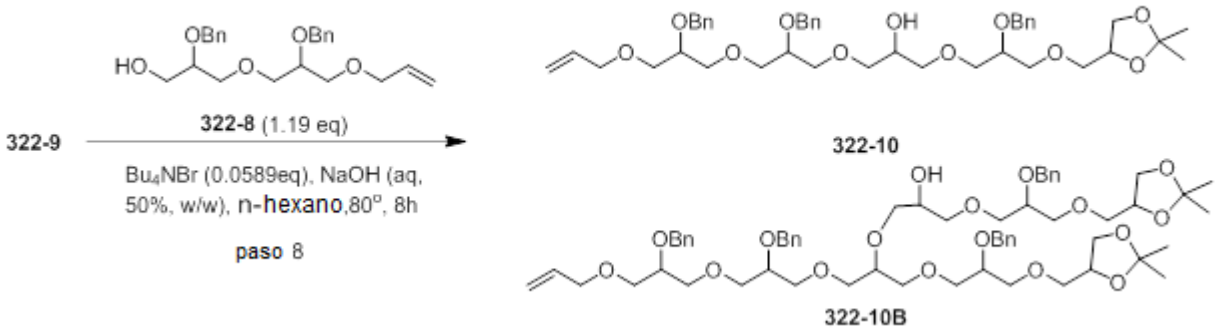


322-4 **322-9**

paso 7

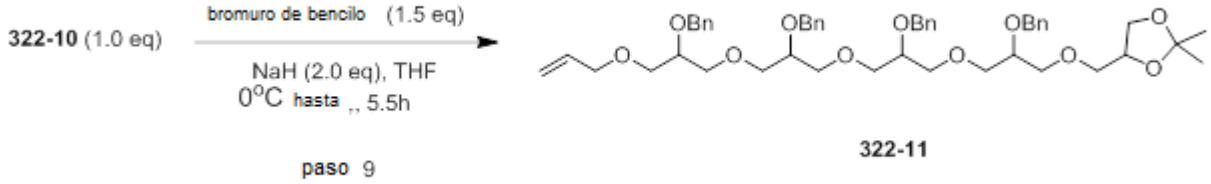
[0613] A una solución de **322-4** (14,0 g, 41,555 mmol) en DCM (36 mL) se agregó una solución de m-CPBA (12,91 g, 74,799 mmol) en DCM (103 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **322-4** se consumió, y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ saturado (acuoso, 50 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 50 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (150 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (60 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-9** (13,79 g, 39,16 mmol, 94,37%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,45 – 7,16 (m, 5H), 4,69 (s, 2H), 4,25 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,04 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,86 – 3,69 (m, 3H), 3,68 – 3,36 (m, 7H), 3,19 – 3,08 (m, 1H), 2,83 – 2,76 (m, 1H), 2,63 – 2,53 (m, 1H), 1,42 (s, 3H), 1,37 (s, 3H).

Paso 8



[0614] Una solución de **322-8** (8,429 g, 23,934 mmol) y Bu_4NBr (454,4 mg, 1,409 mmol) en una mezcla de solventes de n-hexano (30 mL) y NaOH (acuoso, 50% p/p, 30 mL) se agitó a 80 °C. Una mezcla de **322-9** (11,0 g, 28,482 mmol) en n-hexano (6 mL) se agregó a la mezcla de reacción, y la mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 8 horas hasta que la mayor parte de **322-9** se consumió, según lo indicado por TLC. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con agua (50 mL), luego se extrajo con MTBE (100 mLx3). Las fases orgánicas se combinaron, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-10** (8,0 g, 10,83 mmol, 45,3%) como un aceite amarillo pálido y **322-10B** (2,1 g, 1,925 mmol, 8,0%) como un aceite amarillo pálido. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 – 7,15 (m, 15H), 5,96 – 5,73 (m, 1H), 5,31 – 5,06 (m, 2H), 4,76 – 4,51 (m, 6H), 4,29 – 4,13 (m, 1H), 4,07 – 3,86 (m, 4H), 3,76 – 3,37 (m, 22H), 2,52 (s, 1H), 1,56 – 1,05 (m, 6H). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42 – 7,27 (m, 20H), 5,96 -5,82 (m, 1H), 5,26 (dd, J = 17,2, 1,8 Hz, 1H), 5,16 (dd, J = 10,5, 1,9 Hz, 1H), 4,69 – 4,61 (m, 8H), 4,27 – 4,19 (m, 2H), 4,05 – 3,97 (m, 4H), 3,90 – 3,80 (m, 2H), 3,76 -3,66 (m, 8H), 3,61 – 3,48 (m, 26H), 3,09 (s, 1H), 1,58 – 1,16 (m, 12H).

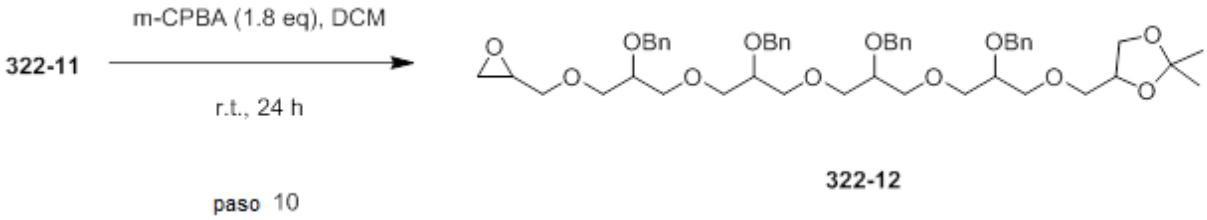
Paso 9



[0615] Una mezcla de NaH (867 mg, 21,668 mmol) en THF anhidro (36 mL) se agitó en un baño de hielo, luego se agregó una solución de **322-10** (8,0 g, 10,834 mmol) en THF anhidro (20 mL) por goteo. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 20 minutos, luego se agregó bromuro de bencilo (2,76 g, 16,251 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas hasta que 322-10 se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con amonio saturado (25 mL) y se extrajo con acetato de etilo (40 mL x 2). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro,

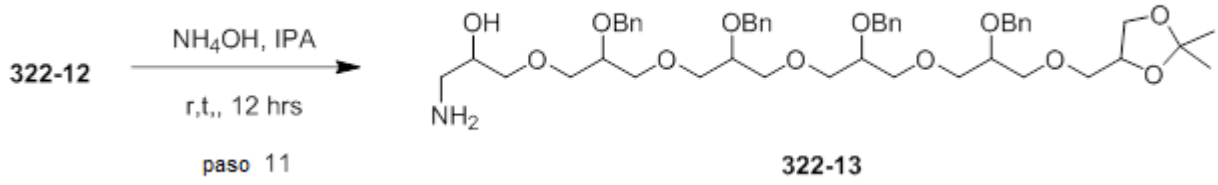
se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-11** (8,45 g, 10,20 mmol, 94,1%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,43 – 7,25 (m, 20H), 5,99 – 5,82 (m, 1H), 5,27 (dd, *J* = 17,2, 1,8 Hz, 1H), 5,17 (dd, *J* = 10,4, 1,7 Hz, 1H), 4,77 – 4,60 (m, 8H), 4,30 – 4,18 (m, 1H), 4,06 – 3,96 (m, 3H), 3,81 – 3,70 (m, 5H), 3,63 – 3,47 (m, 18H), 1,47 – 1,21 (m, 6H).

Paso 10



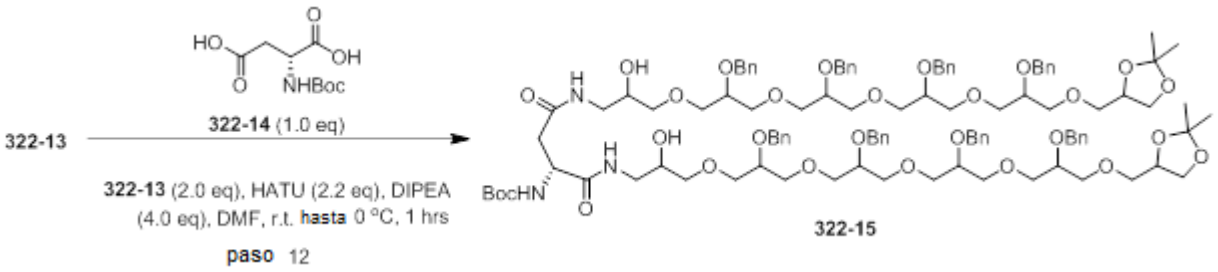
[0616] A una solución de **322-11** (8,45 g, 10,20 mmol) en DCM (12,8 mL) se agregó una solución de m-CPBA (3,16 g, 18,36 mmol) en DCM (25,6 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **322-11** se consumió, y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ saturado (acuoso, 15 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 15 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (120 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (40 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-12** (6,858 g, 8,12 mmol, 79,6%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,53 – 7,25 (m, 20H), 4,68 (s, 8H), 4,28 – 4,20 (m, 1H), 4,06 – 4,00 (m, 1H), 3,80 – 3,69 (m, 6H), 3,66 – 3,50 (m, 16H), 3,49 – 3,44 (m, 1H), 3,41 – 3,35 (m, 1H), 3,16 – 3,08 (m, 1H), 2,76 (t, *J* = 4,6 Hz, 1H), 2,63 – 2,52 (m, 1H), 1,54 – 1,24 (m, 6H).

Paso 11



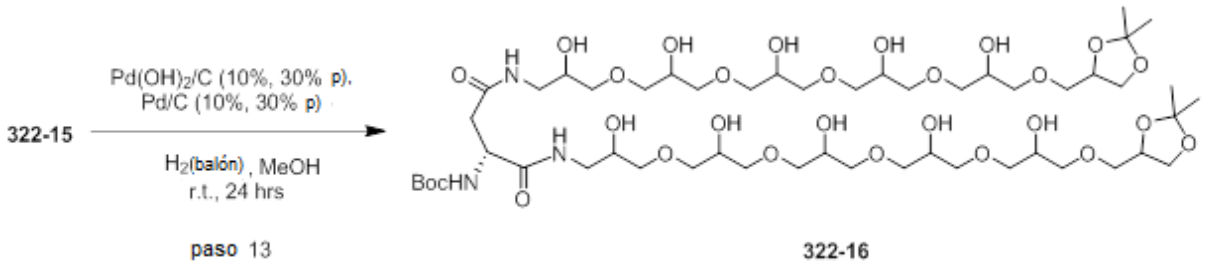
[0617] A una solución de **322-12** (1,22 g, 1,445 mmol) en alcohol isopropílico (120 mL) se agregó amoníaco (120 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **322-12** se consumió. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **322-13** (1,28g, 1,48 mmol, 100%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

Paso 12



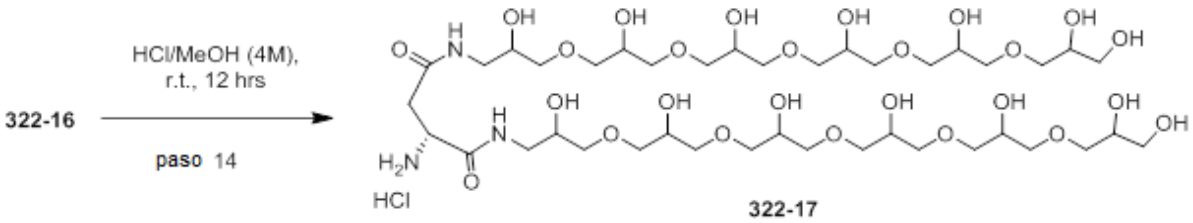
[0618] Una solución de **322-14** (81,2 mg, 0,348 mmol) y HATU (291 mg, 0,766 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se agitó en un baño de hielo. Una solución de **322-13** (600mg, 0,696 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agregó por goteo, seguida por DIPEA (180 mg, 1,392 mmol). La mezcla resultante se agitó en un baño de hielo durante 1 h hasta que la mayor parte de **322-14** se consumió, y luego se diluyó con acetato de etilo (60 mL). La fase orgánica se lavó con H_2O (20 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **322-15** (660 mg, 0,343 mmol, 98,7%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,74 – 7,24 (m, 40H), 6,68 – 6,40 (m, 1H), 6,25 – 6,00 (m, 1H), 4,84 – 4,50 (m, 16H), 4,40 (s, 1H), 4,23 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 4,05 – 3,97 (m, 2H), 3,82 – 3,36 (m, 53H), 3,22 – 2,96 (m, 3H), 2,93 – 2,61 (m, 5H), 2,52 – 2,33 (m, 1H), 1,44 – 1,26 (m, 21H).

Paso 13



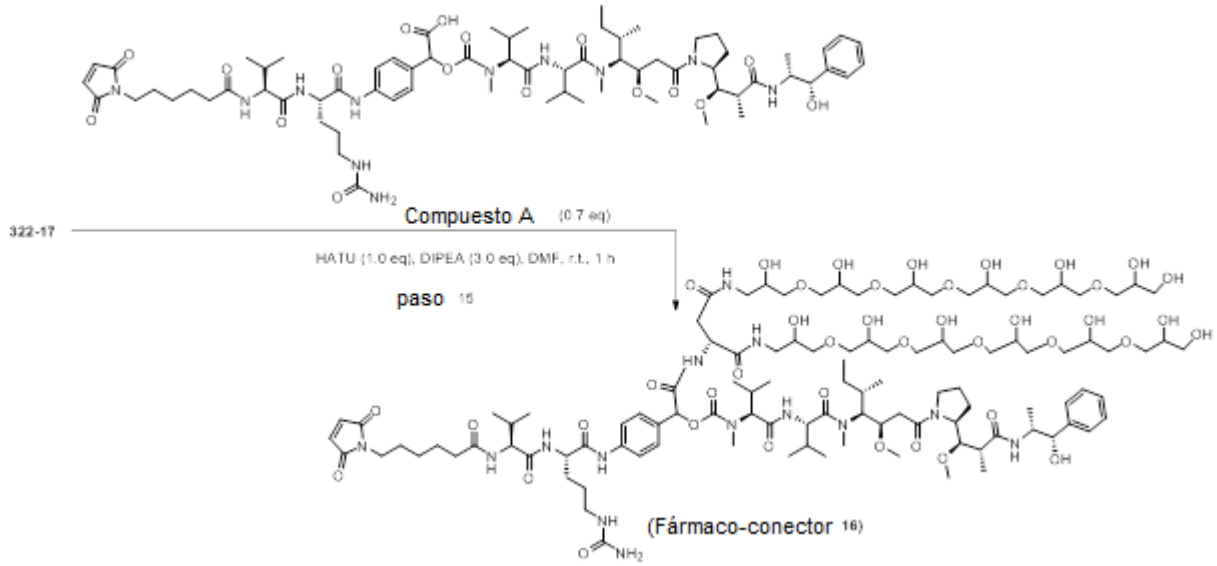
[0619] Una mezcla de **322-15** (160 mg, 0,0833 mmol), $Pd(OH)_2$/C (10%, 50 mg) y Pd/C (10%, 50 mg) en MeOH (10 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que 322-15 se convirtió completamente a **322-16**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **322-16** (78,3 mg, 0,0652 mmol, 78,3%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 14



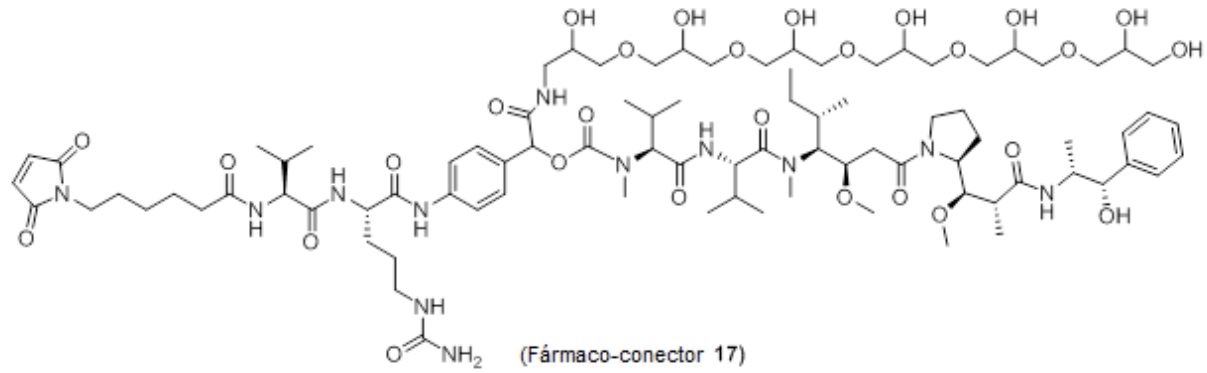
[0620] Una mezcla de **322-16** (78,3 mg, 0,0652 mmol) y HCl/MeOH (4M, 4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas hasta que **322-16** se convirtió completamente a **322-17**. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **322-17** (65,0 mg, 0,0616 mmol, 94,4%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 15

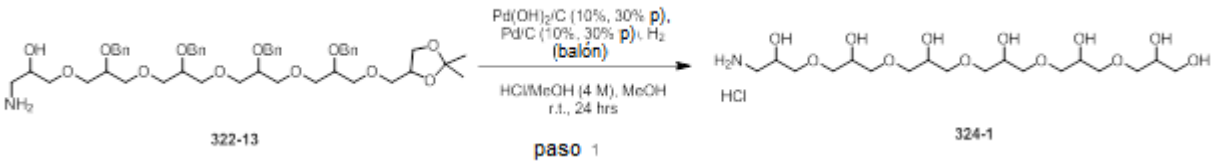


[0621] Una solución de **322-17** (60 mg, 0,0568 mmol), el **Compuesto A** (54 mg, 0,0397 mmol), HATU (21,6 mg, 0,0568 mmol) y DIPEA (22 mg, 0,170 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 16** (18,1 mg, 0,00766 mmol, 19,3%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1182,02 $(M/2+H)^+$, m/z = 788,25 $(M/3+H)^+$.

Ejemplo 17: Preparación del Fármaco-Conector 17

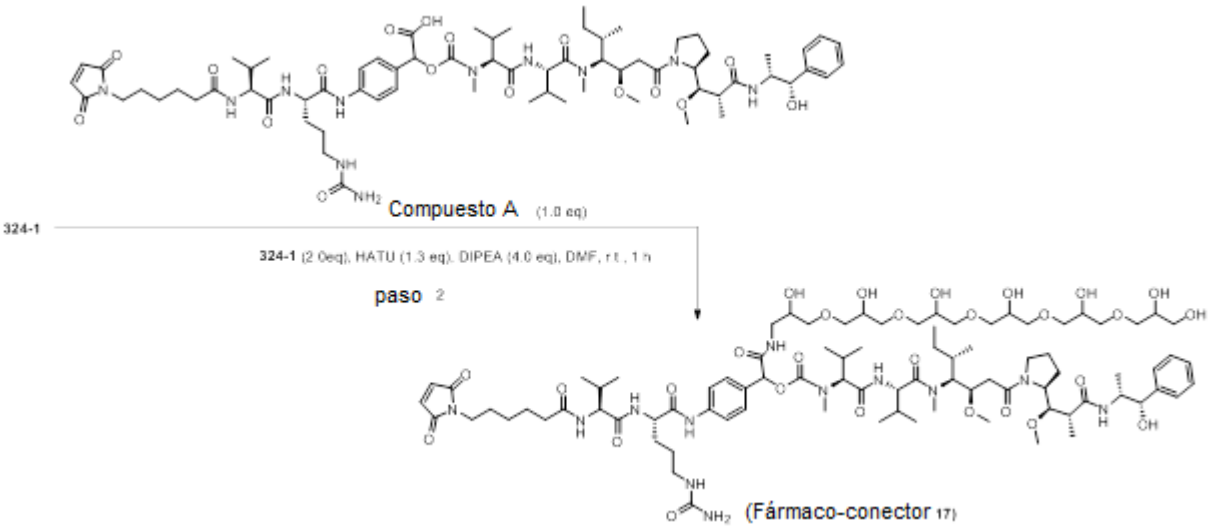


Paso 1



[0622] Una mezcla de **322-13** (160 mg, 0,186 mmol), $Pd(OH)_2$/C (10%, 50mg) y Pd/C (10%, 50mg) en una mezcla de solventes de MeOH (10 mL) y HCl/MeOH (4M, 3 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **322-13** se convirtió completamente a **324-1**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **324-1** (92,3 mg, 0,186 mmol, 100%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

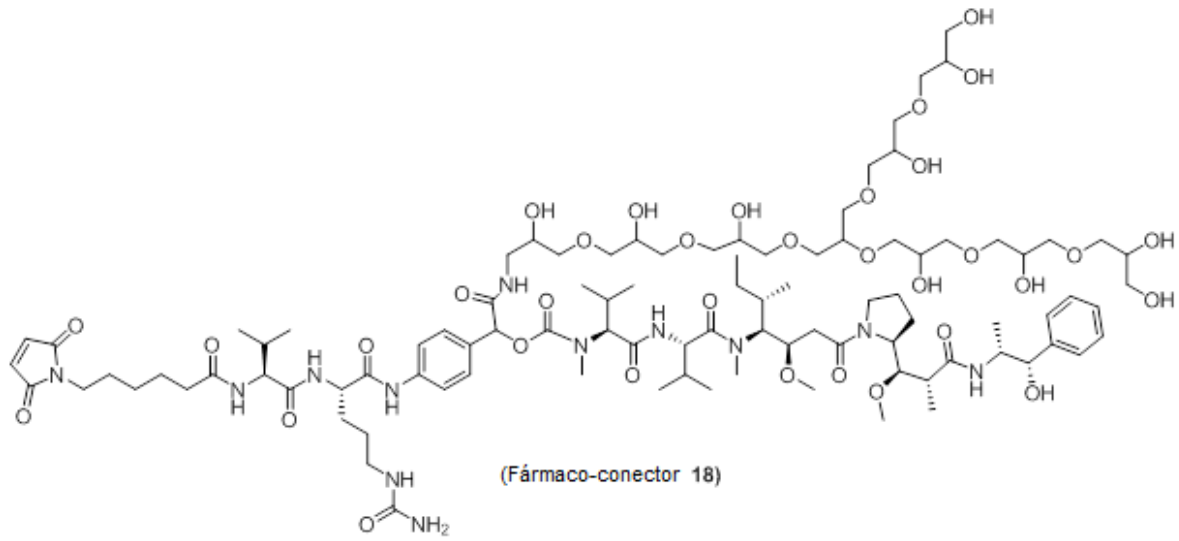
Paso 2



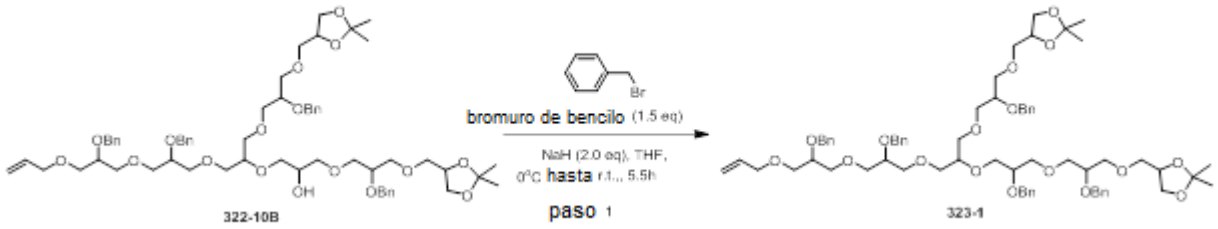
[0623] Una solución de **324-1** (44 mg, 0,0885 mmol), el **Compuesto A** (60 mg, 0,0441 mmol), HATU (21,8 mg, 0,0573 mmol) y DIPEA (22,8 mg, 0,176 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector**

17 (28,0 mg, 0,0155 mmol, 35,2%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1804,11 $(M+H)^+$, m/z = 902,76 $(M/2+H)^+$.

Ejemplo 18: Preparación del Fármaco-Conector 18

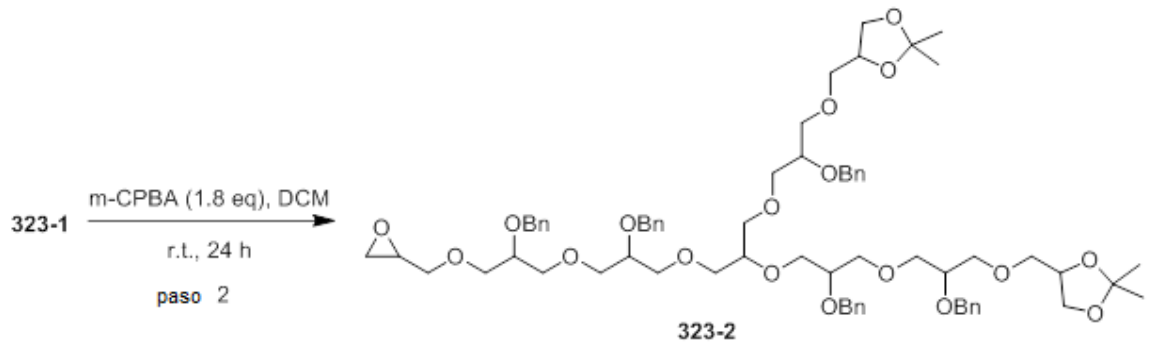


Paso 1



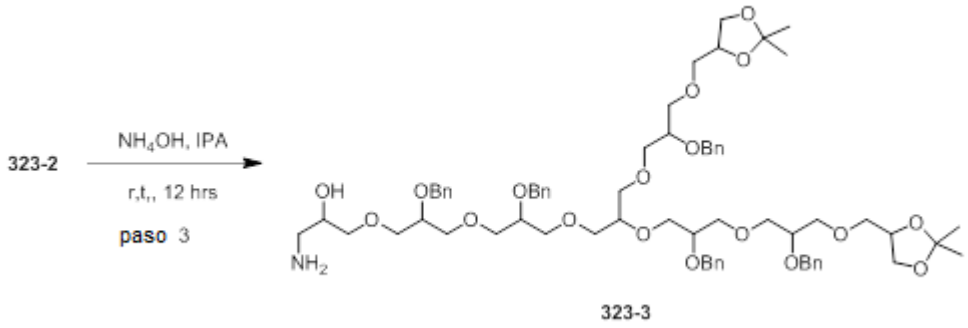
[0624] Una mezcla de NaH (205 mg, 5,13 mmol) en THF anhidro (12,6 mL) se agitó en un baño de hielo, luego se agregó una solución de **322-10B** (2,79 g, 2,565 mmol) en THF anhidro (7 mL) por goteo. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 20 minutos, luego se agregó bromuro de bencilo (654 g, 3,847 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas hasta que **322-10B** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con amonio saturado (15 mL) y se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 2). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-80% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **323-1** (2,772 g, 2,348 mmol, 91,8%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%.

Paso 2



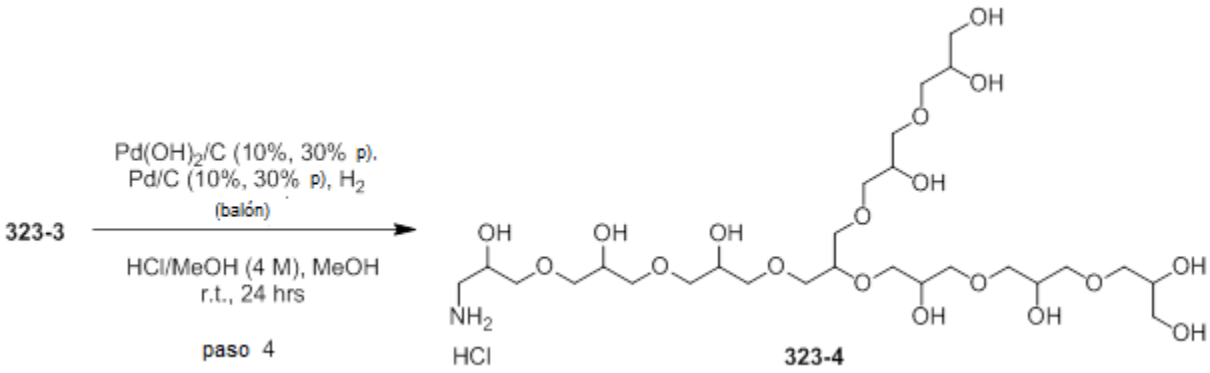
[0625] A una solución de **323-1** (2,77 g, 2,346 mmol) en DCM (4,2 mL) se agregó una solución de m-CPBA (729 mg, 4,223 mmol) en DCM (8,4 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **323-1** se consumió, y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ (acuoso, 10 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 10 mL) saturados. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (100 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (30 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **323-2** (2,147 g, 1,79 mmol, 76,5%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,50 – 7,20 (m, 25H), 4,65 (s, 10H), 4,22 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 4,06 – 3,98 (m, 2H), 3,82 – 3,30 (m, 38H), 3,15 – 3,03 (m, 1H), 2,82 – 2,70 (m, 1H), 2,62 – 2,51 (m, 1H), 1,46 – 1,28 (m, 12H).

Paso 3



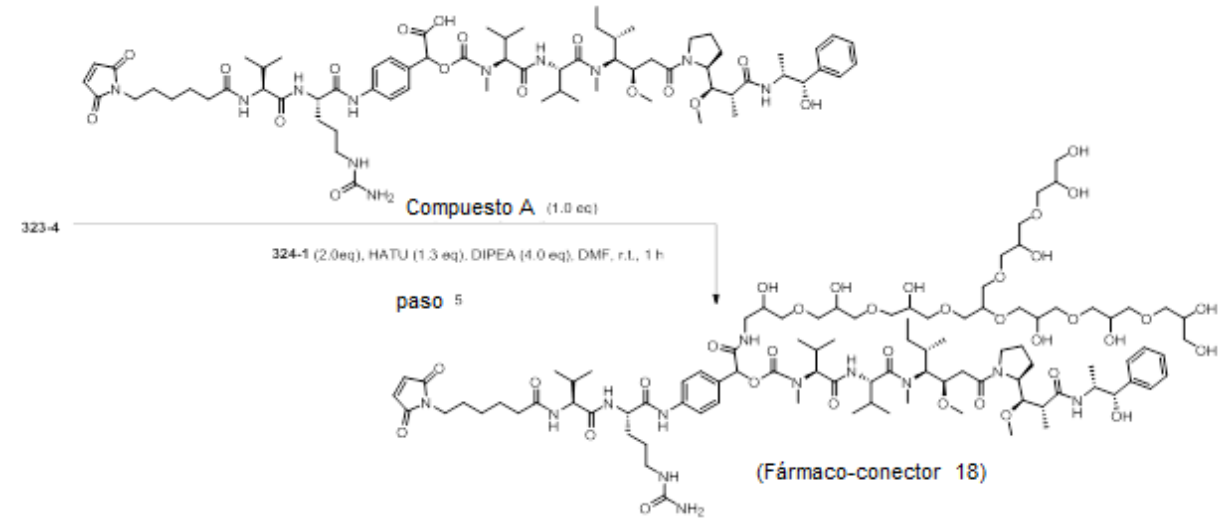
[0626] A una solución de **323-2** (450 mg, 0,376 mmol) en alcohol isopropílico (32 mL) se agregó amoníaco (32 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **323-2** se consumió. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **323-3** (456 mg, 1,48 mmol, 100%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



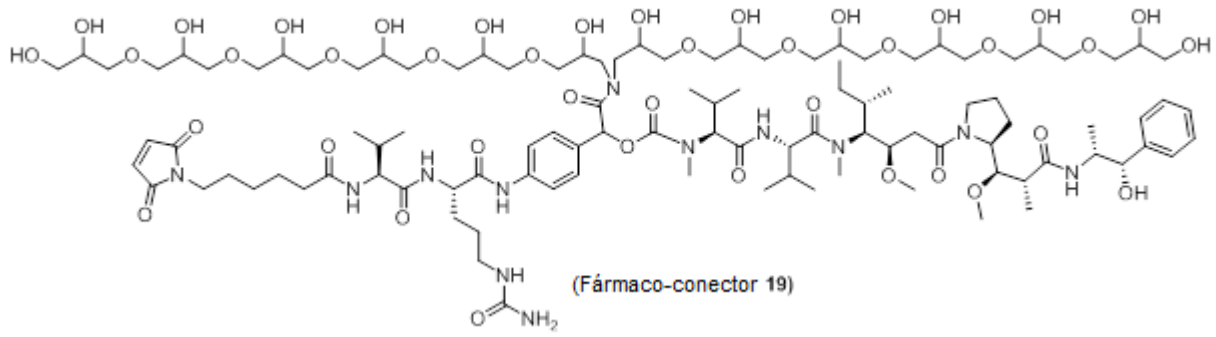
[0627] Una mezcla de **323-3** (250 mg, 0,206 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 75mg) y Pd/C (10%, 75mg) en una mezcla de solventes de MeOH (16 mL) y HCl/MeOH (4M, 4 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **323-3** se convirtió completamente a **323-4**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **323-4** (149,7 mg, 0,208 mmol, 100%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 5



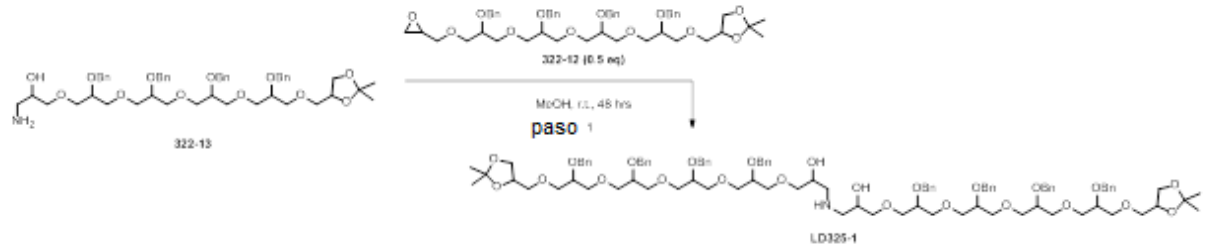
[0628] Una solución de **323-4** (63,5 mg, 0,0883 mmol), el **Compuesto A** (60 mg, 0,0441 mmol), HATU (21,8 mg, 0,0573 mmol) y DIPEA (22,8 mg, 0,176 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 18** (35,0 mg, 0,0173 mmol, 39,2%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1013,85 $(M/2+H)^+$.

Ejemplo 19: Preparación del Fármaco-Conector 19



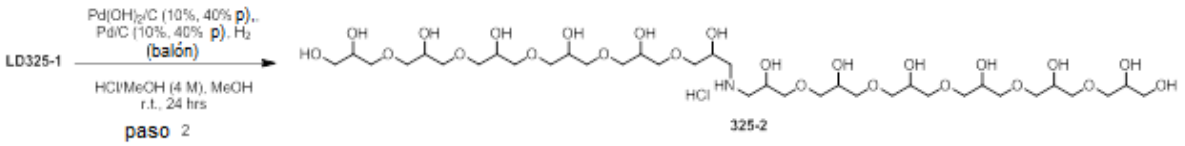
(Fármaco-conector 19)

Paso 1



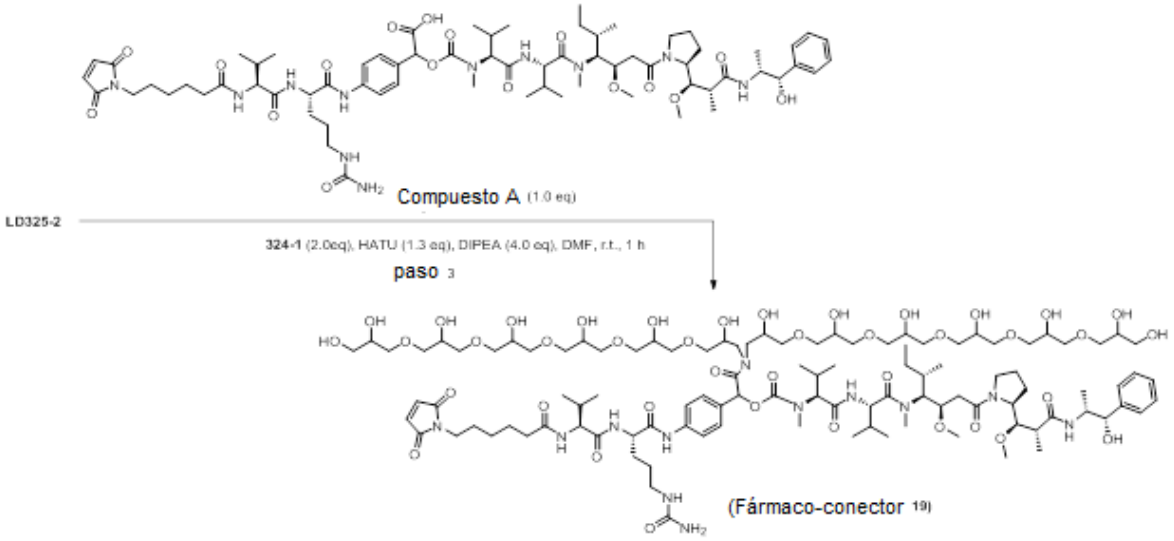
[0629] Una solución de **322-13** (408 mg, 0,474 mmol), **322-12** (200 mg, 0,237 mmol) y MeOH (20 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar **325-1** (121,9 mg, 0,0715 mmol, 30,2%) como un aceite incoloro.

Paso 2



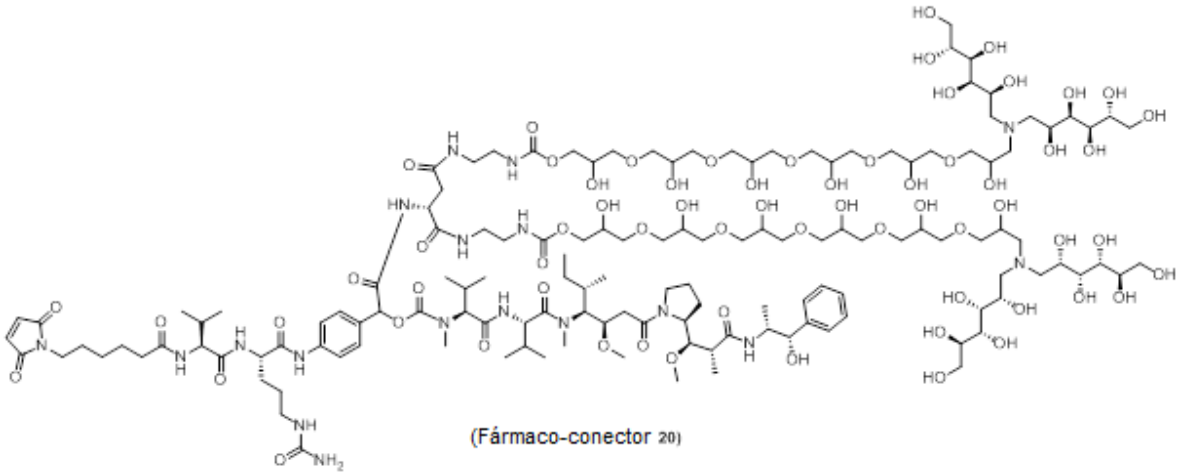
[0630] Una mezcla de **325-1** (121,9 mg, 0,0715 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 50 mg) y Pd/C (10%, 50 mg) en una mezcla de solventes de MeOH (10 mL) y HCl/MeOH (4M, 3 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **325-1** se convirtió completamente a **325-2**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **323-4** (67,2 mg, 0,0714 mmol, 100%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 3

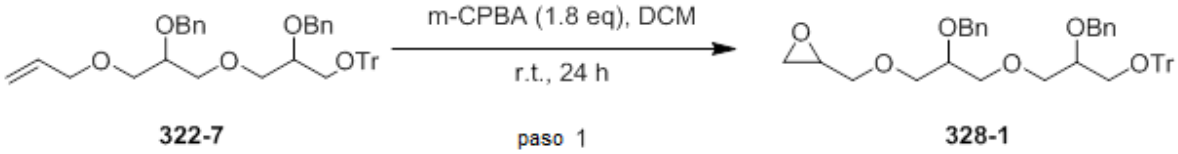


[0631] Una solución de **325-2** (67,2 mg, 0,0714 mmol), el **Compuesto A** (60 mg, 0,0441 mmol), HATU (21,8 mg, 0,0573 mmol) y DIPEA (22,8 mg, 0,176 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 19** (25,0 mg, 0,0111 mmol, 25,2%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1124,79 $(M/2+H)^+$.

Ejemplo 20: Preparación del Fármaco-Conector 20



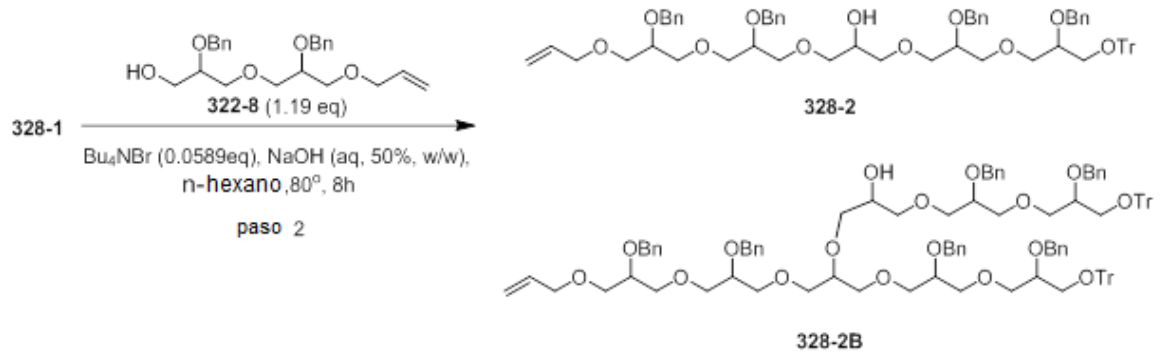
Paso 1



[0632] A una solución de **322-7** (10,0 g, 15,915 mmol) en DCM (20 mL) se agregó una solución de m-CPBA (4,94 g, 28,648 mmol) en DCM (40 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **322-7** se consumió,

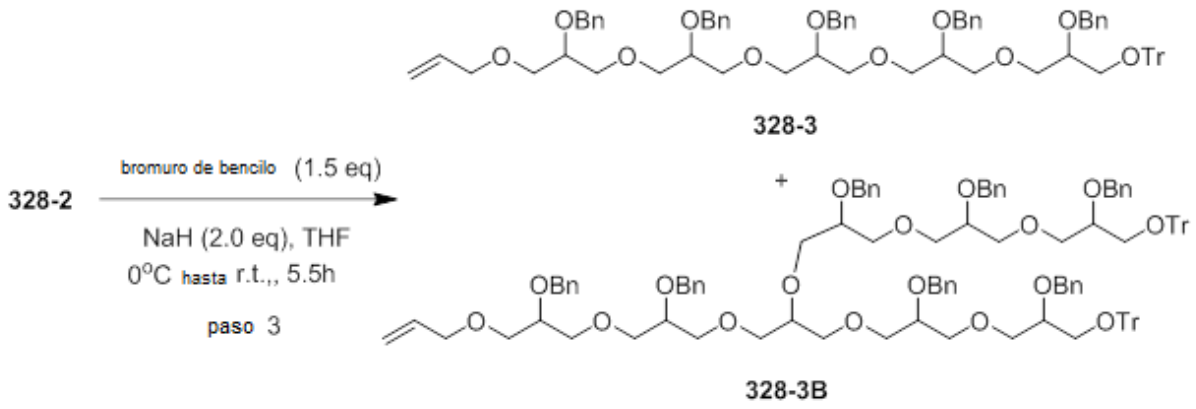
y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ (acuoso, 20 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 20 mL) saturados. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (100 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (20 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-90% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **328-1** (9,1g, 14,12 mmol, 88,7%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,47 – 7,38 (m, 5H), 7,36 – 7,03 (m, 20H), 4,70 – 4,39 (m, 4H), 3,79 – 3,41 (m, 9H), 3,40 – 3,32 (m, 1H), 3,28 – 3,14 (m, 2H), 3,12 – 3,01 (m, 1H), 2,79 – 2,66 (m, 1H), 2,60 – 2,47 (m, 1H).

Paso 2



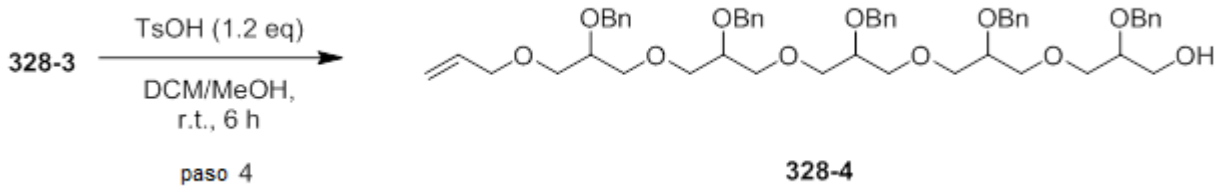
[0633] Una solución de **322-8** (4,279 g, 11,08 mmol) y Bu_4NBr (177 mg, 0,548 mmol) en una mezcla de solventes de n-hexano (20 mL) y NaOH (acuoso, 50% p/p, 20 mL) se agitó a 80 °C. Una mezcla de **328-1** (6,0 g, 9,312 mmol) en n-hexano (8 mL) se agregó a la mezcla de reacción, y la mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 8 horas hasta que la mayor parte de **328-1** se consumió, según lo indicado por TLC. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con agua (30 mL), luego se extrajo con MTBE (70 mL x 3). Las fases orgánicas se combinaron, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **328-2** (7,22 g, contiene **328-2B**) como un aceite amarillo pálido. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,48 – 7,41 (m, 6H), 7,37 – 7,24 (m, 29H), 5,95 – 5,81 (m, 1H), 5,29 – 5,22 (m, 1H), 5,16 (dd, J = 10,4, 1,7 Hz, 1H), 4,69 – 4,63 (m, 6H), 4,62 – 4,58 (m, 2H), 4,00 – 3,95 (m, 2H), 3,92 – 3,85 (m, 1H), 3,76 – 3,70 (m, 3H), 3,69 – 3,64 (m, 1H), 3,62 – 3,50 (m, 15H), 3,48 – 3,39 (m, 4H), 3,23 (d, J = 5,2 Hz, 2H).

Paso 3



[0634] Una mezcla de NaH (560,5 mg, 14,012 mmol) en THF anhidro (23,5 mL) se agitó en un baño de hielo, luego se agregó una solución de **328-2** (7,22 g, 7,006 mmol, contiene **328-2B**) en THF anhidro (13,2 mL) por goteo. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 20 minutos, luego se agregó bromuro de bencilo (1,786 g, 10,509 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 5 horas hasta que **328-2** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con amonio saturado (20 mL) y se extrajo con acetato de etilo (40 mL x 2). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-80% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **328-3** (5,13 g, 4,578 mmol, 65,3%) como un aceite amarillo pálido y **328-3B** (2,0 g, 1,133 mmol) un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,46 – 7,42 (m, 6H), 7,33 – 7,20 (m, 34H), 5,94 – 5,81 (m, 1H), 5,27 – 5,22 (m, 1H), 5,17 – 5,12 (m, 1H), 4,67 – 4,63 (m, 8H), 4,61 (s, 2H), 3,99 – 3,95 (m, 2H), 3,75 – 3,66 (m, 5H), 3,60 – 3,50 (m, 18H), 3,23 (d, J = 5,2 Hz, 2H). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,46 - 7,40 (m, 13H), 7,34 – 7,25 (m, 27H), 7,24 – 7,15 (m, 25H), 5,93 – 5,81 (m, 1H), 5,26 – 5,21 (m, 1H), 5,14 (dd, J = 10,4, 1,6 Hz, 1H), 4,67 – 4,65 (m, 2H), 4,64 – 4,61 (m, 8H), 4,60 - 4,57 (m, 4H), 3,99 – 3,93 (m, 2H), 3,75 – 3,63 (m, 10H), 3,59 – 3,55 (m, 6H), 3,54 – 3,46 (m, 20H), 3,21 (d, J = 4,8 Hz, 4H).

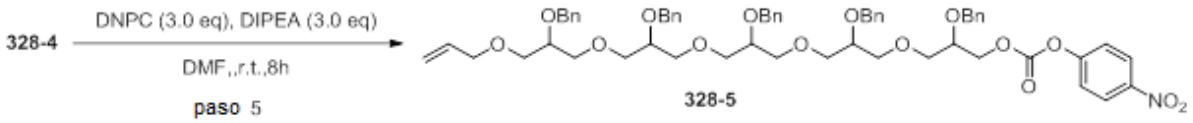
Paso 4



[0635] A una solución de **328-3** (3,6 g, 3,213 mmol) en una mezcla de solventes de DCM (22 mL) y MeOH (11 mL) se agregó TsOH•H_2O(733 mg, 3,855 mmol), la mezcla resultante se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente hasta que **328-3** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con $NaHCO_3$ acuoso saturado, se diluyó con agua (20 mL), y luego se extrajo con DCM (40 mL x 3). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro,

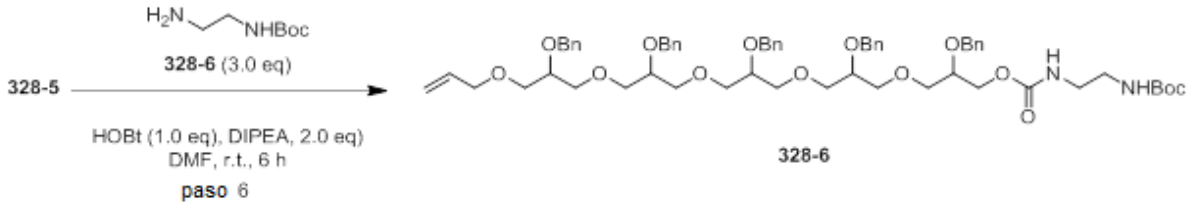
se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **328-4** (2,84 g, 23,233 mmol, 100%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 – 7,26 (m, 25H), 5,96 – 5,84 (m, 1H), 5,27 (dq, J = 17,2, 1,8 Hz, 1H), 5,17 (dq, J = 10,4, 1,6 Hz, 1H), 4,73 – 4,63 (m, 10H), 4,63 – 4,58 (m, 1H), 3,99 (dt, J = 5,6, 1,6 Hz, 2H), 3,78 – 3,71 (m, 5H), 3,67 – 3,63 (m, 2H), 3,62 – 3,54 (m, 18H).

Paso 5



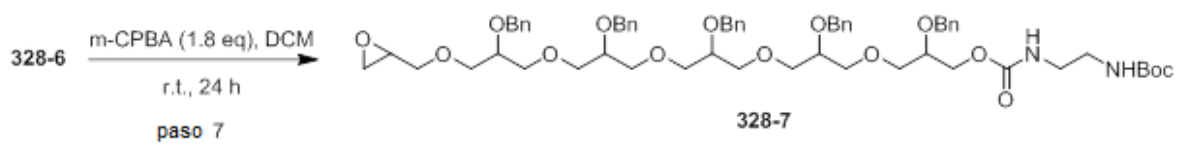
[0636] A una solución de **328-4** (3,6 g, 3,213 mmol) en DMF (8 mL) se agregó DIPEA (353,2 mg, 2,733 mmol), seguido por carbonato de 4,4'-dinitrodifenilo (831,1 mg, 2,732 mmol), luego la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas hasta que **328-4** se consumió, según la detección por LCMS. La solución de la reacción se usó directamente en el siguiente paso sin tratamiento posterior.

Paso 6



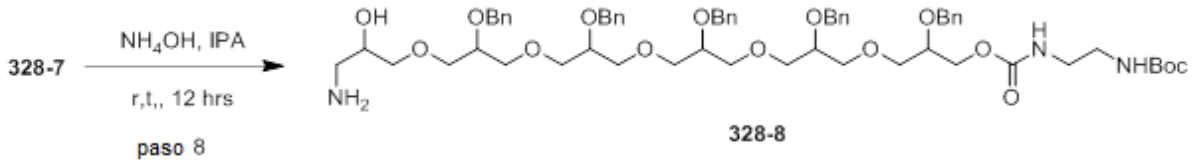
[0637] A la mezcla de reacción precedente se agregó HOBt (123 mg, 0,911 mmol), DIPEA (235,5 mg, 1,822 mmol) y **328-6** (437,6 mg, 2,733 mmol) en forma sucesiva, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas hasta que **328-5** se consumió, según la detección por LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (acuoso, 30 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-90% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **328-6** (958 mg, 0,90 mmol, 98,7% al cabo de 2 pasos) como un aceite amarillo pálido. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,36 – 7,22 (m, 25H), 5,95 – 5,80 (m, 1H), 5,28 – 5,21 (m, 1H), 5,20 – 5,13 (m, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,83 (s, 1H), 4,69 – 4,62 (m, 10H), 4,30 – 4,21 (m, 1H), 4,16 – 4,10 (m, 1H), 3,97 (dt, J = 5,6, 1,6 Hz, 2H), 3,77 – 3,69 (m, 5H), 3,62 – 3,50 (m, 19H), 3,27 – 3,10 (m, 4H), 1,43 (s, 9H).

Paso 7



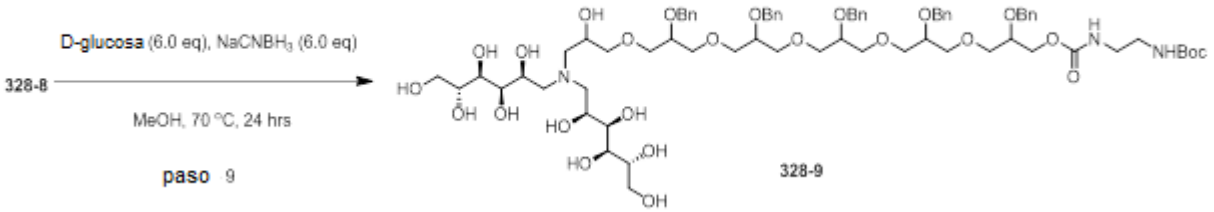
[0638] A una solución de **328-6** (958 mg, 0,90 mmol) en DCM (6 mL) se agregó una solución de m-CPBA (280 mg, 1,62 mmol) en DCM (6 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **328-6** se consumió, y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ (acuoso, 5 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 5 mL) saturados. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (30 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (10 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **328-7** (787 mg, 0,728 mmol, 80,9%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%.

Paso 8



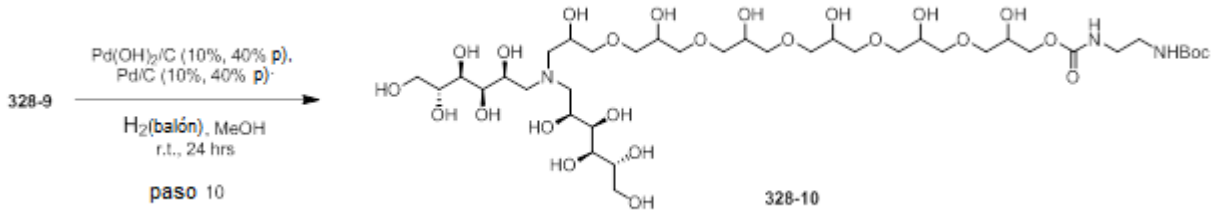
[0639] A una solución de **328-7** (565 mg, 0,523 mmol) en alcohol isopropílico (43 mL) se agregó amoníaco (43 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **328-7** se consumió. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **328-8** (552,6 mg, 0,503 mmol, 96,3%) como un aceite amarillo, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

Paso 9



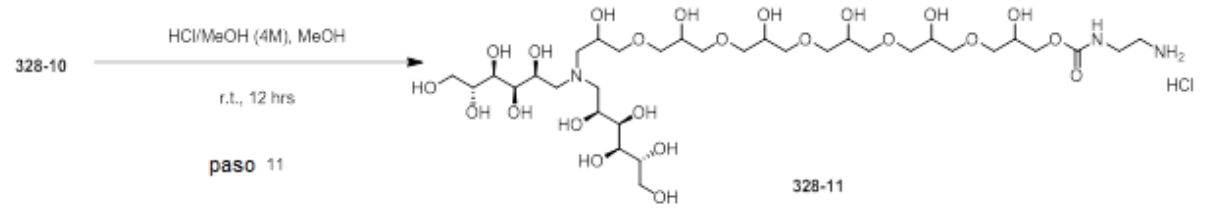
[0640] Una mezcla de **328-8** (552,6 mg, 0,503 mmol), D-glucosa (544,2 mg, 3,021 mmol) y $NaCNBH_3$ (189,8 mg, 3,021 mmol) en MeOH anhidro (12 mL) se agitó a 70°C durante 24 horas hasta que la mayor parte de **328-8** se consumió y se detectó **328-9** por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **328-9** (597 mg, 0,419 mmol, 83,2%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, MeOH-d_4) δ 7,41 – 7,20 (m, 25H), 4,69 – 4,57 (m, 10H), 4,26 – 4,04 (m, 5H), 3,84 – 3,78 (m, 3H), 3,77 – 3,68 (m, 8H), 3,67 – 3,42 (m, 28H), 3,38 – 3,34 (m, 1H), 3,33 – 3,31 (m, 1H), 3,17 – 3,06 (m, 4H), 1,40 (s, 9H).

Paso 10



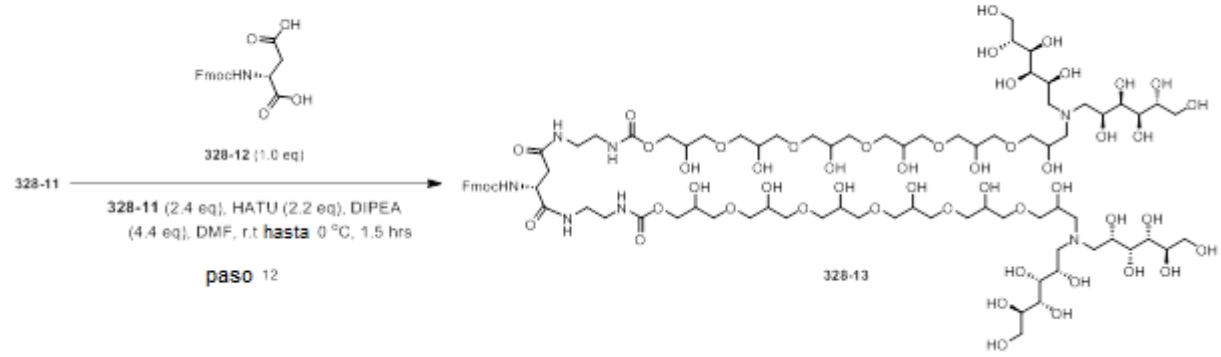
[0641] Una mezcla de **328-9** (376 mg, 0,264 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 150 mg) y Pd/C (10%, 150 mg) en MeOH (30 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **328-9** se convirtió completamente a 328-10. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **328-10** (211,4 mg, 0,217 mmol, 82,1%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 11



[0642] Una solución de **328-10** (211,4 mg, 0,216 mmol) en HCl/MeOH (4M, 3 mL) y MeOH (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas hasta que **328-10** se convirtió completamente a 328-11. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **328-11** (198,0 mg, 0,217 mmol, 100%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

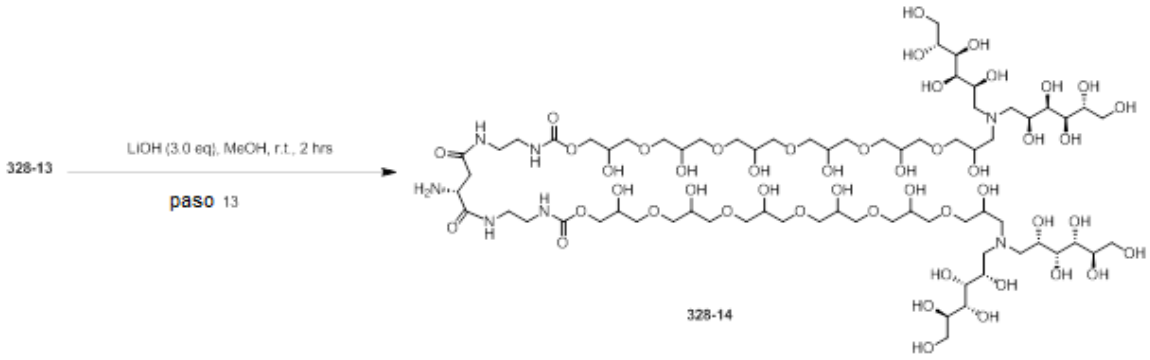
Paso 12



[0643] Una solución de **328-12** (24,8 mg, 0,0698 mmol) y HATU (58,4 mg, 0,153 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se agitó en un baño de hielo. Una solución de 328-11 (150mg, 0,168 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agregó por goteo, seguida por DIPEA (39,7 mg, 0,307 mmol). La mezcla resultante se agitó en un baño

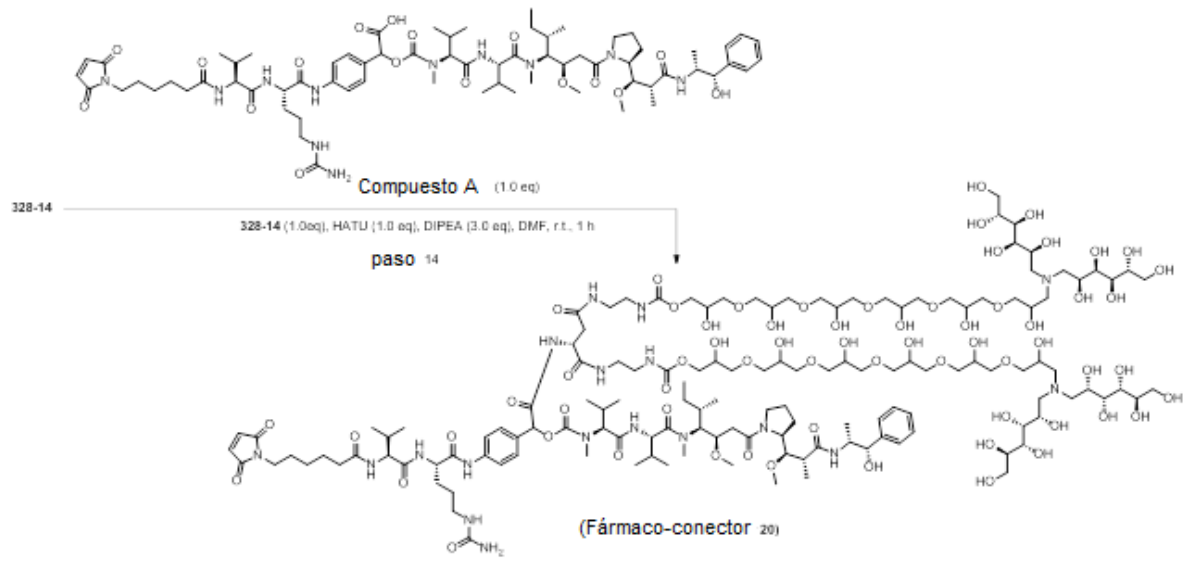
de hielo durante 1 h hasta que la mayor parte de **328-12** se consumió. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 328-13 (97,5 mg, 0,0471 mmol, 67,4%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

Paso 13



[0644] A una solución de **328-13** (97,5 mg, 0,0471 mmol) en MeOH (3 mL) se agregó LiOH•H_2O (5,9mg , 0,141 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que **328-13** se consumió. La solución de la reacción se neutralizó con HCl 1N hasta pH = 7, y se concentró bajo presión reducida para dar un producto crudo, el cual se disolvió en H_2O (10 mL) y se lavó con hexano (5 mL x 3). La fase acuosa se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **328-14** (87,0 mg, 0,047 mmol, 100%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

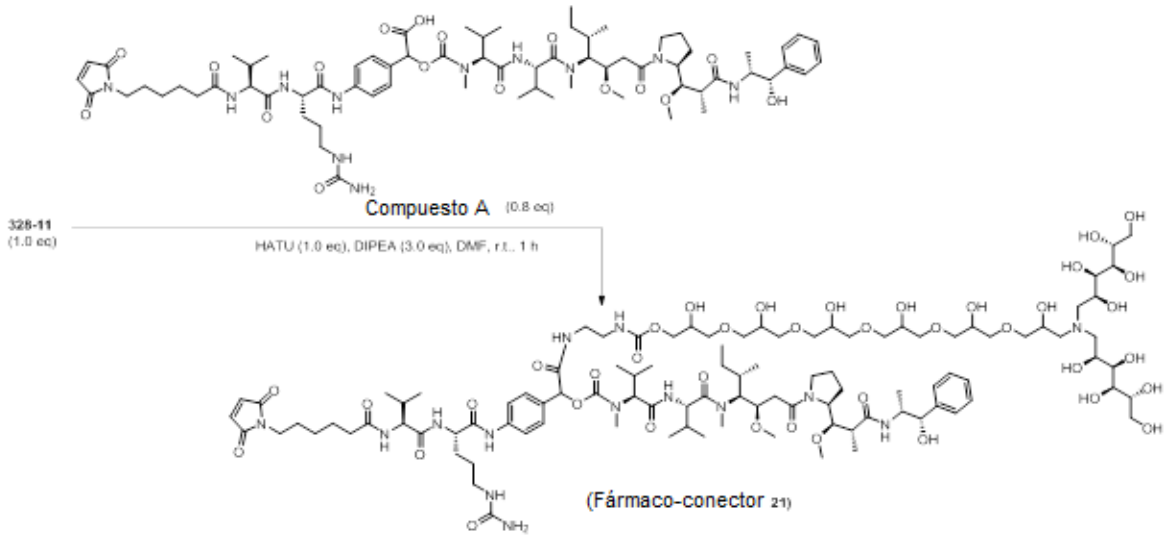
Paso 14



[0645] Una solución de **328-14** (85 mg, 0,0460 mmol), el **Compuesto A** (62 mg, 0,0460 mmol), HATU (17,2 mg, 0,0452 mmol) y DIPEA (17,9 mg, 0,139 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 20** (73,0 mg, 0,0229 mmol, 49,8%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1595,97 $(M/2+H)^+$, m/z = 1064,29 $(M/2+H)^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,04 (s, 1H), 8,59 – 8,02 (m, 4H), 8,00 –

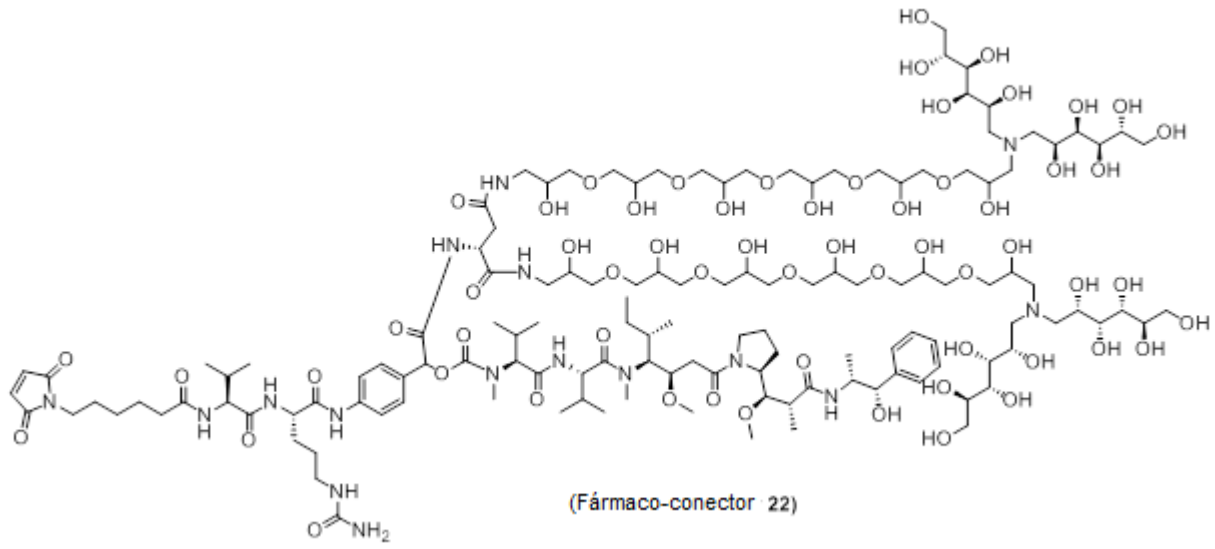
7,72 (m, 2H), 7,70 – 7,46 (m, 3H), 7,45 – 7,09 (m, 8H), 7,00 (s, 2H), 5,99 (s, 1H), 5,91 – 5,66 (m, 2H), 5,44 (s, 5H), 5,07 – 4,29 (m, 16H), 4,25 – 3,87 (m, 12H), 3,86 – 3,47 (m, 31H), 3,30 – 2,74 (m, 27H), 2,44 – 1,84 (m, 10H), 1,83 – 1,63 (m, 4H), 1,59 – 1,27 (m, 10H), 1,24 – 1,10 (m, 3H), 1,08 – 0,64 (m, 30H).

Ejemplo 21: Preparación del Fármaco-Conector 21

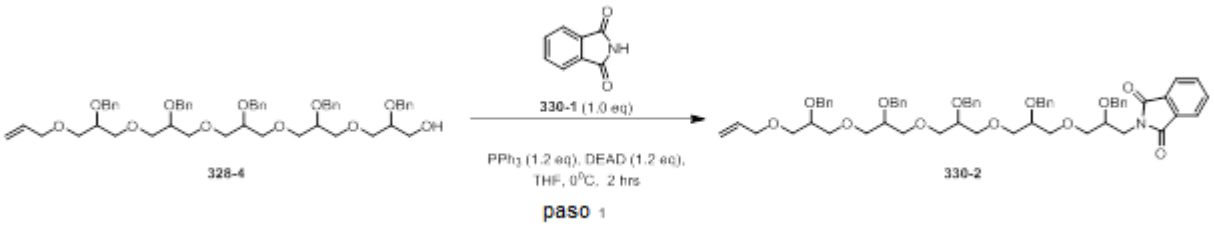


[0646] Una solución de **328-11** (42 mg, 0,0461 mmol), el **Compuesto A** (50 mg, 0,0368 mmol), HATU (17,4 mg, 0,0458 mmol) y DIPEA (17,8 mg, 0,138 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 21** (37,8 mg, 0,0170 mmol, 46,3%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1109,75 $(M/2+H)^+$. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,60 – 7,43 (m, 4H), 7,39 – 7,27 (m, 4H), 7,25 – 7,14 (m, 1H), 6,78 (s, 2H), 6,05 – 5,89 (m, 1H), 4,78 – 4,54 (m, 6H), 4,52 – 3,90 (m, 28H), 3,89 – 3,71 (m, 13H), 3,69 – 3,38 (m, 64H), 3,37 – 2,85 (m, 25H), 2,81 – 2,60 (m, 3H), 2,58 – 2,40 (m, 2H), 2,37 – 2,11 (m, 4H), 2,08 – 1,96 (m, 2H), 1,94 – 1,70 (m, 5H), 1,66 – 1,45 (m, 8H), 1,35 – 1,12 (m, 8H), 1,10 – 0,73 (m, 25H), 0,67 – 0,50 (m, 1H), 0,47 – 0,35 (m, 1H).

Ejemplo 22: Preparación del Fármaco-Conector 22

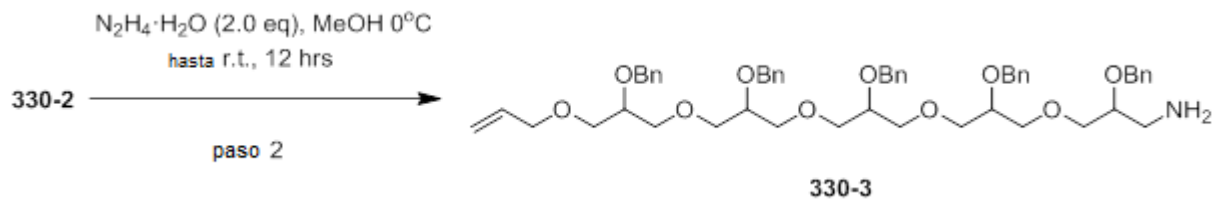


Paso 1



[0647] A una solución de **330-1** (217,6 mg, 1,48 mmol) y PPh_3 (465,5 mg, 1,776 mmol) en THF (8 mL) se agregó una solución de **328-4** (1,3 g, 1,48 mmol) en THF (4 mL) y la mezcla se agitó en un baño de hielo. Una solución de DEAD (309,3 mg, 1,776 mmol) en THF (1 mL) se agregó a la solución precedente y la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas hasta que **328-4** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo con agua (1 mL), y la reacción se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **330-2** (1,307 g, 1,297 mmol, 87,7%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,77 (dd, J = 5,6, 3,2 Hz, 2H), 7,66 (dd, J = 5,6, 3,2 Hz, 2H), 7,34 – 7,20 (m, 20H), 7,19 – 7,15 (m, 2H), 7,12 – 7,04 (m, 3H), 5,95 – 5,81 (m, 1H), 5,29 – 5,22 (m, 1H), 5,15 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 4,69 – 4,63 (m, 9H), 4,51 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,99 – 3,95 (m, 2H), 3,93 – 3,83 (m, 2H), 3,76 – 3,69 (m, 5H), 3,60 – 3,52 (m, 18H).

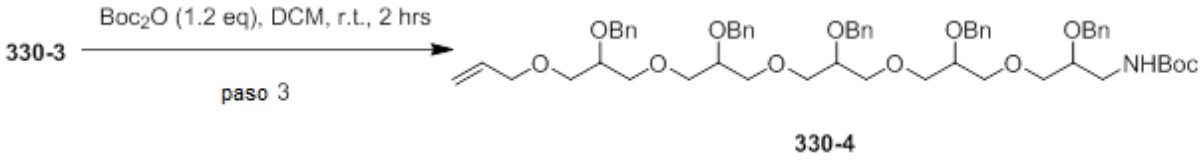
Paso 2



[0648] A una solución de **330-2** (1,472 g, 1,46 mmol) en MeOH (10 mL) se agregó N_2H_4•H_2O (146,3 mg, 2,92 mmol) en un baño de hielo, la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura

ambiente y se agitó durante 10 horas hasta que **330-2** se consumió, según lo indicado por TLC. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se disolvió en acetato de etilo (20 mL) y se filtró. El material filtrado se concentró bajo presión reducida para dar **330-3** (1,23 g, 1,402 mmol, 95,9%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

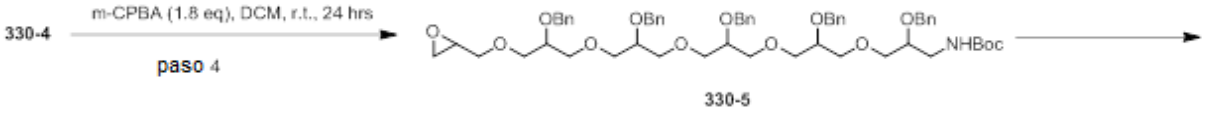
Paso 3



330-4

[0649] A una solución de **330-3** (1,23 g, 1,40 mmol) en DCM (8 mL) se agregó Boc_2O (367 mg. 1,68 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 2 horas hasta que **330-3** se consumió y se detectó **330-4** por LCMS. La reacción se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-40% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **330-4** (1,23 g, 1,26 mmol, 89,8%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

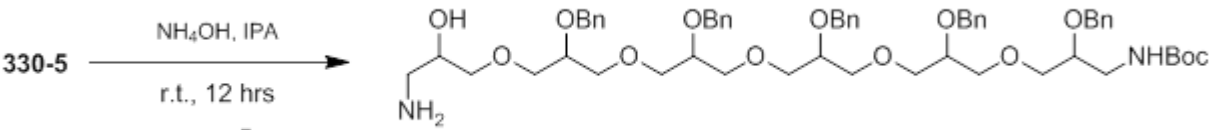
Paso 4



330-5

[0650] A una solución de **330-4** (800 mg, 0,818 mmol) en DCM (5 mL) se agregó una solución de m-CPBA (254 mg, 1,473 mmol) en DCM (5 mL) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 24 horas hasta que **330-4** se consumió, según lo indicado por TLC. La reacción se detuvo agregando $Na_2S_2O_3$ saturado (5 mL) y $NaHCO_3$ saturado (5 mL), y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos antes de diluir con DCM (60 mL). La fase orgánica se lavó en forma secuencial con $Na_2S_2O_3$ saturado (20 mL) y $NaHCO_3$ saturado (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-60% de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **330-5** (689 mg, 0,693 mmol, 84,8%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

Paso 5

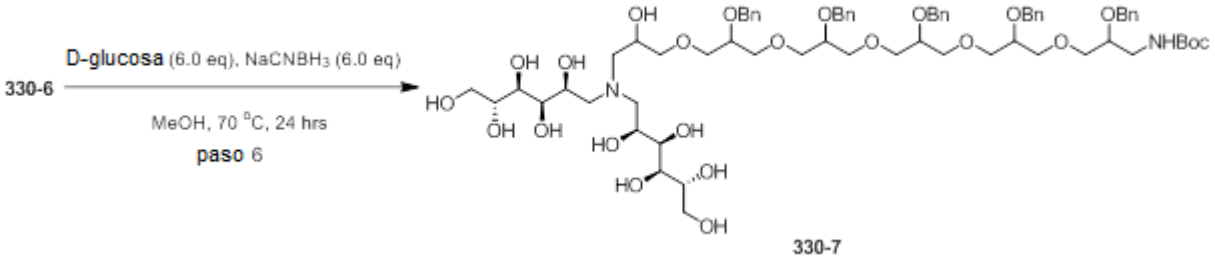


330-6

[0651] A una solución de **330-5** (689 mg, 0,693 mmol) en alcohol isopropílico (56 mL) se agregó amoníaco (43 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **330-5** se consumió. La mezcla de reacción se

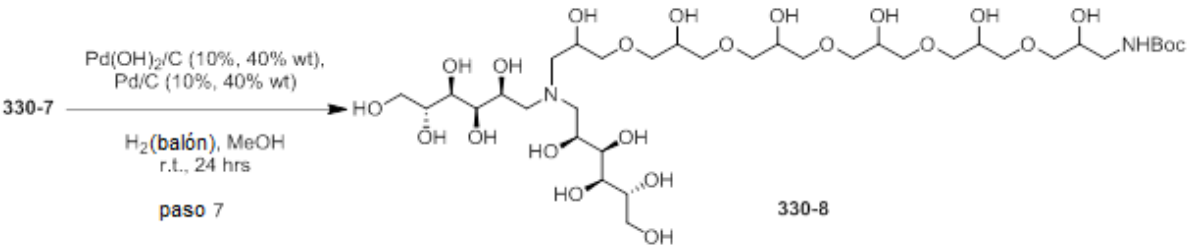
concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-6** (698,7 mg, 0,691 mmol, 99,7%) como un aceite amarillo, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

Paso 6



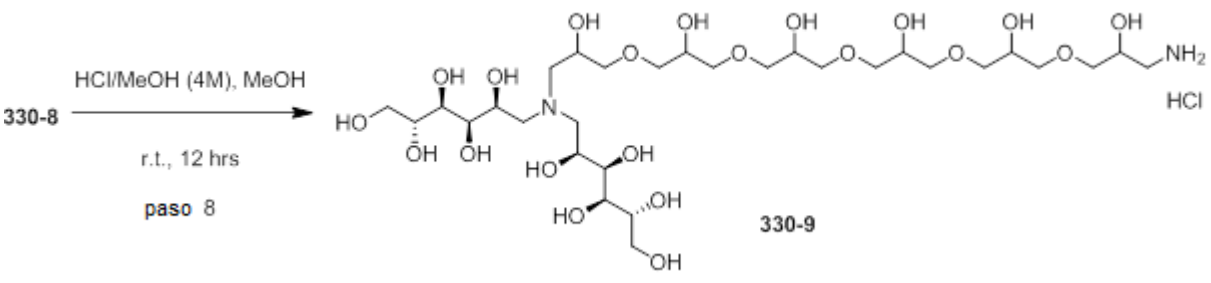
[0652] Una mezcla de **330-6** (983 mg, 0,973 mmol), D-glucosa (1,05 g, 5,836 mmol) y $NaCNBH_3$ (366,7 mg, 5,836 mmol) en MeOH anhidro (15 mL) se agitó a 70°C durante 24 horas hasta que la mayor parte de **330-6** se consumió y **330-7** se detectó por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **330-7** (889 mg, 0,664 mmol, 68,2%) como un aceite incoloro. Pureza = 90%-95%.

Paso 7



[0653] Una mezcla de **330-7** (270 mg, 0,202 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 120 mg) y Pd/C (10%, 120 mg) en MeOH (25 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **330-7** se convirtió completamente a **330-8**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-8** (138,2 mg, 0,156 mmol, 77,0%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

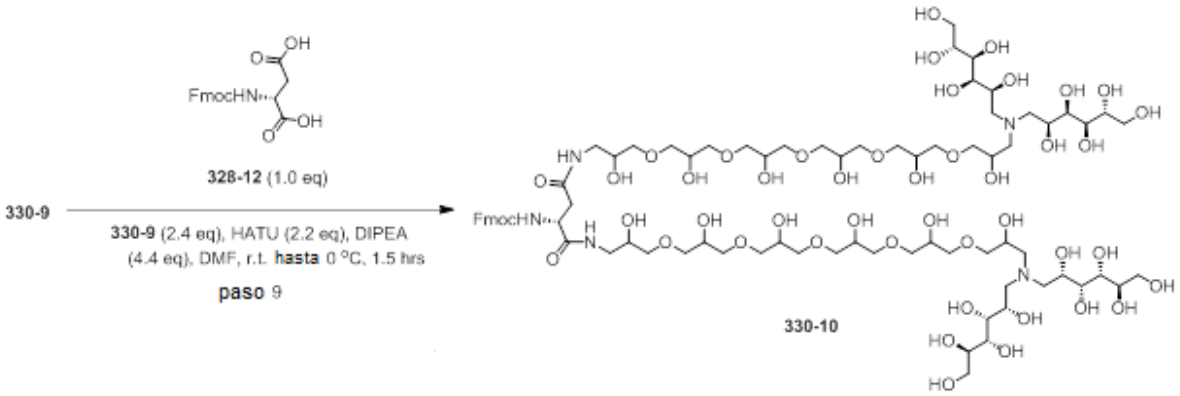
Paso 8



[0654] Una solución de **330-8** (138 mg, 0,155 mmol) en HCl/MeOH (4M, 3 mL) y MeOH (3 mL)

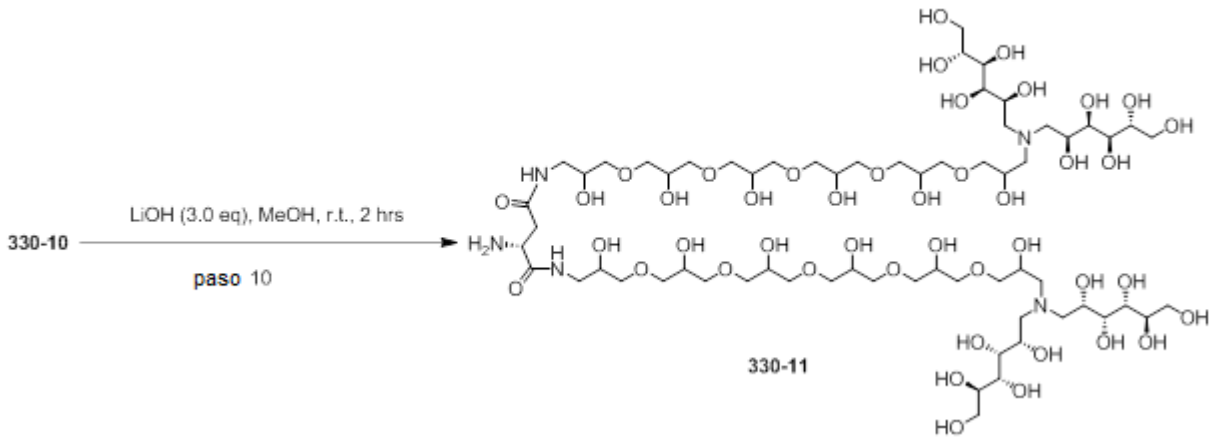
se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas hasta que **330-8** se convirtió completamente a **330-9**. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-9** (128 mg, 0,155 mmol, 100%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 9



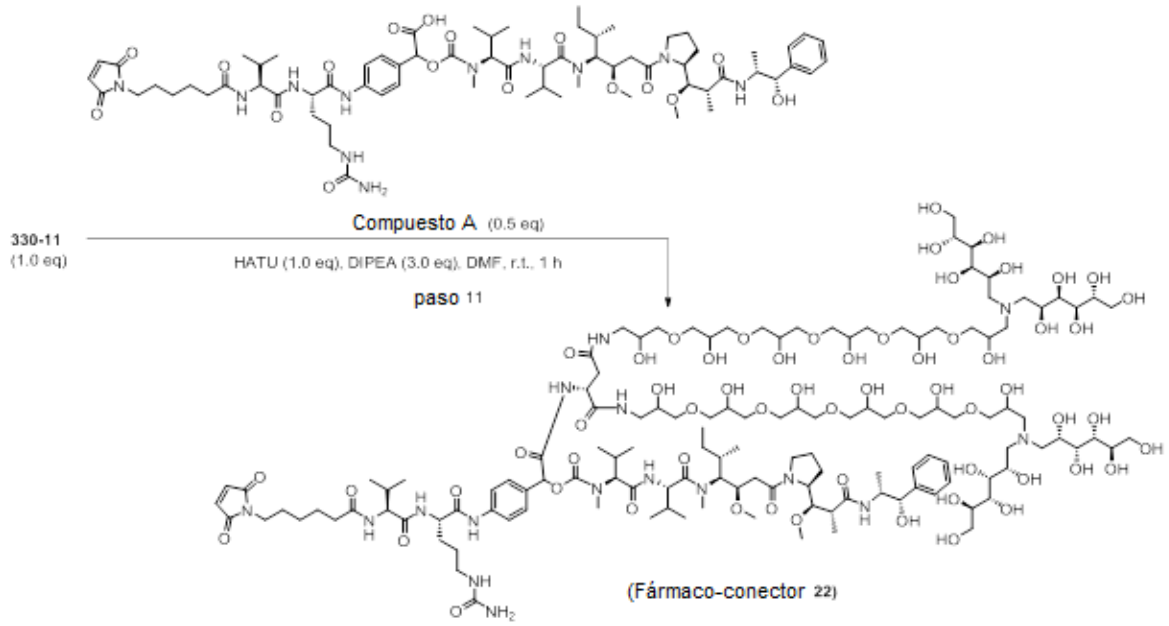
[0655] Una solución de **328-12** (16,5 mg, 0,0465 mmol) y HATU (38,9 mg, 0,102 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se agitó en un baño de hielo. Una solución de **330-9** (92 mg, 0,112 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agregó por goteo, seguida por DIPEA (26,5 mg, 0,205 mmol). La mezcla resultante se agitó en un baño de hielo durante 1 h hasta que la mayor parte de **328-12** se consumió. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **330-10** (14 mg, 0,00738 mmol, 15,9%) como un aceite incoloro.

Paso 10



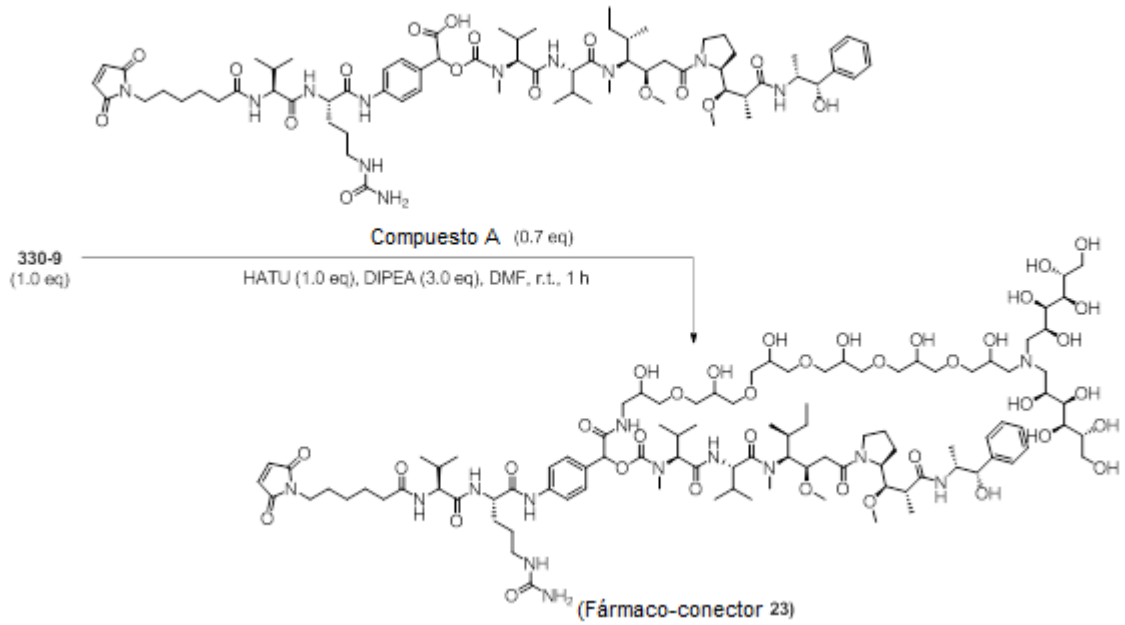
[0656] A una solución de **330-10** (14 mg, 0,00738 mmol) en MeOH (2 mL) se agregó LiOH•H_2O (2 mg, 0,0442 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que **330-10** se consumió. La solución de la reacción se neutralizó con HCl 1N hasta pH = 7, y se concentró bajo presión reducida para dar un producto crudo, el cual se disolvió en H_2O (5 mL) y se lavó con hexano (2 mL x 3). La fase acuosa se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **330-11** (12,4 mg, 0,0074 mmol, 100%) como un sólido blanco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 11



[0657] Una solución de **330-11** (12 mg, 0,00716 mmol), el **Compuesto A** (5,0 mg, 0,00368 mmol), HATU (2,7 mg, 0,0071 mmol) y DIPEA (2,8 mg, 0,0217 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 22** (5,0 mg, 0,00166 mmol, 45,1%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1509,00 $(M/2+H)^+$, m/z = 1006,6 $(M/3+H)^+$.

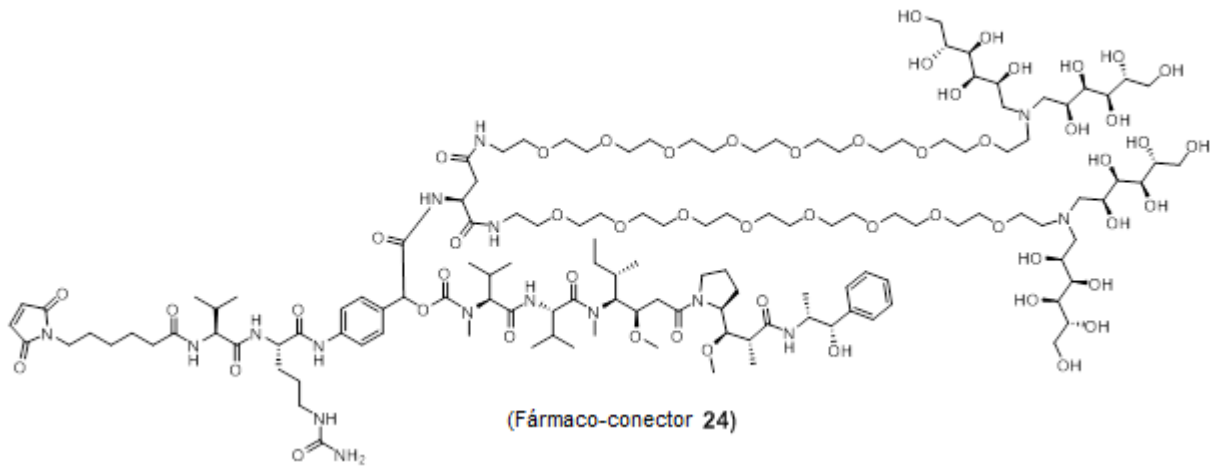
Ejemplo 23: Preparación del Fármaco-Conector 23



[0658] Una solución de **330-9** (46 mg, 0,0558 mmol), el **Compuesto A** (53 mg, 0,0390 mmol), HATU (21,2 mg, 0,0558 mmol) y DIPEA (21,6 mg, 0,167 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector**

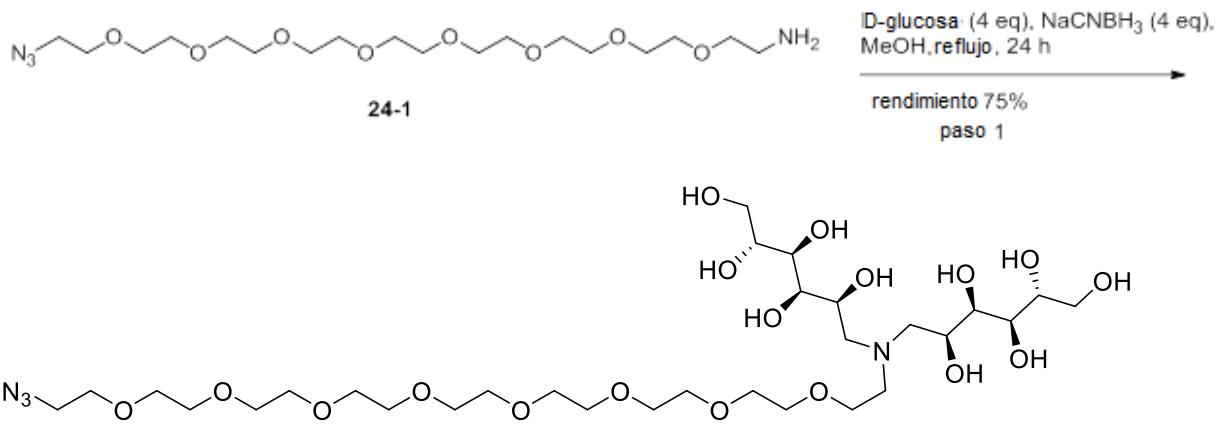
23 (28 mg, 0,0131 mmol. 33,7%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1066,11 $(M/2+H)^+$. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,50 – 7,42 (m, 4H), 7,40 – 7,26 (m, 4H), 7,25 – 7,13 (m, 1H), 6,77 (s, 2H), 6,04 – 5,87 (m, 1H), 4,72 – 4,55 (m, 2H), 4,52 – 4,40 (m, 2H), 4,37 – 4,17 (m, 5H), 4,13 – 3,96 (m, 5H), 3,94 – 3,85 (m, 2H), 3,84 – 3,72 (m, 6H), 3,69 – 3,21 (m, 43H), 3,18 – 2,90 (m, 8H), 2,71 (s, 1H), 2,61 – 2,39 (m, 2H), 2,35 – 2,11 (m, 4H), 2,04 (d, *J* = 9,8 Hz, 2H), 1,93 – 1,71 (m, 5H), 1,67 – 1,44 (m, 8H), 1,34 – 1,26 (m, 3H), 1,25 – 1,11 (m, 5H), 1,06 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 0,99 – 0,72 (m, 22H), 0,62 – 0,52 (m, 1H), 0,47 – 0,33 (m, 1H).

Ejemplo 24: Preparación del Fármaco-Conector 24



(Fármaco-conector **24**)

Paso 1

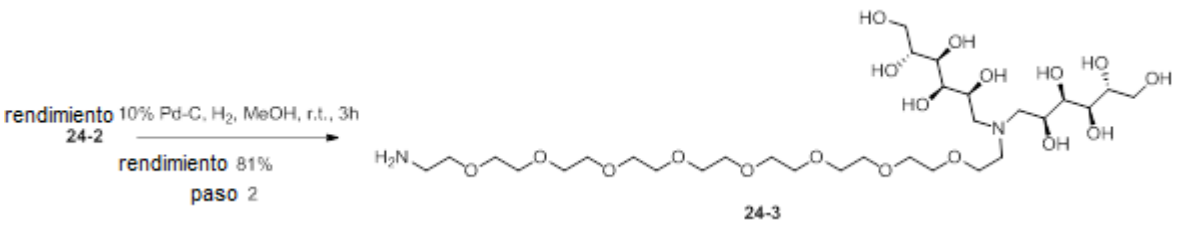


24-1

24-2

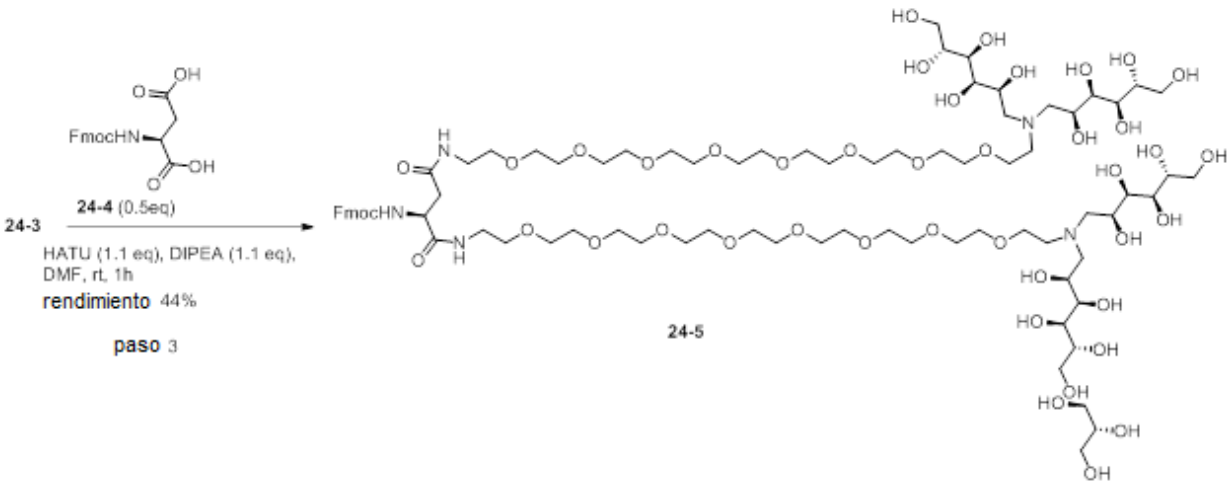
[0659] A la solución de **24-1** (2,5 g, 5,701 mmol) en MeOH (20 mL) se agregó D-Glucosa (4,11 g, 22,804 mmol) y $NaBH_3CN$ (1,385 mL, 22,804 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 24 h hasta completarse la reacción. Luego la solución resultante se concentró hasta secar y el residuo se purificó mediante cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-45% de metanol en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto **24-2** como un aceite amarillo. ESI m/z: 767,5$(M+H)^+$.

Paso 2



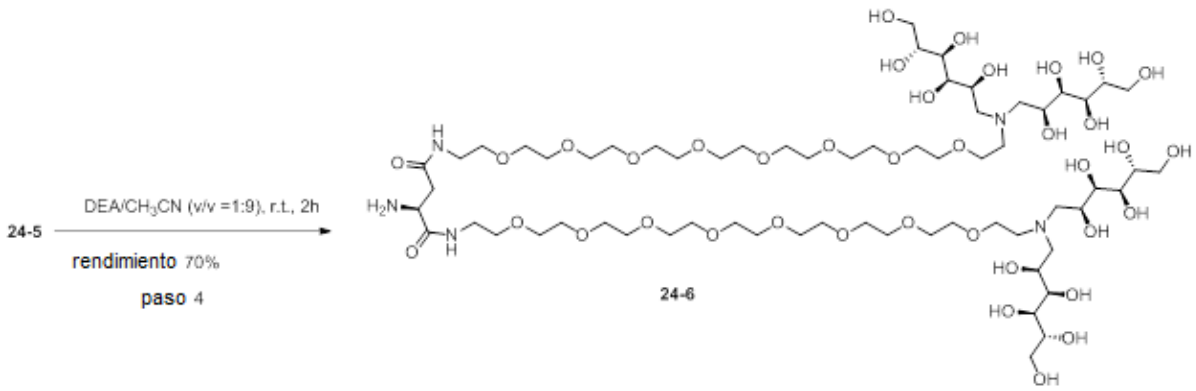
[0660] A la solución de **24-2** (3,3 g, 4,303 mmol) en MeOH (20 mL) se agregó Pd/C (10% p, 330 mg) bajo nitrógeno y se equipó con balón de H_2. El sistema de reacción se desgasificó y se llenó con hidrógeno tres veces y luego se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de hidrógeno durante 3 h hasta completarse la reacción. La mezcla resultante se filtró para eliminar el catalizador sólido y el material filtrado se concentró, luego se purificó por cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-25% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto **24-3** (2,6 g, 3,510 mmol, 81,50%) como un aceite incoloro. ESI m/z: 371,3 (M/2+H)+, 741,4 $(M+H)^+$.

Paso 3



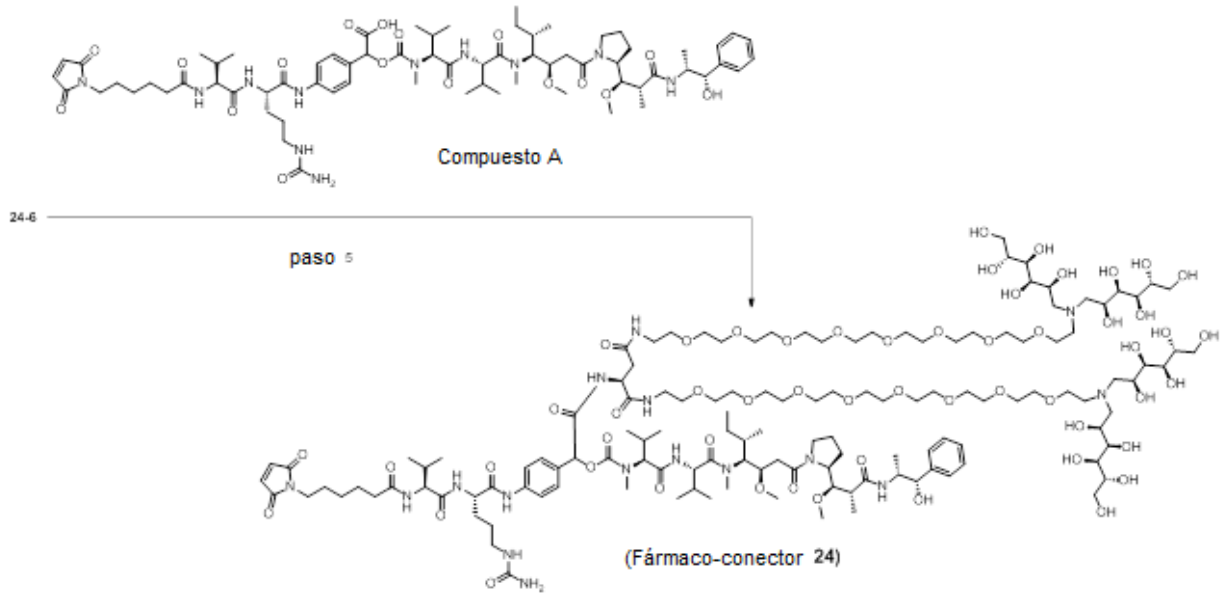
[0661] A una solución de **24-4** (0,62 g, 1,755 mmol) en DMF (5 mL) se agregó HATU (1,47 g, 3,860 mmol) seguido por DIPEA (0,50 g, 3,860 mmol). Luego de agitar a temperatura ambiente durante 15 min, la solución se agregó por goteo sobre la solución de **24-3** (2,6 g, 3,510 mmol) en DMF (5 mL). Después de la adición, la solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h adicional hasta completarse la reacción. La reacción completa luego se purificó directamente por cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-40% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar el producto **24-5** (1,4 g, 0,777 mmol, 44,30%) como un aceite incoloro. ESI m/z: 601,0$(M/3+H)^+$, 901,0$(M/2+H)^+$.

Paso 4



[0662] A la solución de **24-5** (1,4 g, 0,777 mmol) en MeCN (6 mL) se agregó dietilamina (0,7 mL, 8,930 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h para completar la desprotección. Luego la solución resultante se concentró bajo presión reducida para eliminar la mayor parte de la dietilamina, y el residuo se purificó mediante cromatografía en fase reversa (columna C8, eluyendo con 0-20% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar las fracciones deseadas, que se secaron por congelamiento para dar el producto **24-6** (0,86 g, 0,545 mmol, 69,92%) como un aceite pegajoso incoloro. ESI m/z: 526,9 $(M/3+H)^+$, 789,9 $(M/2+H)^+$. 1HNMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 8,36 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 8,24 (t, J =5,6 Hz, 1H), 5,88-4,41 (m, 15H), 3,99-3,79 (m, 4H), 3,61-3,56 (m, 12H), 3,52-3,49 (m, 60H), 3,49-3,40 (m, 12H), 3,27-3,19 (m, 6H), 3,04-2,86 (m, 16H), 2,65-2,06 (m, 2H), 1,15 (t, J = 7,2 Hz, 2H) ppm.

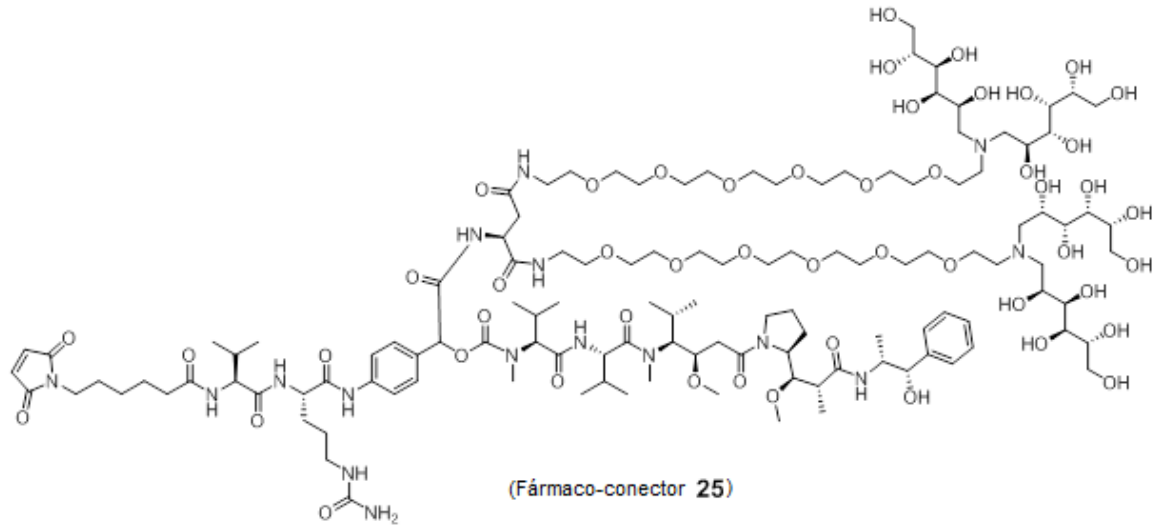
Paso 5



[0663] Una solución de **24-6** (100 mg, 0,063 mmol), el **Compuesto A** (86 mg, 0,063 mmol) y HATU (24 mg, 0,063 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (25 mg, 0,193 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 24** (40 mg, 0,014 mmol, 21,73%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1461,23$(M/2+H)^+$, ^{1}H

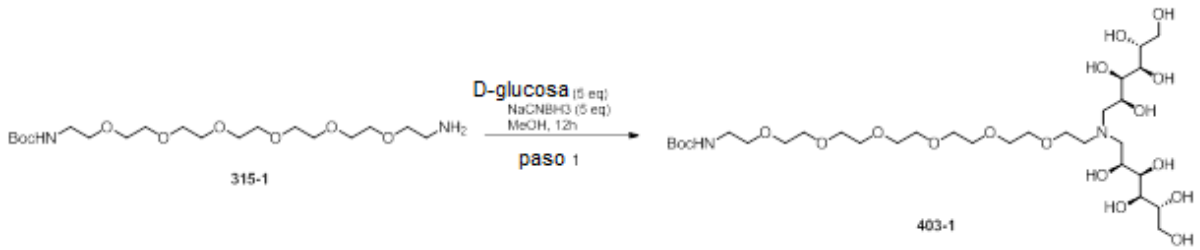
NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,54-7,48 (m, 2H), 7,45-7,37 (m, 2H), 7,37-7,26 (m, 5H), 6,73 (s, 2H), 4,40-4,38 (m, 2H), 4,19-4,15 (m, 6H), 3,85-3,83 (m, 5H), 3,78-3,74 (m, 10H), 3,71-3,66 (m, 13H), 3,63-3,61 (m, 49H), 3,58-3,56 (m, 17H), 3,49-3,43 (m, 14H), 3,39-3,35 (m, 4H), 3,30-3,29 (d, 3H), 3,24-3,23 (d, 4H), 3,06-3,00 (m, 4H), 2,77-2,64 (m, 2H), 2,22-2,21 (m, 2H), 1,99-1,97 (m, 2H), 1,75 (s, 5H), 1,53-1,45 (m, 10H), 1,24-1,08 (m, 9H), 1,02-1,01 (m, 2H), 0,92-0,75 (m, 28H) ppm.

Ejemplo 25: Preparación del Fármaco-Conector 25



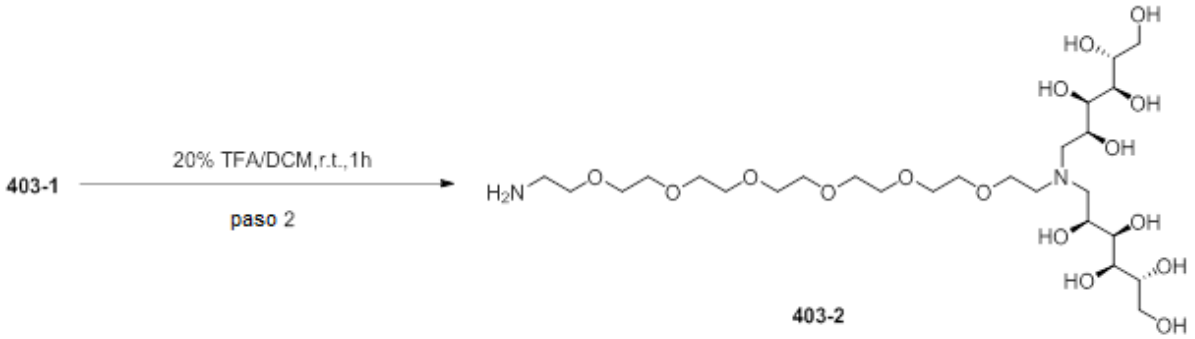
(Fármaco-conector **25**)

Paso 1



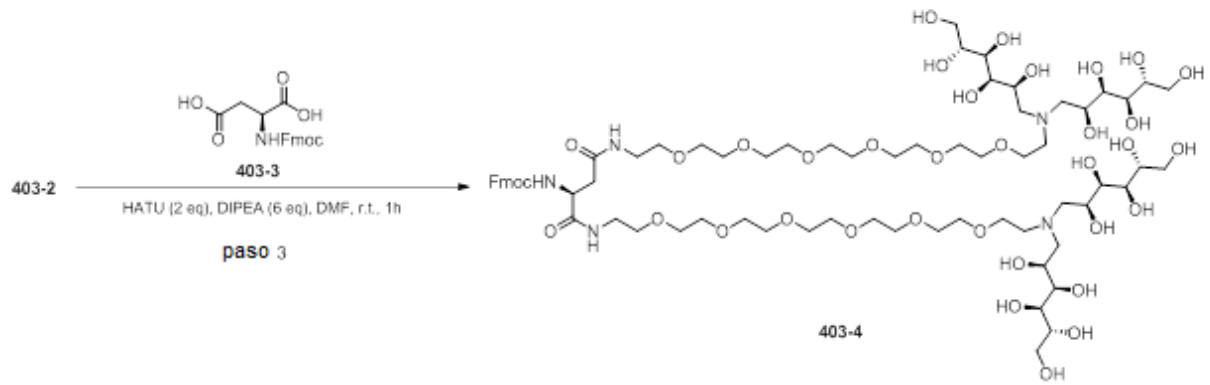
[0664] Una solución de **315-1** (1,0 g, 2,355 mmol) y D-Glucosa (2,1 g, 11,656 mmol) en metanol anhidro (40 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (740 mg, 11,776 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 12 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **403-1** (730 mg, 0,970 mmol, 41,17%) como un sólido blanco.

Paso 2



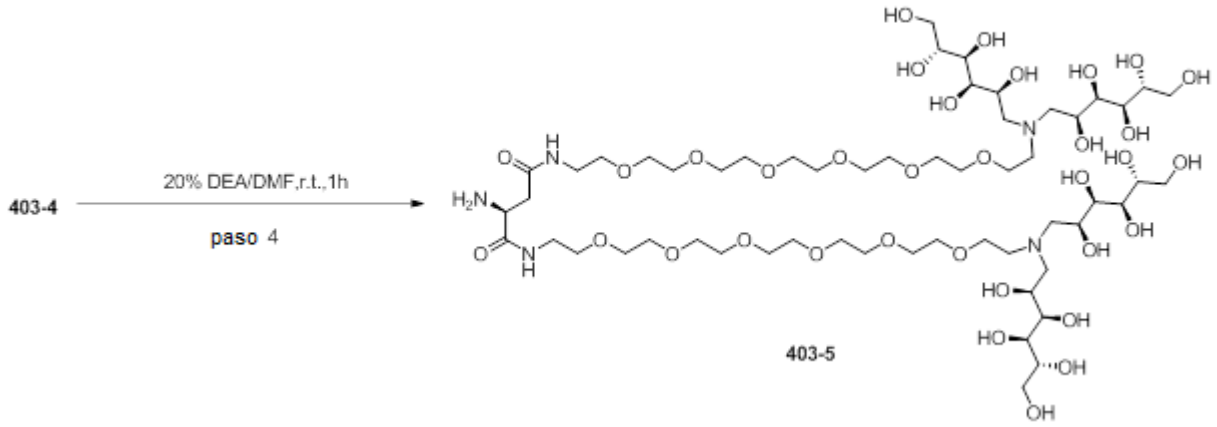
[0665] Una solución de **403-1** (730 mg, 0,970 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **403-2** (610 mg, 0,935 mmol, 96,39%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 3



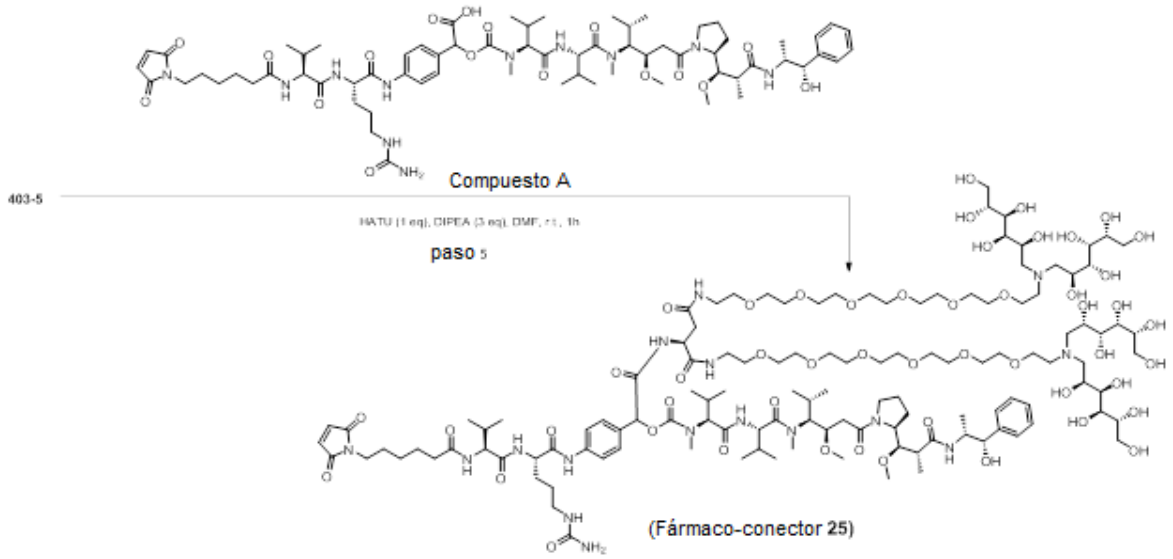
[0666] Una solución de **403-2** (610 mg, 0,935 mmol), **403-3** (166 mg, 0,467 mmol) y HATU (355 mg, 0,934 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (362 mg, 2,801 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **403-4** (410 mg, 0,252 mmol, 54,03%) como un sólido blanco.

Paso 4



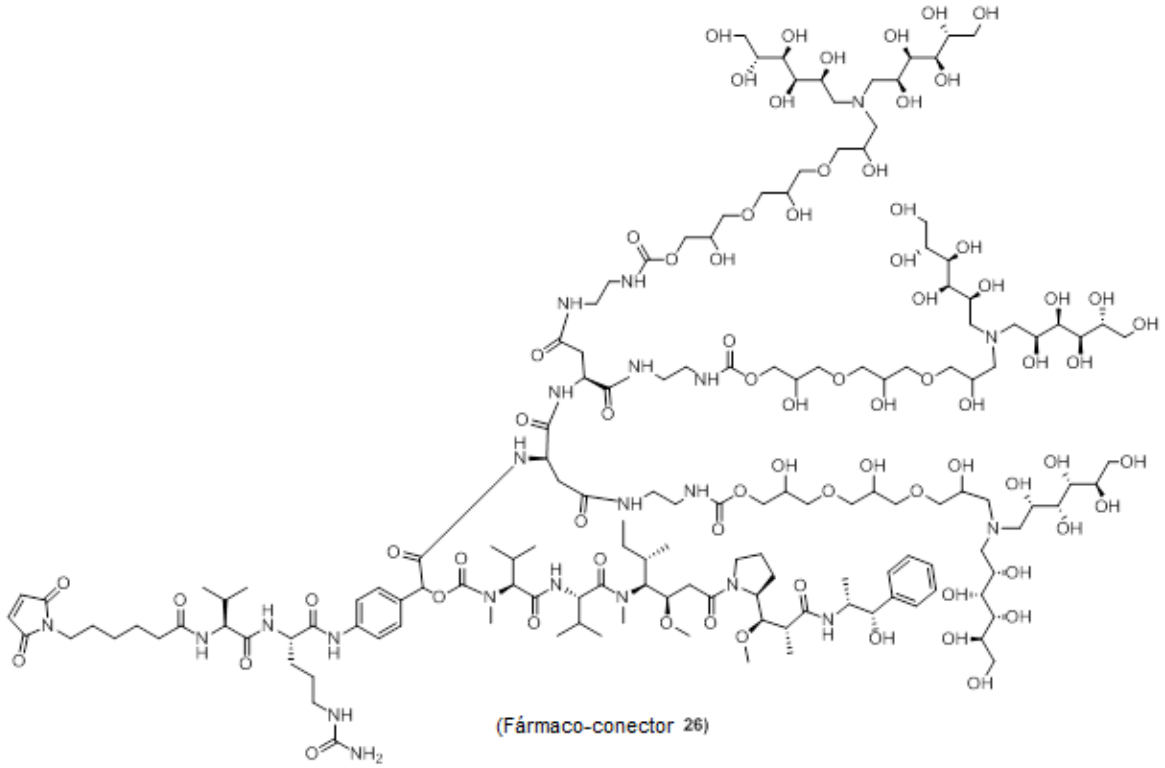
[0667] Una solución de **403-4** (200 mg, 0,123 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **403-5** (167 mg, 0,119 mmol, 96,80%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso.

Paso 5



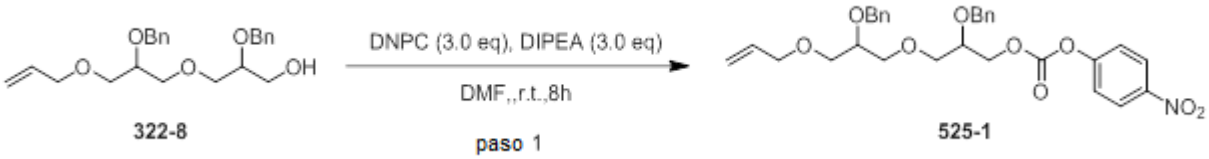
[0668] Una solución de **403-5** (41 mg, 0,029 mmol), el **Compuesto A** (40 mg, 0,029 mmol) y HATU (11 mg, 0,029 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (11 mg, 0,085 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 25** (18 mg, 0,007 mmol, 22,61%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1373,31$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 26: Preparación del Fármaco-Conector 26



(Fármaco-conector 26)

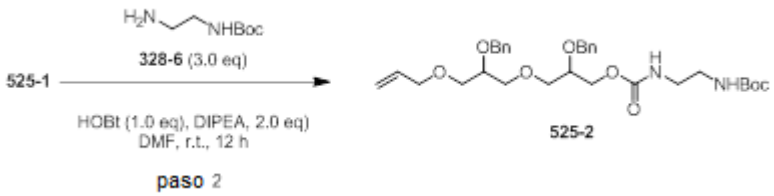
Paso 1



322-8 paso 1 525-1

[0669] A una solución de **322-8** (600 mg, 1,554 mmol) en DMF (12 mL) se agregó DIPEA (602,4 mg, 4,661 mmol), seguido por carbonato de 4,4'-dinitrodifenilo (1,42 g, 4,661 mmol), luego la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas hasta que **322-8** se consumió, según la detección por LCMS. La solución de la reacción se usó directamente en el siguiente paso sin tratamiento posterior.

Paso 2

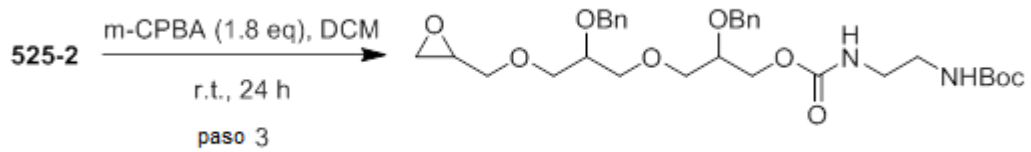


paso 2 525-2

[0670] A la mezcla de reacción precedente se agregó HOBt (210 mg, 1,554 mmol), DIPEA (401,7 mg, 3,108 mmol) y **328-6** (746,5 mg, 4,662 mmol) en forma sucesiva, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas hasta que **525-1** se consumió, según la detección por LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (180 mL) y se lavó con $NaHCO_3$ saturado (acuoso, 45 mL x 3), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se

concentró hasta secar bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-80% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **525-2** (893 mg, 1,56 mmol, 100,4% al cabo de 2 pasos) como un aceite amarillo pálido.

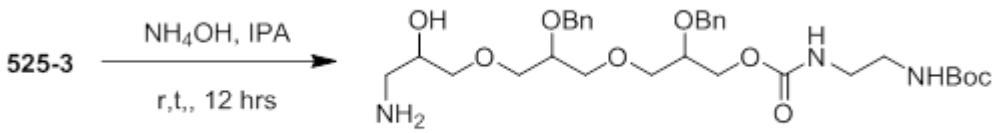
Paso 3



525-3

[0671] A una solución de **525-2** (890 mg, 1,555 mmol) en DCM (10 mL) se agregó una solución de m-CPBA (483 mg, 2,80 mmol) en DCM (10 mL) por goteo a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 24 horas hasta que **525-2** se consumió, y la reacción se detuvo con $Na_2S_2O_3$ (acuoso, 10 mL) y $NaHCO_3$ (acuoso, 10 mL) saturados. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, y luego se diluyó con DCM (50 mL). La fase orgánica se lavó con una solución mixta (20 mL x 3) de $Na_2S_2O_3$ y $NaHCO_3$ saturada (acuosa, 1:1, V/V), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (sílice, 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo) dando **525-3** (790 mg, 1,343 mmol, 86,4%) como un aceite amarillo pálido. Pureza = 90%-95%.

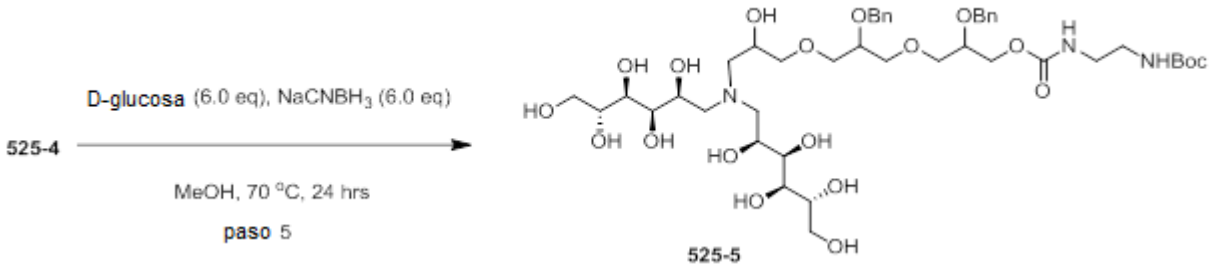
Paso 4



525-4

[0672] A una solución de **525-3** (790 mg, 1,343 mmol) en alcohol isopropílico (110 mL) se agregó amoníaco (110 mL) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 12 horas hasta que **525-3** se consumió. La mezcla de reacción se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **525-4** (801,2 mg, 1,323 mmol, 98,6%) como un aceite amarillo, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Pureza = 90%-95%.

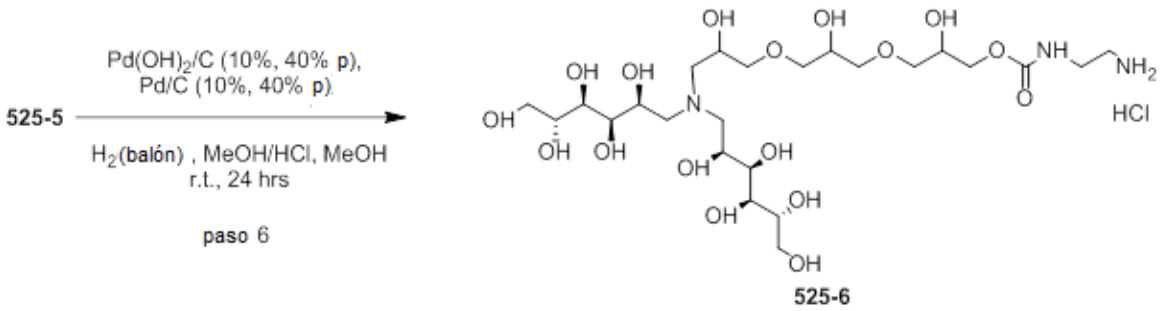
Paso 5



525-5

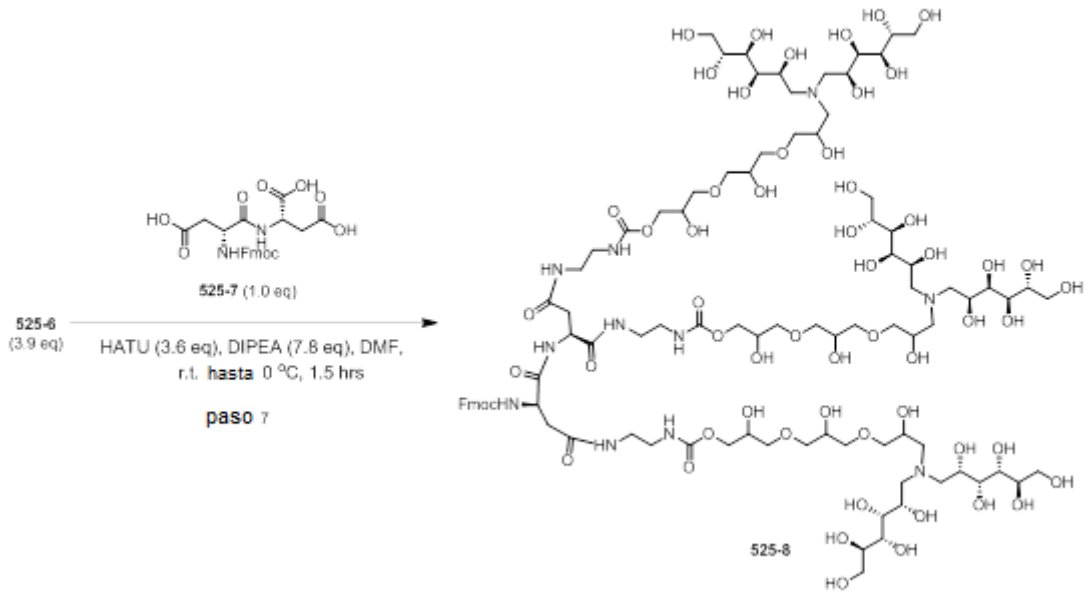
[0673] Una mezcla de **525-4** (801,2 mg, 1,324 mmol), D-glucosa (1,43 g, 7,937 mmol) y $NaCNBH_3$ (499,2 mg, 7,94 mmol) en MeOH anhidro (21 mL) se agitó a 70 °C durante 24 horas hasta que la mayor parte de **525-4** se consumió y **525-5** se detectó por LCMS. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **525-5** (1,2 g, 1,29 mmol, 97,1%) como un aceite incoloro. Pureza = 85%-90%.

Paso 6



[0674] Una mezcla de **525-5** (1,2 g, 1,286 mmol), $Pd(OH)_2/C$ (10%, 250 mg) y Pd/C (10%, 250 mg) en HCl/MeOH (4M, 25 mL), MeOH (25 mL) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (balón) durante 24 h a temperatura ambiente hasta que **525-5** se convirtió completamente a **525-6**. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de celite, y el material filtrado se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **525-6** (886 mg, 1,285 mmol, 100,0%) como un sólido blanco opaco, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

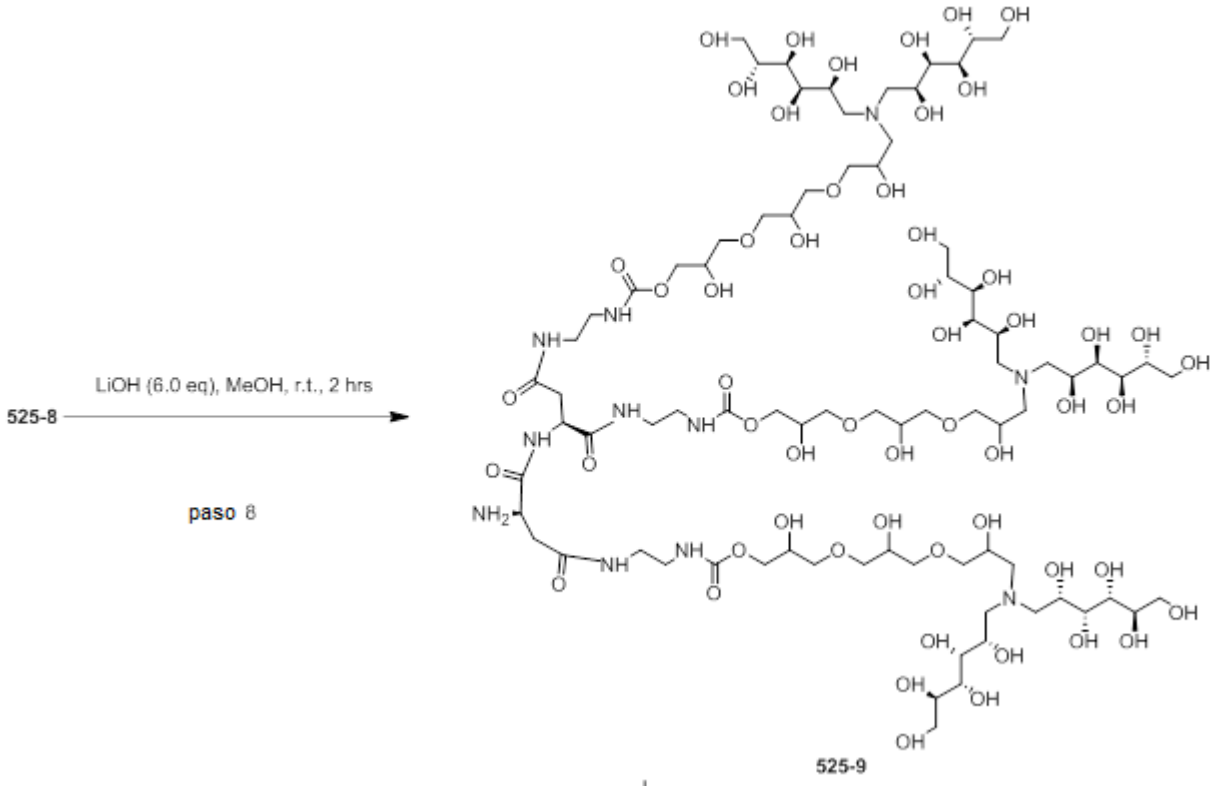
Paso 7



[0675] Una solución de **525-7** (104,9 mg, 0,223 mmol) y HATU (305,4 mg, 0,803 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se agitó en un baño de hielo. Una solución de **525-6** (600 mg, 0,870 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agregó

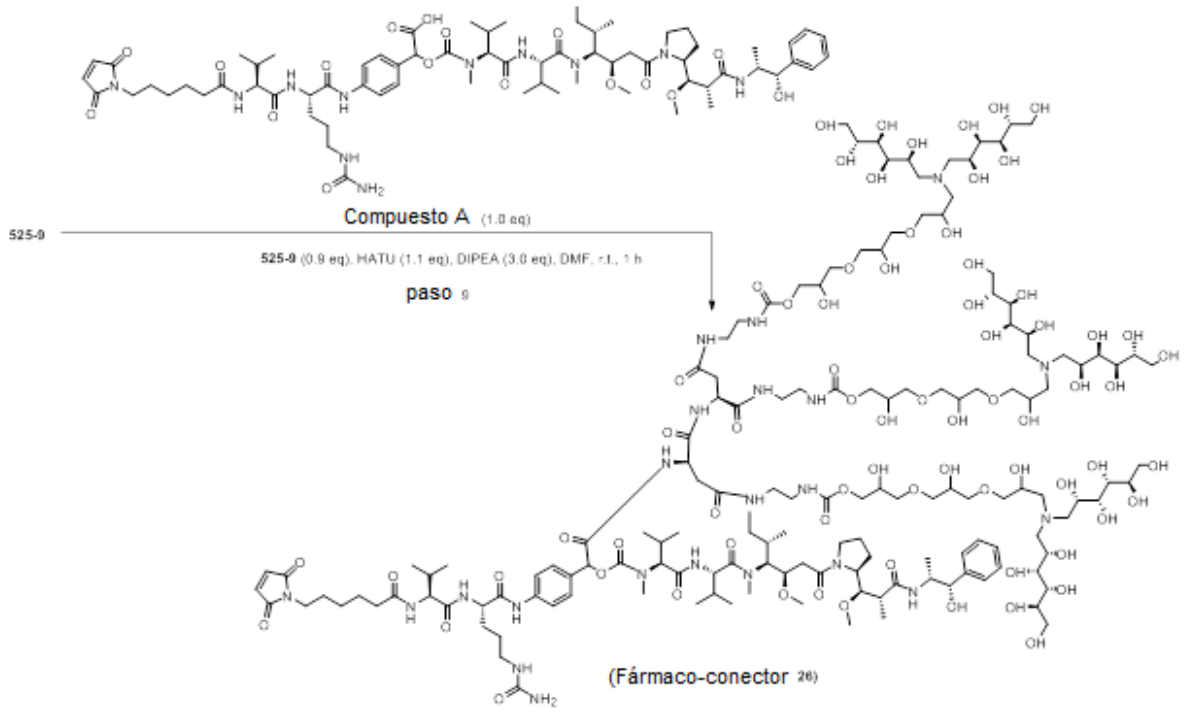
por goteo, seguida por DIPEA (225 mg, 1,74 mmol). La mezcla resultante se agitó en un baño de hielo durante 1 h hasta que la mayor parte de **526-7** se consumió. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **525-8** (269,8 mg, 0,113 mmol, 50,9%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,87 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,64 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,47 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,42 – 7,32 (m, 2H), 4,65 – 4,57 (m, 1H), 4,53 – 4,36 (m, 3H), 4,33 – 4,13 (m, 10H), 4,08 – 3,87 (m, 12H), 3,84 – 3,69 (m, 18H), 3,67 – 3,35 (m, 53H), 3,30 – 3,07 (m, 12H), 2,77 – 2,32 (m, 4H).

Paso 8



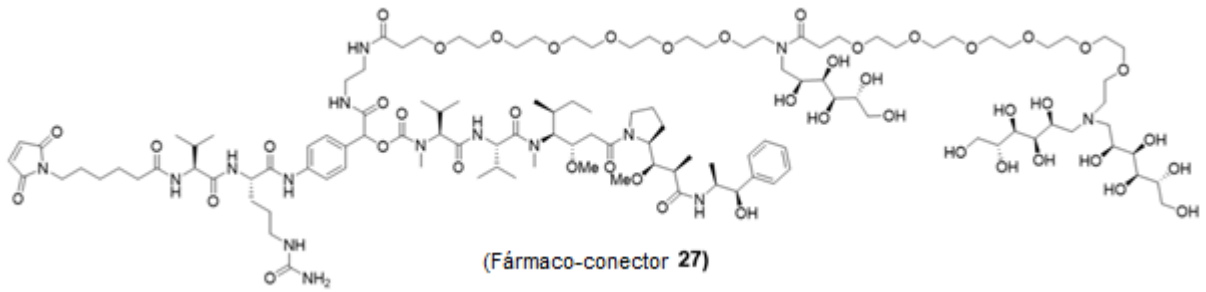
[0676] A una solución de **525-8** (100 mg, 0,0421 mmol) en MeOH (3 mL) y H_2O (1 mL) se agregó LiOH•H_2O (10,6 mg, 0,252 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que **525-8** se consumió. La solución de la reacción se neutralizó con HCl 1N hasta pH = 7, y se concentró bajo presión reducida para dar un producto crudo, el cual se disolvió en H_2O (15 mL) y se lavó con hexano (10 mL x 3). La fase acuosa se concentró hasta secar bajo presión reducida para dar **525-9** (74,6 mg, 0,0346 mmol, 82,3%) como un aceite incoloro, que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 9

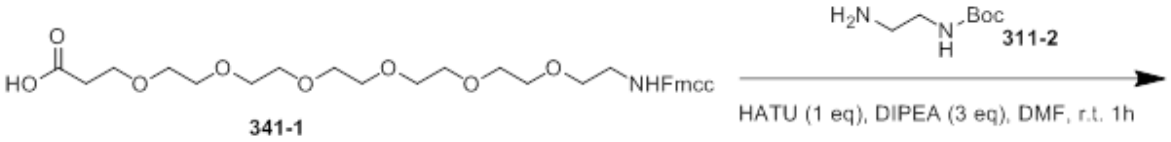


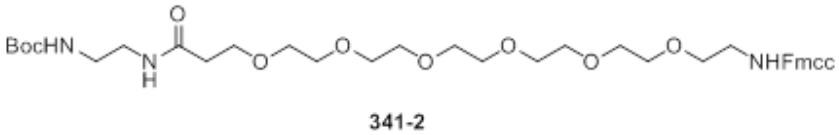
[0677] Una solución de **525-9** (70,0 mg, 0,0325 mmol), el **Compuesto A**(49 mg, 0,0360 mmol), HATU (15,1 mg, 0,0397 mmol) y DIPEA (14,0 mg, 0,108 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que el **Compuesto A** se consumió. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 26** (23,5 mg, 0,00672 mmol, 20,7%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1749,66 $(M/2+H)^+$, m/z = 1166,72 $(M/2+H)^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,61 – 7,40 (m, 4H), 7,39 – 7,26 (m, 4H), 7,25 – 7,13 (m, 1H), 6,77 (s, 2H), 5,98 (t, J = 13,6 Hz, 1H), 4,75 – 4,52 (m, 7H), 4,49 – 4,38 (m, 2H), 4,37 – 3,90 (m, 25H), 3,87 – 3,38 (m, 73H), 3,37 – 2,87 (m, 28H), 2,87 – 2,08 (m, 12H), 2,07 – 1,95 (m, 2H), 1,93 – 1,65 (m, 5H), 1,68 – 1,41 (m, 8H), 1,37 – 1,11 (m, 8H), 1,09 – 1,02 (m, 2H), 1,00 – 0,75 (m, 20H), 0,74 – 0,67 (m, 1H), 0,57 – 0,48 (m, 1H), 0,33 (d, J = 6,4 Hz, 1H).

Ejemplo 27: Preparación del Fármaco-Conector 27



Paso 1

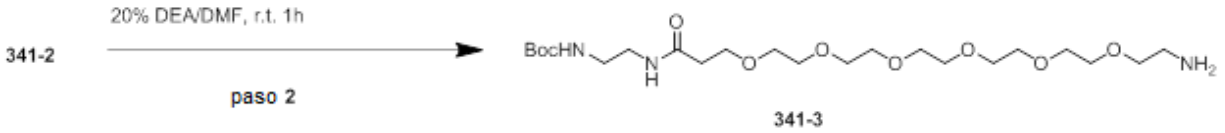




341-2

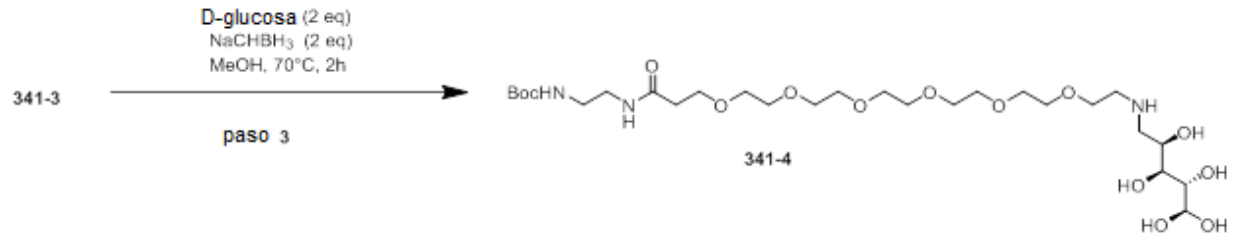
[0678] Una solución de **341-1** (1 g, 1,737 mmol), **311-2** (278 mg, 1,735 mmol) y HATU (661 mg, 1,738 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (674 mg, 5,215mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **341-2** (950 mg, 1,323 mmol, 76,17%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 2



[0679] Una solución de **341-2** (950 mg, 1,323 mmol) y DEA (2 mL) en DMF anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **341-3** (610 mg, 1,231 mmol, 93,05%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

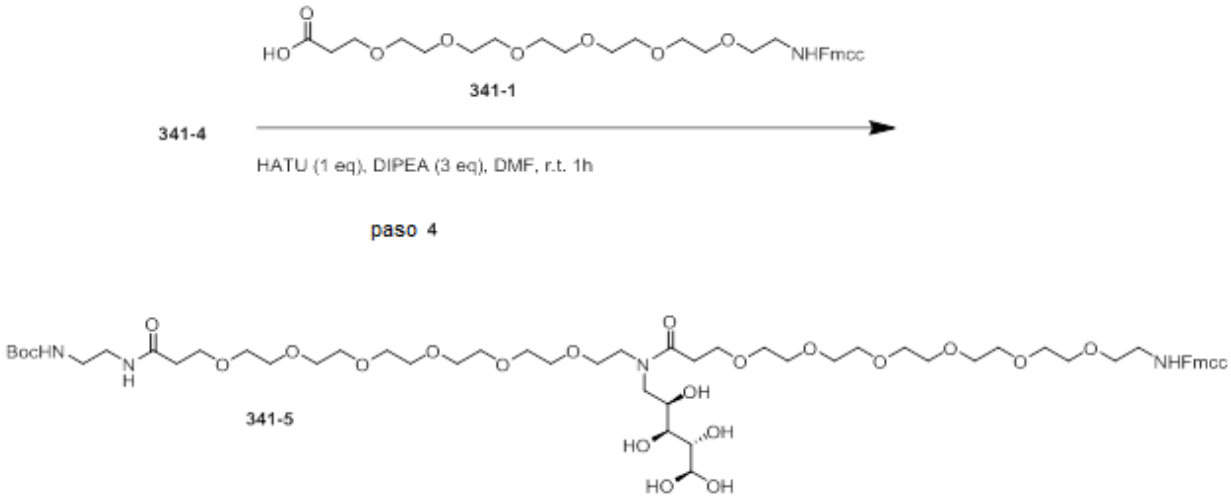
Paso 3



[0680] Una solución de **341-3** (610 mg, 1,231 mmol) y D-Glucosa (444 mg, 2,464 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (155 mg, 2,467 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 2 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **341-4** (340 mg, 0,515 mmol, 41,84%) como un sólido blanco.

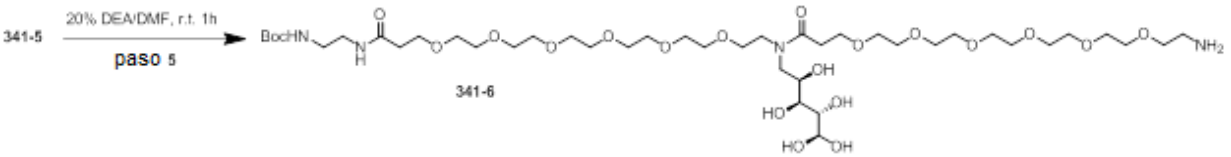
Pureza = 90%-95%.

Paso 4



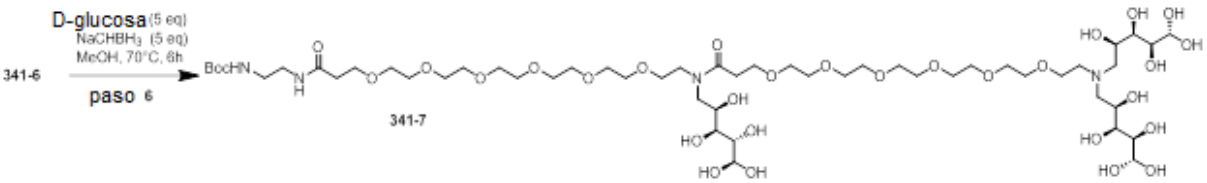
[0681] Una solución de **341-4** (340 mg, 0,515 mmol), **341-1** (297 mg, 0,516 mmol) y HATU (196 mg, 0,515 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (200 mg, 1,548 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar **341-5** (475 mg, 0,390 mmol, 75,73%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 5



[0682] Una solución de **341-5** (475 mg, 0,390 mmol) y DEA (2 mL) en DMF anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **341-6** (372 mg, 0,374 mmol, 95,90%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

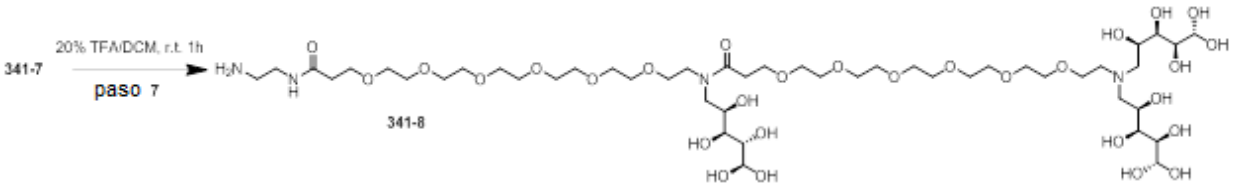
Paso 6



[0683] Una solución de **341-6** (372 mg, 0,374 mmol) y D-Glucosa (337 mg, 1,871 mmol) en metanol anhidro (50 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (118 mg, 1,878 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 6 h a 70 °C hasta que el análisis indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto

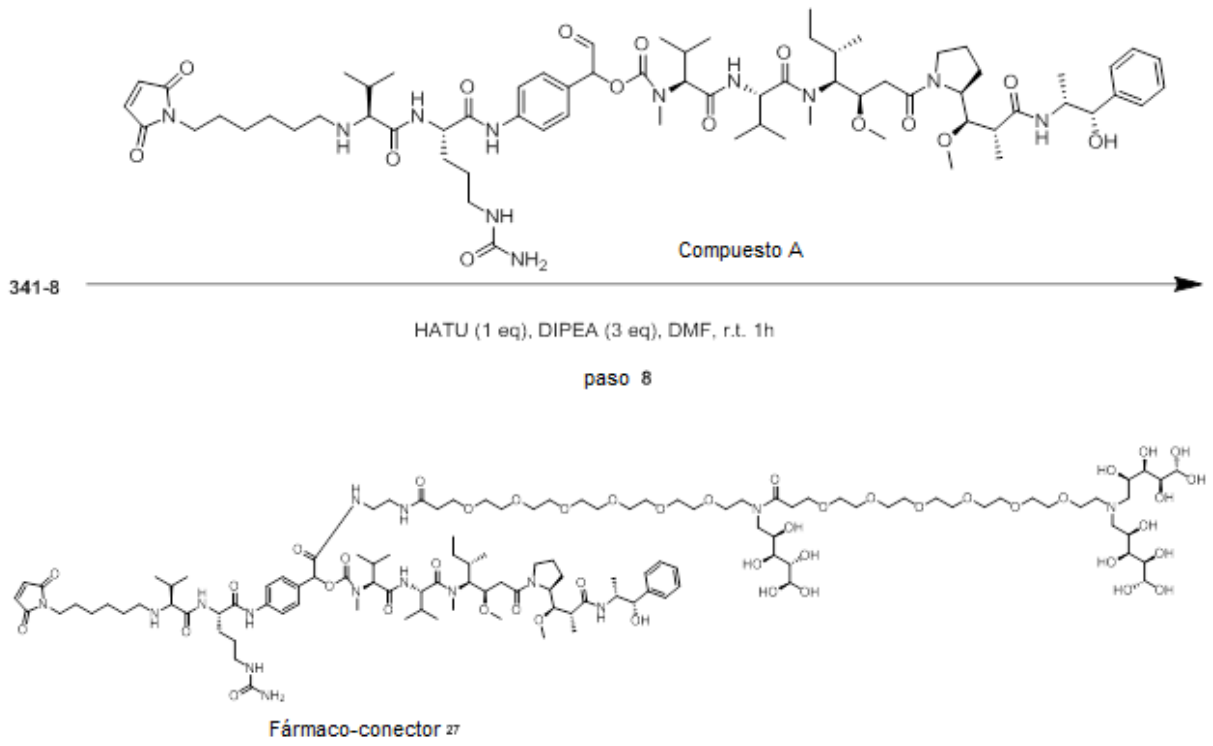
deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar **341-7** (406 mg, 0,307 mmol, 82,09%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 7



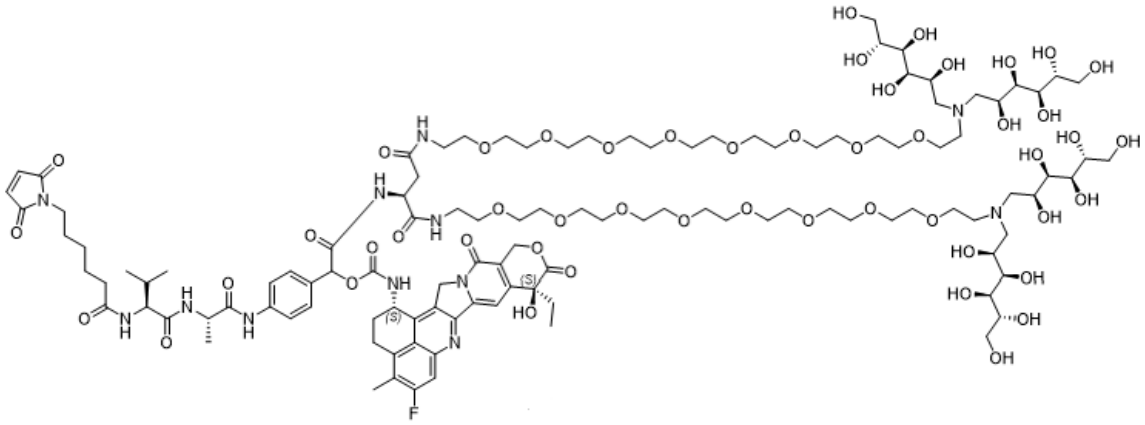
[0684] Una solución de **341-7** (100 mg, 0,076 mmol) y TFA (2 mL) en DCM anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar **341-8** (85 mg, 0,069 mmol, 90,79%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 8



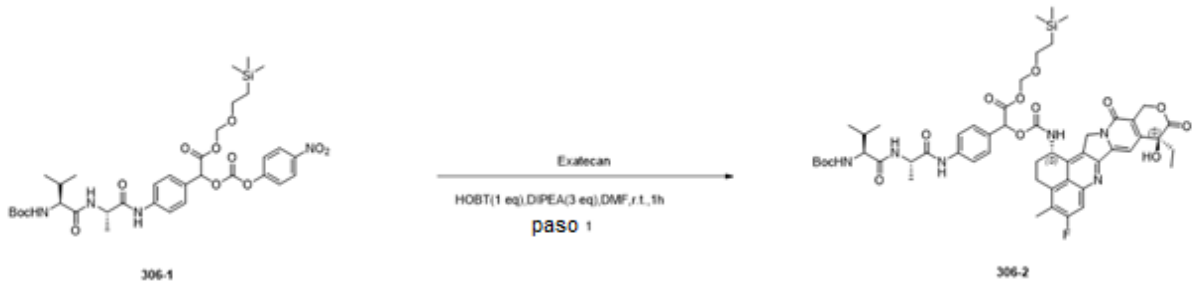
[0685] Una solución de **341-8** (30 mg, 0,025 mmol), el **Compuesto A** (33 mg, 0,025 mmol) y HATU (9 mg, 0,025 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (10 mg, 0,074 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar el **Fármaco-Conector 27** (15 mg, 0,006 mmol, 24,01%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 856,38(M/3+H)$^+$.

Ejemplo 28: Preparación del Fármaco-Conector 28



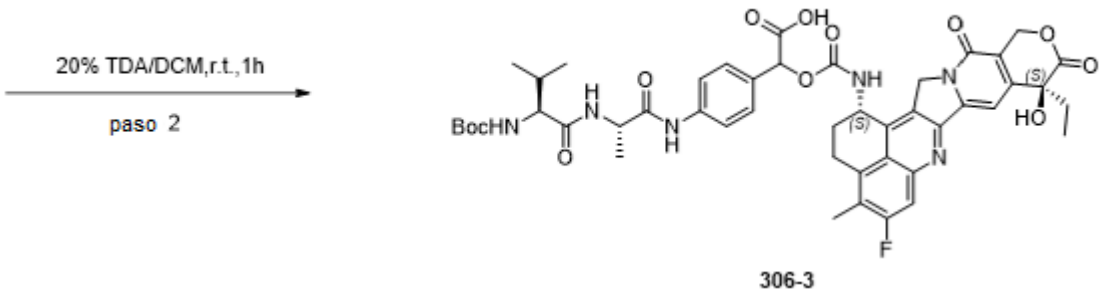
(Fármaco-Conector 28)

Paso 1



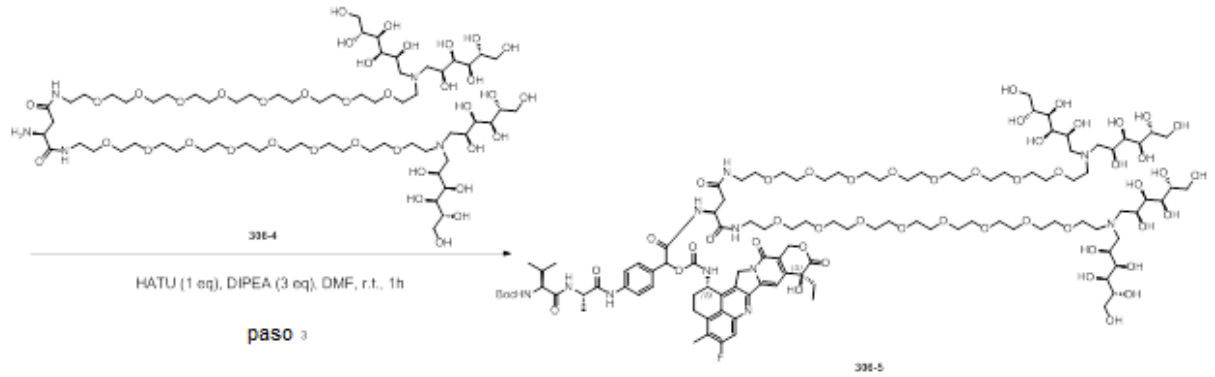
[0686] Una solución de 306-1 (900 mg, 1,2 mmol), Exatecan (653 mg, 1,2 mmol) y HOBT (166 mg, 1,2 mmol) en DMF anhidro (6 mL) se agitó a temperatura ambiente, luego se agregó DIPEA (476 mg, 3,7 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 2 h a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar y se usó sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 80%-90%.

Paso 2



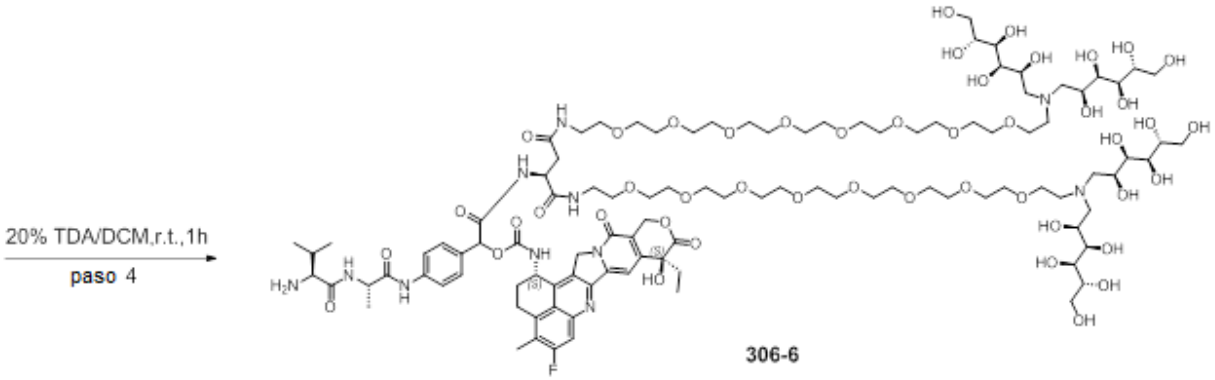
[0687] Una solución de 306-2 y TFA (1 mL) en DCM anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 306-3 (120 mg, 0,13 mmol) como un sólido gris. Pureza = 70%-80%.

Paso 3



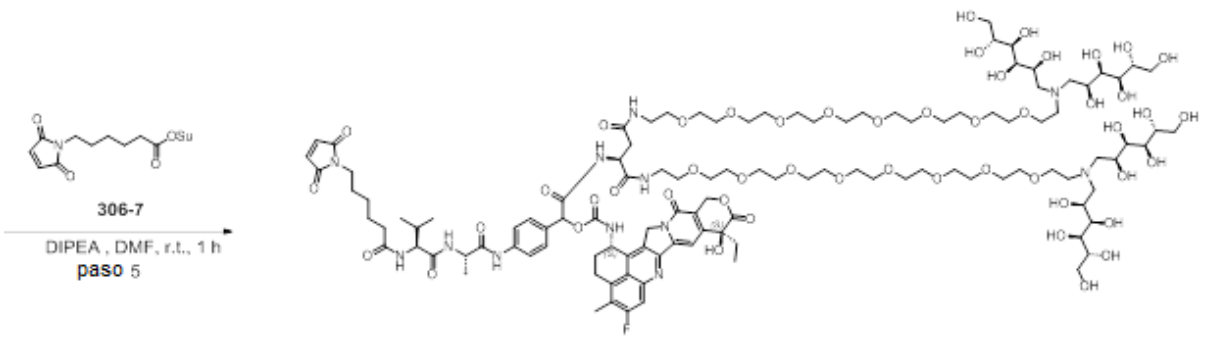
[0688] Una solución de 306-3 (100 mg, 0,1 mmol), 306-4 (176 mg, 0,1 mmol) y HATU (42 mg, 0,1 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (43 mg, 0,3 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 306-5 (60 mg, 0,024 mmol) como un sólido gris. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



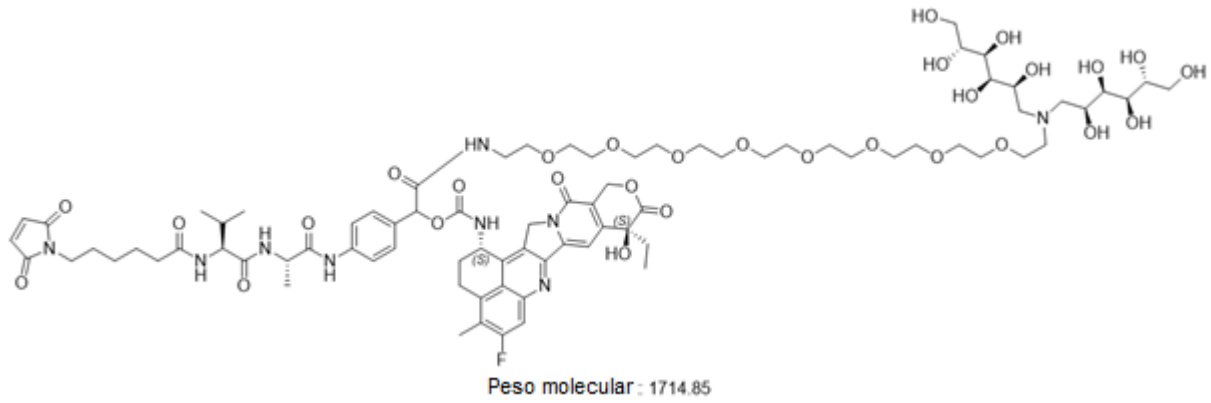
[0689] Una solución de 306-5 (60 mg, 0,024 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 306-6 (55 mg, 0,024 mmol) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 85%-90%.

Paso 5



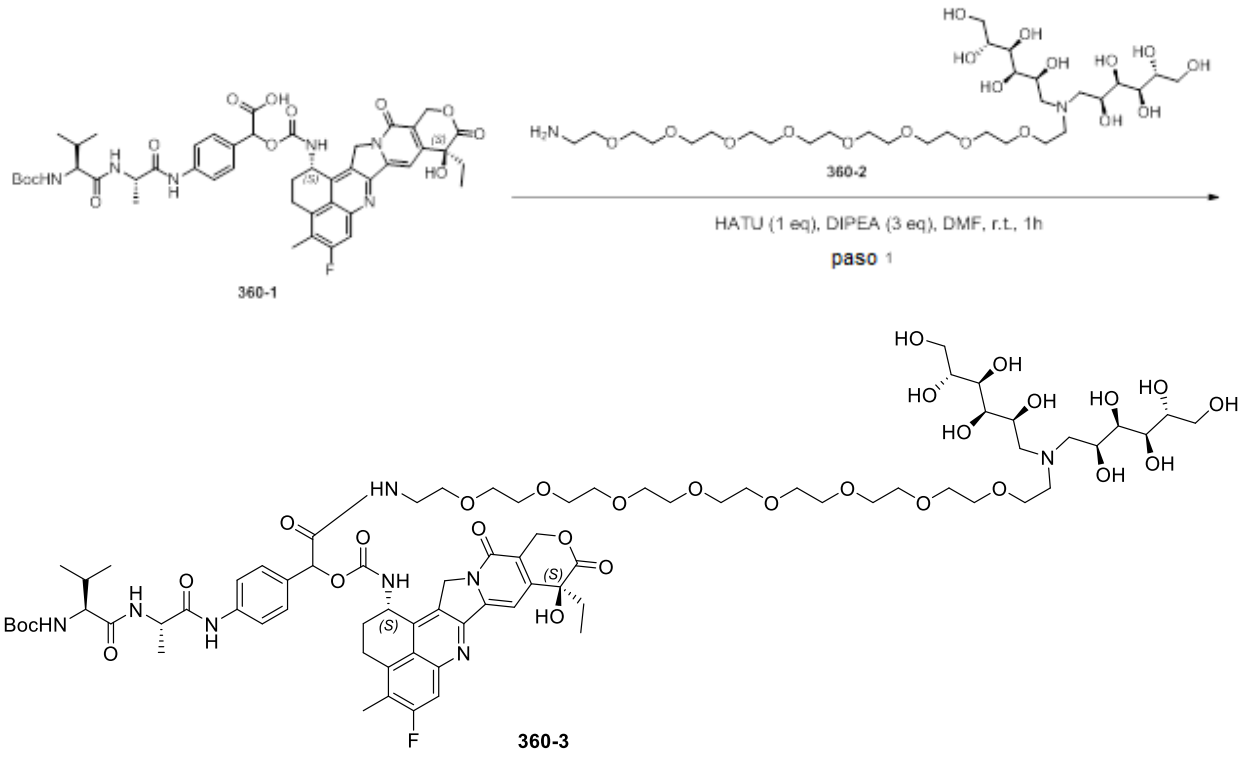
[0690] Una solución de 306-6 (55 mg, 0,024 mmol) en MeCN (2 mL) y H_2O (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó una solución de 306-7 (11 mg, 0,036 mmol) en MeCN anhidro (1 mL) por goteo por medio de una jeringa a lo largo de 5 min. La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que se consumió toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD306 (10 mg) como un sólido amarillo. LCMS, m/z = 1277,38$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 29: Preparación del Fármaco-Conector 29



(Fármaco-Conector 29)

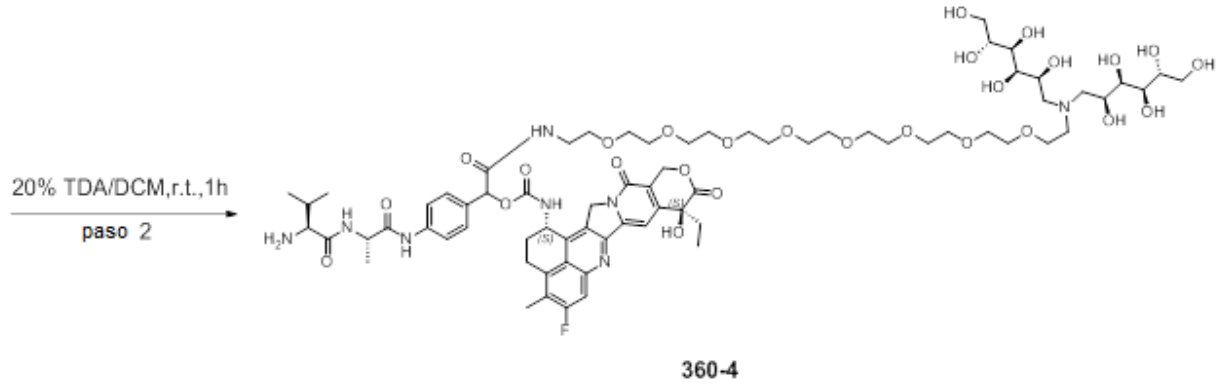
Paso 1



[0691] Una solución de 360-1 (300 mg, 0,3 mmol), 360-2 (247 mg, 0,3 mmol) y HATU (127 mg, 0,3 mmol) en DMF anhidro (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (129 mg, 1,0 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la

reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 360-3 (130 mg, 0,08 mmol) como un sólido gris. Pureza = 90%-95%.

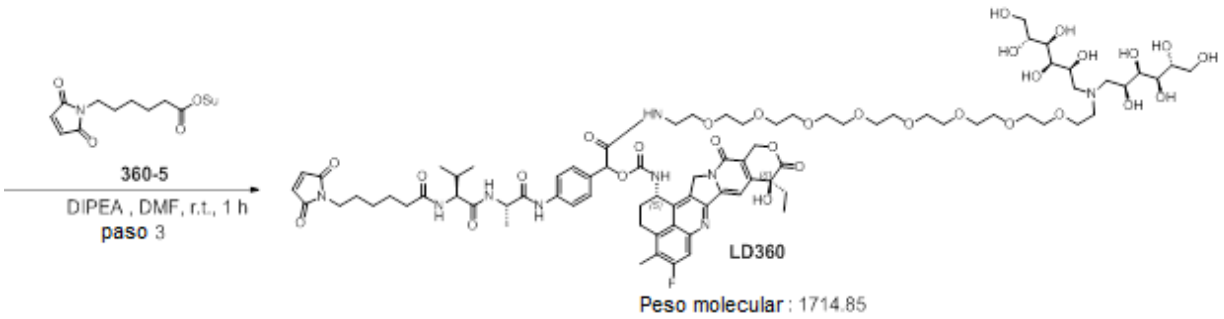
Paso 2



360-4

[0692] Una solución de 360-3 (130 mg, 0,08 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 360-4 (70 mg, 0,046 mmol) como un sólido gris. Pureza = 85%-90%.

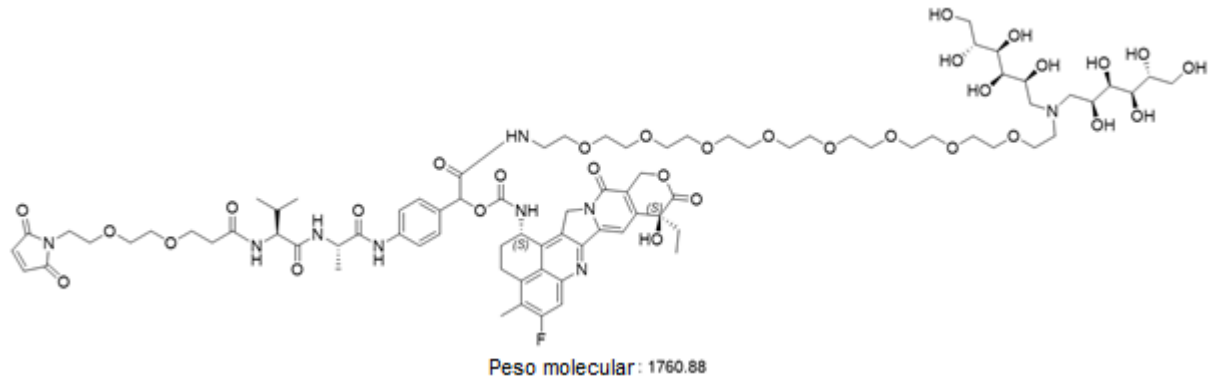
Paso 3



Peso molecular : 1714.85

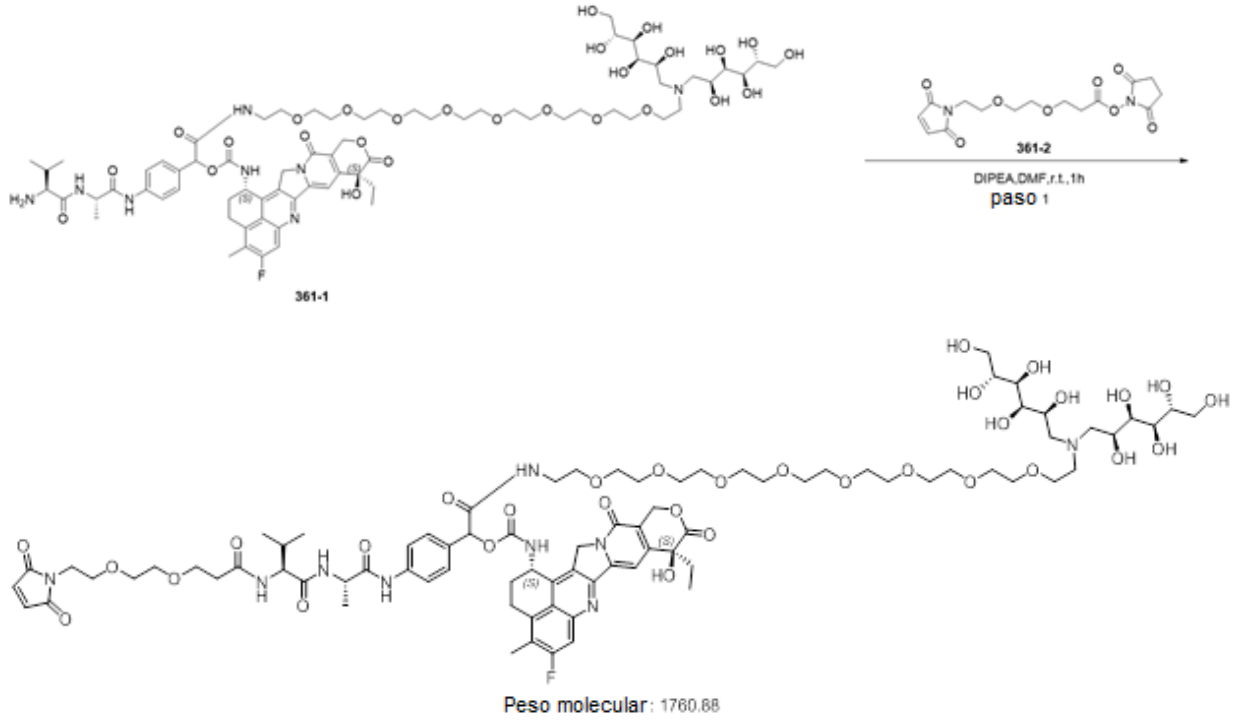
[0693] Una solución de 360-4 (30 mg, 0,02 mmol) y DIPEA (8 mg, 0,06 mmol) en DMF anhidro (1 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó una solución de 360-5 (9 mg, 0,03 mmol) en DMF anhidro (1 mL) por goteo por medio de una jeringa a lo largo de 5 min. La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD360 (3 mg) como un sólido amarillo. LCMS, m/z = 867,42$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 30: Preparación del Fármaco-Conector 30



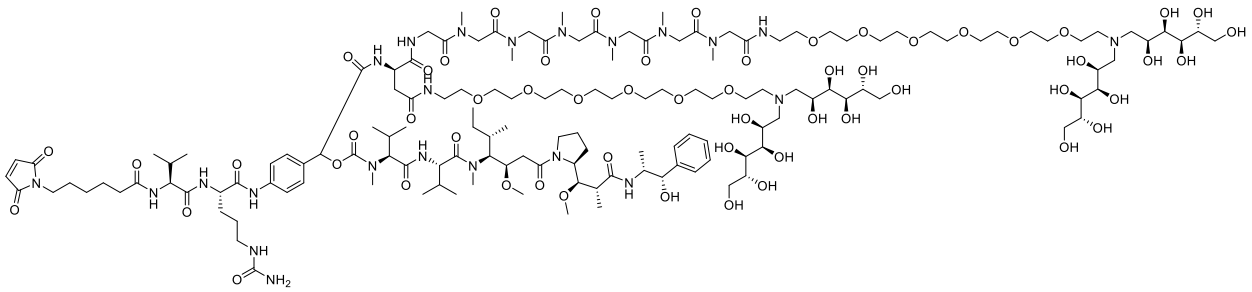
(Fármaco-Conector 30)

Paso 1



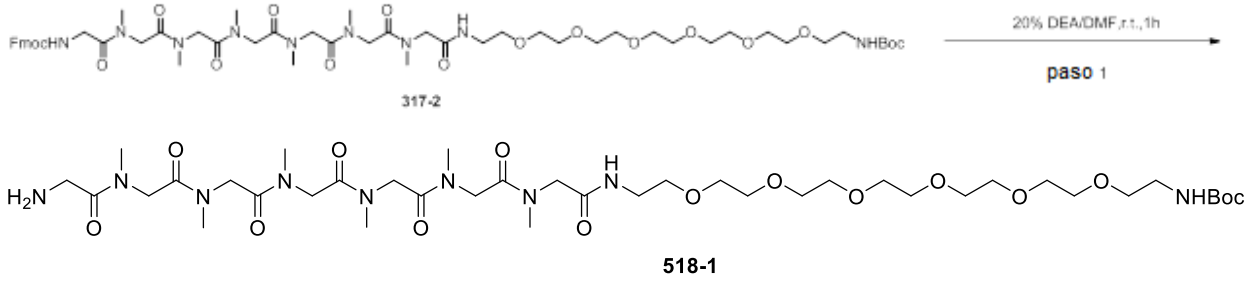
[0694] Una solución de 361-1 (40 mg, 0,026 mmol) y DIPEA (8 mg, 0,062 mmol) en DMF anhidro (1 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó una solución de 360-5 (14 mg, 0,039 mmol) en DMF anhidro (1 mL) por goteo por medio de una jeringa a lo largo de 5 min. La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD361 (11 mg) como un sólido amarillo. LCMS, m/z = 881,43$(M/2+H)^+$.

Ejemplo 31: Preparación del Fármaco-Conector 31



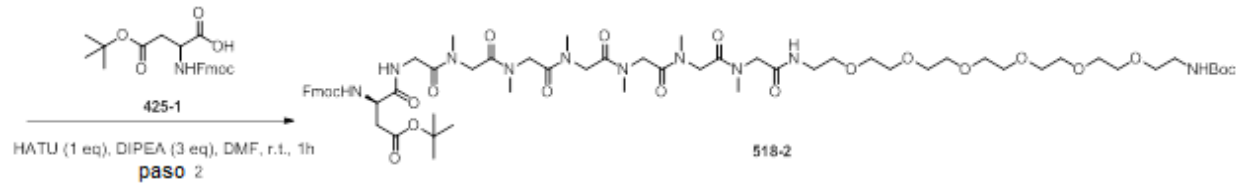
(Fármaco-Conector 31)

Paso 1



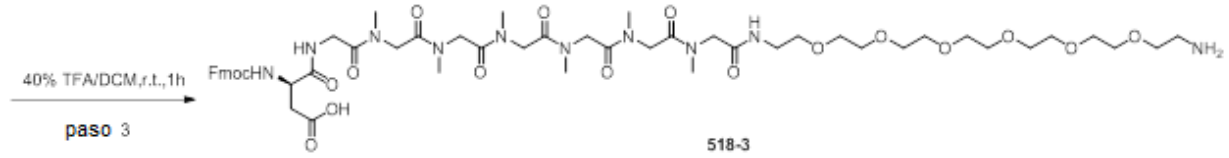
[0695] Una solución de 317-2 (570 mg, 0,504 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 518-1 (419 mg, 0,461 mmol, 91,47%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 2



[0696] Una solución de 518-1 (419 mg, 0,461 mmol), 425-1 (190 mg, 0,462 mmol) y HATU (175 mg, 0,460 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (179 mg, 1,385 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 518-2 (305 mg, 0,234 mmol, 50,83%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

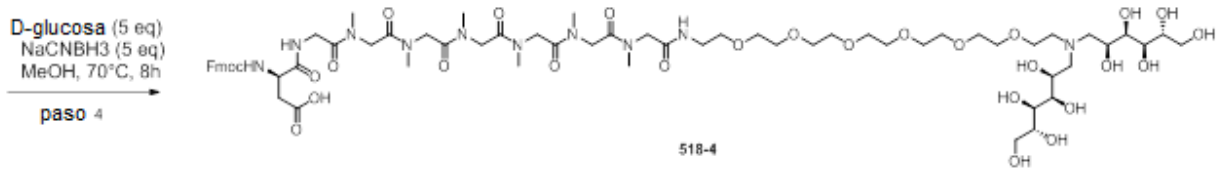
Paso 3



[0697] Una solución de 518-2 (305 mg, 0,234 mmol) y TFA (4 mL) en DCM anhidro (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta

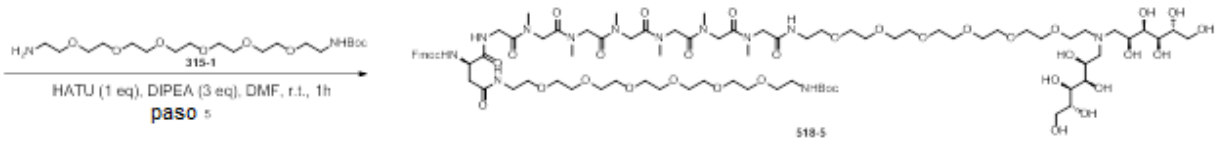
secar para dar 518-3 (255 mg, 0,223 mmol, 95,30%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



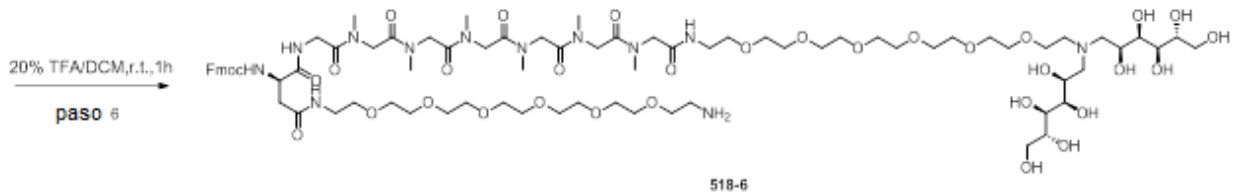
[0698] Una solución de 518-3 (255 mg, 0,223 mmol) y D-Glucosa (201 mg, 1,116 mmol) en metanol anhidro (40 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (70 mg, 1,114 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 8 h a 70 °C hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 518-4 (180 mg, 0,122 mmol, 54,71%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 5



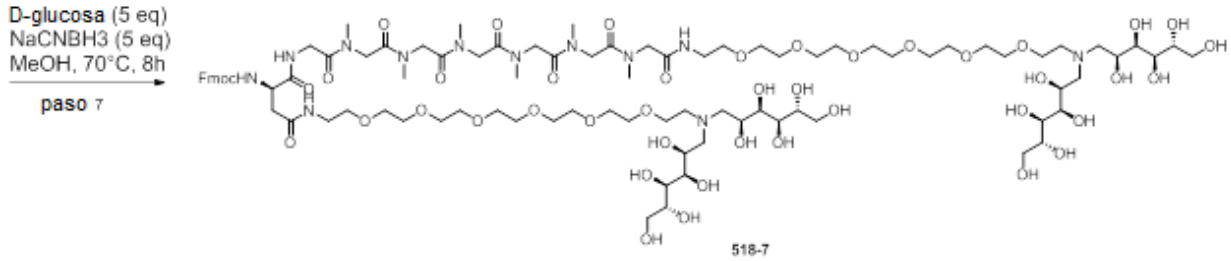
[0699] Una solución de 518-4 (180 mg, 0,122 mmol), 315-1 (52 mg, 0,122 mmol) y HATU (46 mg, 0,121 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (47 mg, 0,364 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 518-5 (166 mg, 0,088 mmol, 72,13%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 6



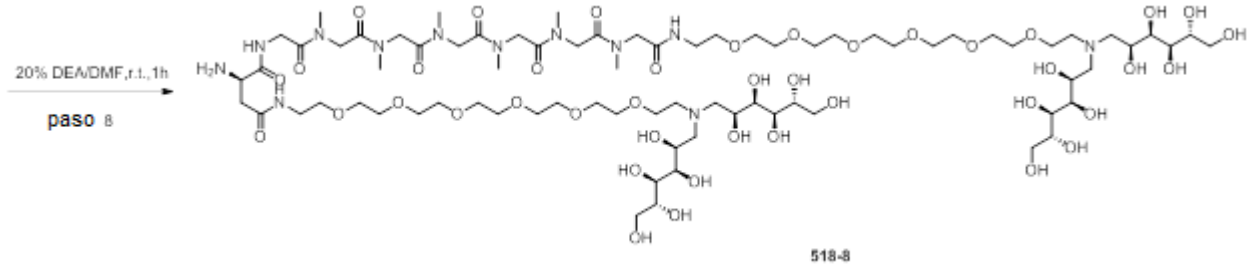
[0700] Una solución de 518-5 (166 mg, 0,088 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 518-6 (147 mg, 0,083 mmol, 94,32%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 7



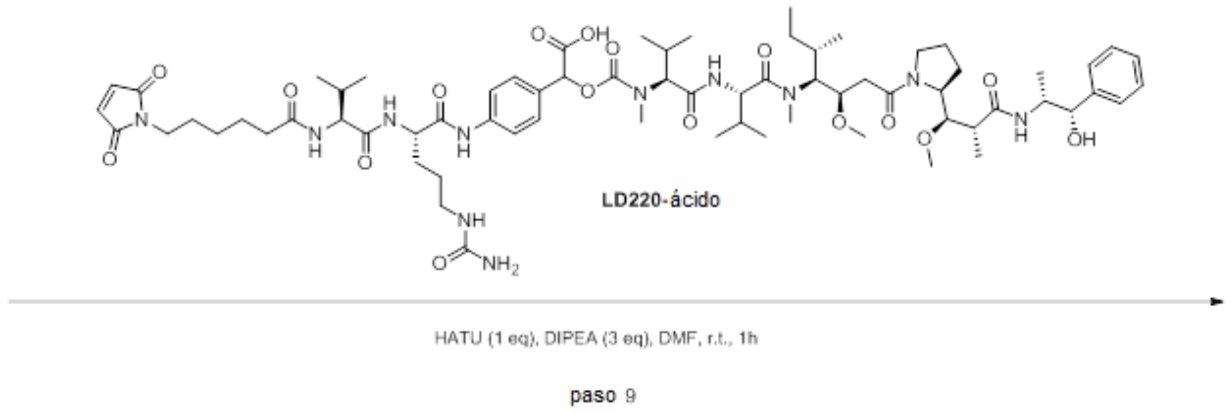
[0701] Una solución de 518-6 (147 mg, 0,083 mmol) y D-Glucosa (75 mg, 0,416 mmol) en metanol anhidro (40 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (26 mg, 0,413 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 8 h a 70 °C hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 518-7 (95 mg, 0,045 mmol, 54,22%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

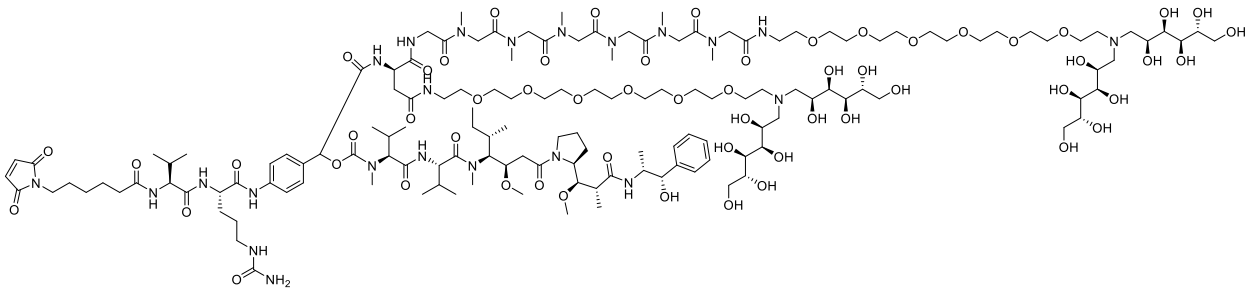
Paso 8



[0702] Una solución de 518-7 (95 mg, 0,045 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 518-8 (78 mg, 0,041 mmol, 91,11%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

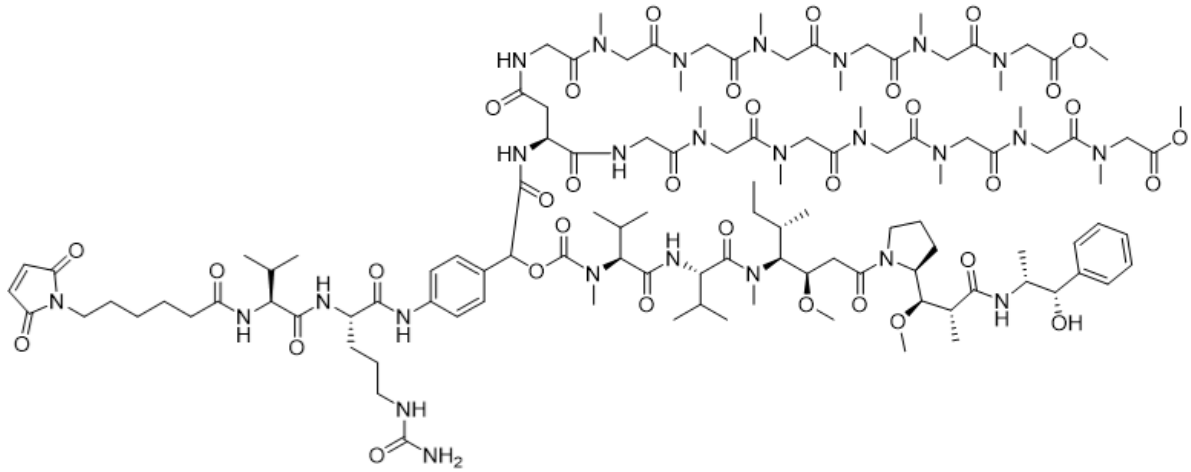
Paso 9





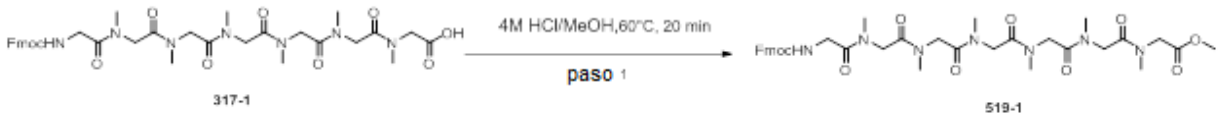
[0703] Una solución de 518-8 (78 mg, 0,041 mmol), LD220-ácido (56 mg, 0,041 mmol) y HATU (16 mg, 0,042 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (16 mg, 0,124 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD518 (30 mg, 0,009 mmol, 21,95%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1614,53(M/2+H)$^+$.

Ejemplo 32: Preparación del Fármaco-Conector 32



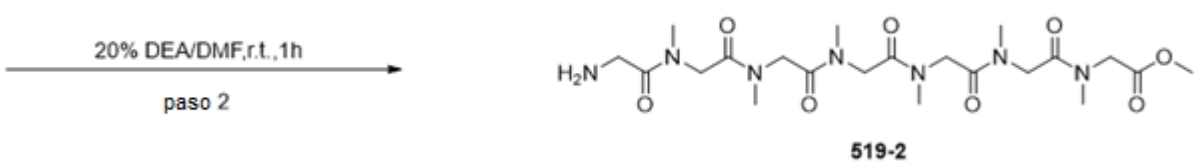
(Fármaco-Conector 32)

Paso 1



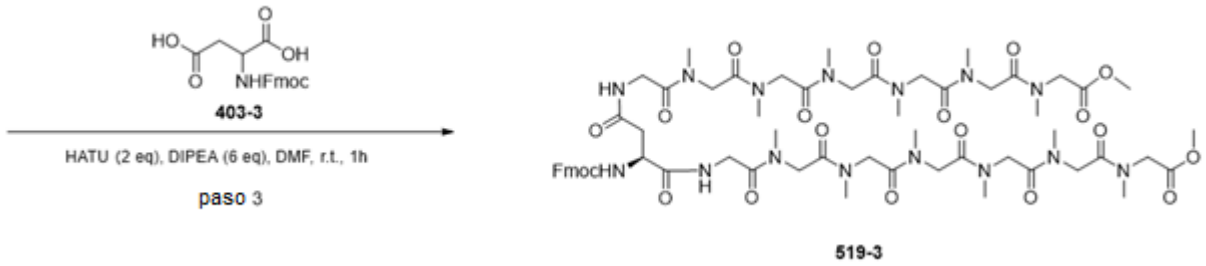
[0704] Una solución de 317-1 (500 mg, 0,691 mmol) en HCl 4M/MeOH (10 ml) se calentó a 50 °C durante 30 min hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 519-1 (367 mg, 0,507 mmol, 73,37%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 2



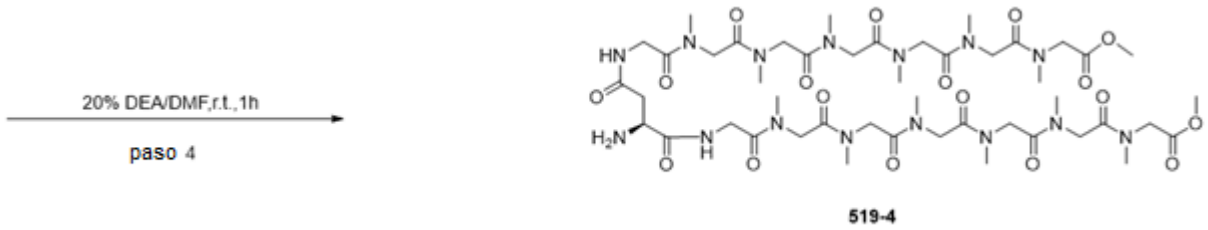
[0705] Una solución de 519-1 (367 mg, 0,507 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 519-2 (233 mg, 0,452 mmol, 89,15%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 3



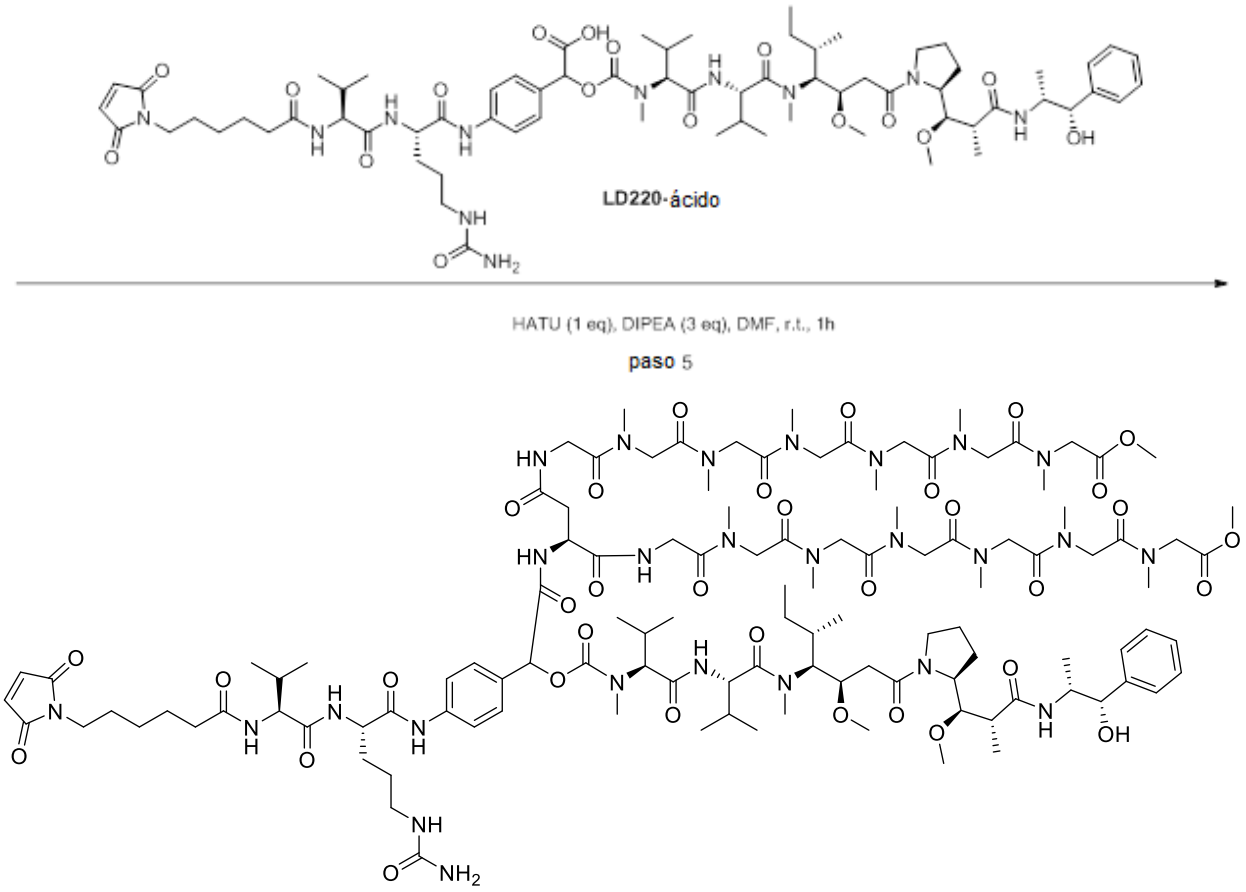
[0706] Una solución de 519-2 (233 mg, 0,452 mmol), 403-3 (80 mg, 0,225 mmol) y HATU (172 mg, 0,452 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (175 mg, 1,354 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 519-3 (185 mg, 0,137 mmol, 60,89%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



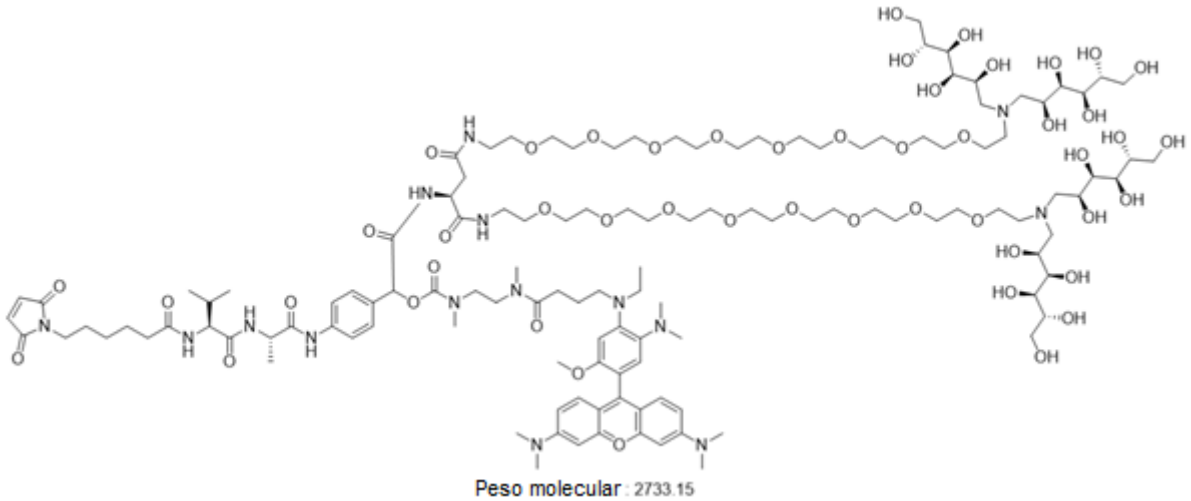
[0707] Una solución de 519-3 (185 mg, 0,137 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 519-4 (120 mg, 0,106 mmol, 77,37%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 5



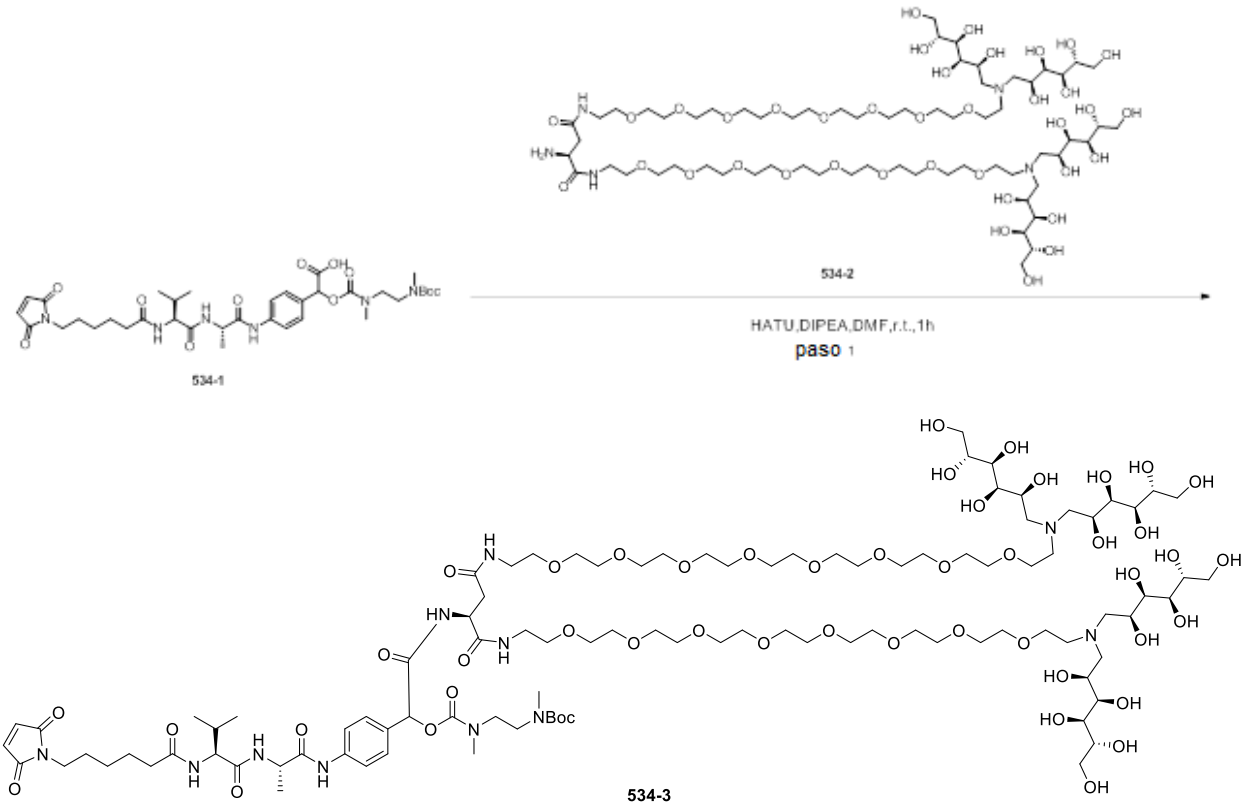
[0708] Una solución de 519-4 (50 mg, 0,044 mmol), LD220-ácido (60 mg, 0,044 mmol) y HATU (17 mg, 0,044 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (17 mg, 0,132 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD519 (28 mg, 0,011 mmol, 25,75%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1235,85(M/2+H)$^+$.

Ejemplo 33: Preparación del Fármaco-Conector 33



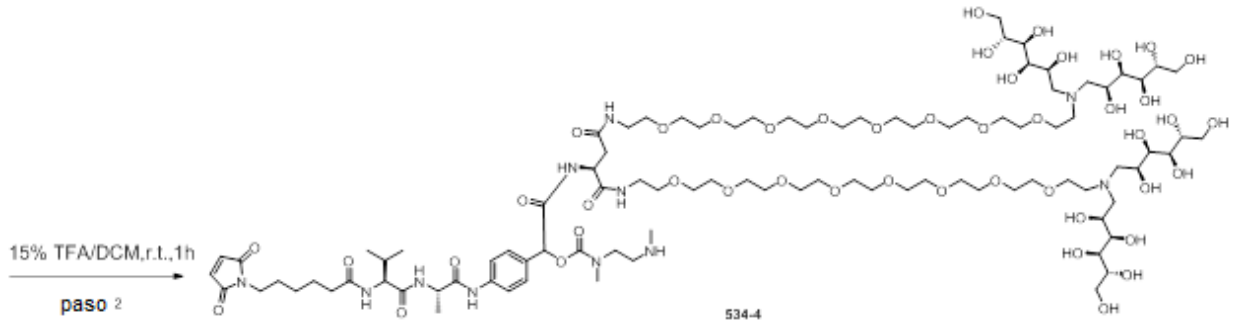
(Fármaco-Conector 33)

Paso 1



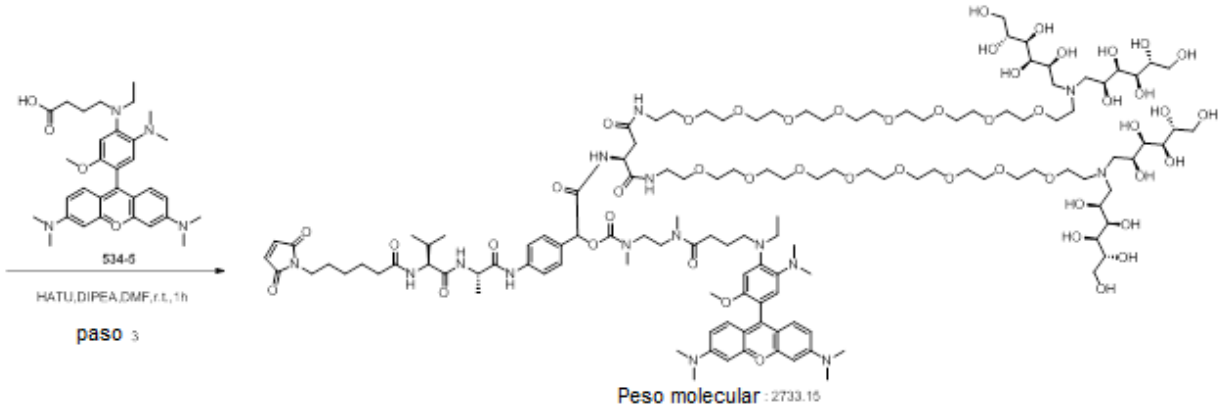
[0709] Una solución de 534-1 (200 mg, 0,3 mmol), 534-2 (424 mg, 0,3 mmol) y HATU (102 mg, 0,3 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (104 mg, 0,8 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 534-3 (140 mg, 0,06 mmol) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 2



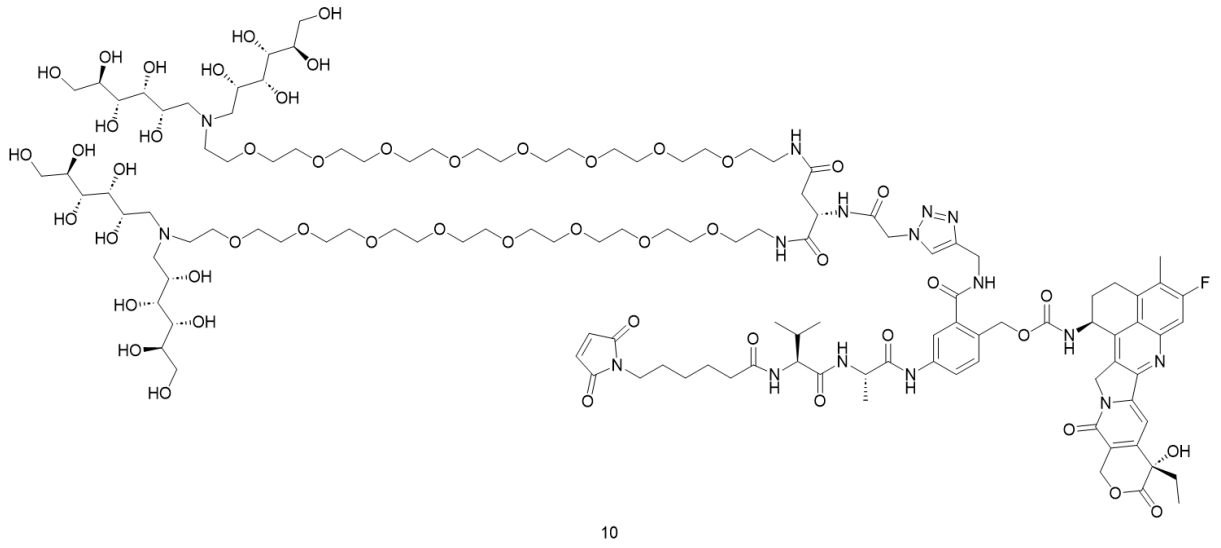
[0710] Una solución de 534-3 (140 mg, 0,06 mmol) y TFA (1 mL) en DCM anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 534-4 (80 mg, 0,036 mmol) como un sólido blanco. Pureza = 85%-90%.

Paso 3



[0711] Una solución de 534-4 (80 mg, 0,036 mmol), 534-5 (20 mg, 0,036 mmol) y HATU (14 mg, 0,036 mmol) en DMF anhidro (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (14 mg, 0,108 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD534 (13 mg， pureza = 80%) como un sólido violeta. LCMS, m/z = 1367,57(M/2+H)$^+$.

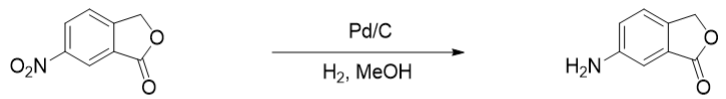
Ejemplo 34: Preparación del Fármaco-Conector 34



10

(Fármaco-Conector 34)

Paso 1

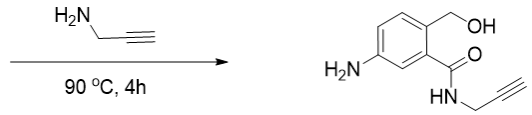


1 2

[0712] A una solución de 6-nitroisobenzofuran-1(3H)-ona (720 mg, 4 mmol) en MeOH (10 mL) se agregaron 200 mg de Pd/C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de H_2 hasta que TLC indicó que se había consumido el material de partida. Luego a la mezcla se agregaron 40 mL de DCM y se filtró con tierra diatomea. El material filtrado se concentró para dar 6-aminoisobenzofuran-1(3H)-ona (600 mg, rendimiento 98%) como un sólido amarillo.

LCMS: m/z =150,3 $(M+H)^+$, tiempo de retención 0,71 min (0,01% de TFA).

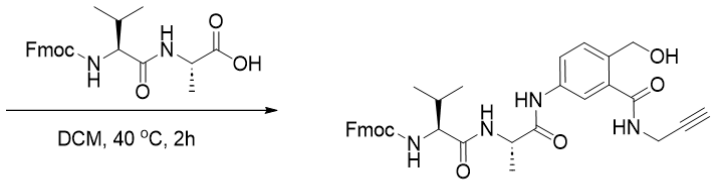
Paso 2



3

[0713] A una mezcla de 6-aminoisobenzofuran-1(3H)-ona (600 mg, 4 mmol) en un recipiente de 100 mL se agregó 2 mL propargilamina. La mezcla se agitó a 80 °C y se agitó durante 4 hrs. La mezcla se concentró bajo presión reducida y se purificó mediante columna de gel de sílice para obtener 5-amino-2-(hidroximetil)-N-(prop-2-in-1-il)benzamida (570 mg, rendimiento 70%) como un sólido amarillo. LCMS: m/z =227,0 $(M+Na)^+$, tiempo de retención 1,03 min (0,01% de TFA).

Paso 3

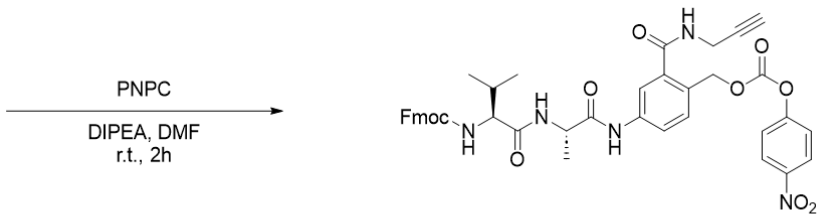


4

[0714] A una solución de 5-amino-2-(hidroximetil)-N-(prop-2-in-1-il)benzamida (570 mg, 2,8 mmol) en DCM (20 mL) se agregó (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-valil-L-alanina (1,15 mg, 2,8 mmol) y se agitó a 40 °C. Luego se agregó EEDQ (2,7 g, 11,2 mmol), y la mezcla se calentó a 45 °C durante 2 h. Luego la mezcla se purificó mediante columna de gel de sílice (DCM/MeOH=20/1, v/v) para dar el producto ((S)-1-(((S)-1-((4-(hidroximetil)-3-(prop-2-in-1-ilcarbamoil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (1 g, rendimiento 60%) como un sólido amarillo. LCMS: m/z =597,1 $(M+H)^+$, tiempo de retención 5,58 min (0,01% de TFA).

[0715] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,11 (s, 1H), 8,85 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 8,22 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,75 (dd, *J* = 7,5, 4,7 Hz, 2H), 7,70 – 7,62 (m, 2H), 7,48 – 7,39 (m, 4H), 7,34 – 7,30 (m, 2H), 5,25 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,51 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H), 4,42 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,35 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,31 – 4,26 (m, 1H), 4,25 – 4,18 (m, 3H), 4,00 (td, *J* = 5,4, 2,5 Hz, 3H), 3,91 (dd, *J* = 9,0, 7,1 Hz, 1H), 3,14 (dt, *J* = 8,5, 2,5 Hz, 1H), 1,98 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,31 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H), 0,92 – 0,84 (m, 6H).

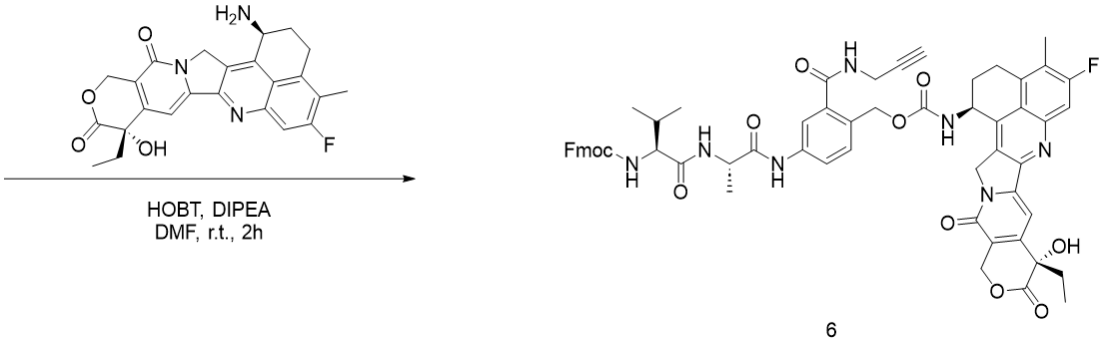
Paso 4



5

[0716] A una solución de ((S)-1-(((S)-1-((4-(hidroximetil)-3-(prop-2-in-1-ilcarbamoil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (340 mg, 0,57 mmol) y carbonato de bis(4-nitrofenilo) (520 mg, 1,71 mmol) en DMF (6 mL) se agregó DIPEA (221 mg, 1,71 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna en fase reversa (columna C18, eluyendo con 90% de acetonitrilo en agua con 0,01% de TFA) para dar las fracciones deseadas, que se secaron por congelamiento para dar ((S)-3-metil-1-(((S)-1-((4-((((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)-3-(prop-2-in-1-ilcarbamoil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (150 mg, rendimiento 34%) como un sólido amarillo. LCMS: m/z =762,2 $(M+H)^+$, tiempo de retención 6,58 min (0,01% de TFA).

Paso 5



6

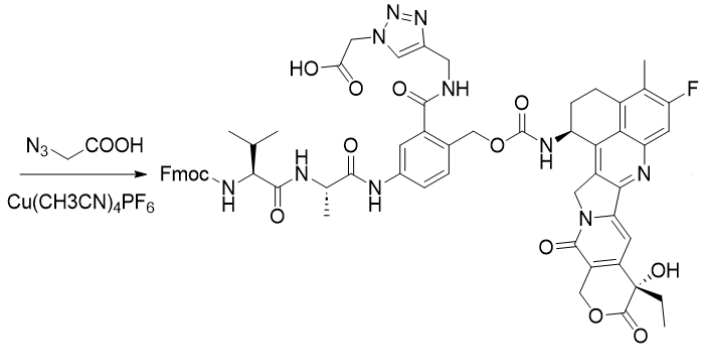
[0717] A una solución de ((S)-3-metil-1-(((S)-1-((4-((((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)-3-(prop-2-in-1-ilcarbamoil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (150 mg, 0,19 mmol) y Exatecan (127,6 mg, 0,24 mmol) en DMF (5 mL) se agregó DIPEA (98,2 mg, 0,76 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Luego se agregó HOBT (32,4, 0,24 mmol), y la mezcla se calentó a 25 °C durante 2 horas hasta completarse la reacción. Luego la mezcla se concentró y se purificó mediante columna de gel de sílice (DCM/MeOH=20/1, v/v) para dar ((S)-1-(((S)-1-((4-(((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)-3-(prop-2-in-1-ilcarbamoil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (150 mg, rendimiento 75%). LCMS: m/z =1058,6 $(M+H)^+$, tiempo de retención 6,30 min (0,01% de TFA).

[0718] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,17 (s, 1H), 8,85 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,78 (d, J = 10,9 Hz, 1H), 7,75 – 7,68 (m, 3H), 7,50 – 7,37 (m, 4H), 7,35 – 7,25 (m, 3H), 6,54 (s, 1H), 5,44 (s, 2H), 5,35 – 5,14 (m,

5H), 4,40 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,32 – 4,26 (m, 1H), 4,21 (d, *J* =5,1 Hz, 2H), 4,01 – 3,95 (m, 2H), 3,91 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 3,23 (s, 1H), 3,16 – 3,06 (m, 2H), 2,41 – 2,34 (m, 3H), 2,19 (s, 2H), 1,99 (dt, *J* = 13,6, 7,3 Hz, 2H), 1,86 (dt, *J* = 17,6, 7,1 Hz, 2H), 1,30 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,87 (ddd, *J* = 9,8, 6,8, 3,6 Hz, 9H).

[0719] ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-d_6) δ 171,68, 171,52, 168,55, 156,62, 144,34, 144,27, 141,17, 138,03, 135,46, 128,75, 128,13, 127,54, 125,87, 120,59, 118,48, 115,46, 81,51, 73,43, 66,14, 61,71, 60,97, 49,51, 47,13, 28,79, 19,69, 18,77, 18,53.

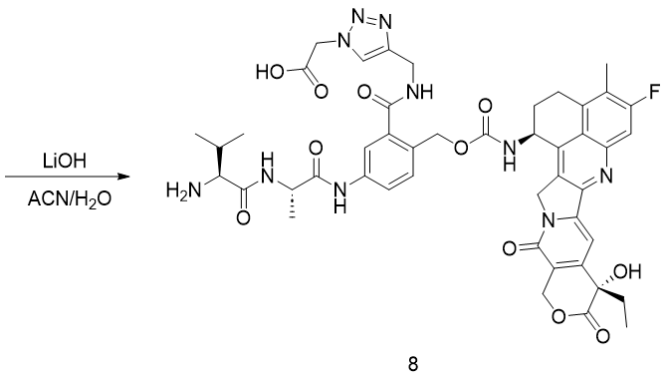
Paso 6



7

[0720] A una solución de ((S)-1-(((S)-1-((4-(((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)-3-(prop-2-in-1-ilcarbamoil)fenil)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (53 mg, 0,05 mmol) y ácido azidoacético (7,6 mg, 0,075 mmol) en DMF (4 mL) se agregó $Cu(CH_3CN)_4PF_6$(28 mg, 0,075 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hr. El solvente se eliminó bajo presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna en fase reversa (0,01% de TFA) para dar el producto ácido 2-(4-((5-((S)-2-((S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-metilbutanamido)propanamido)-2-(((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)benzamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acético (36 mg, rendimiento 62%) como un sólido blanco. LCMS: m/z =1159,7 $(M+H)^+$, tiempo de retención 5,70 min (0,01% de TFA), UV débil.

Paso 7

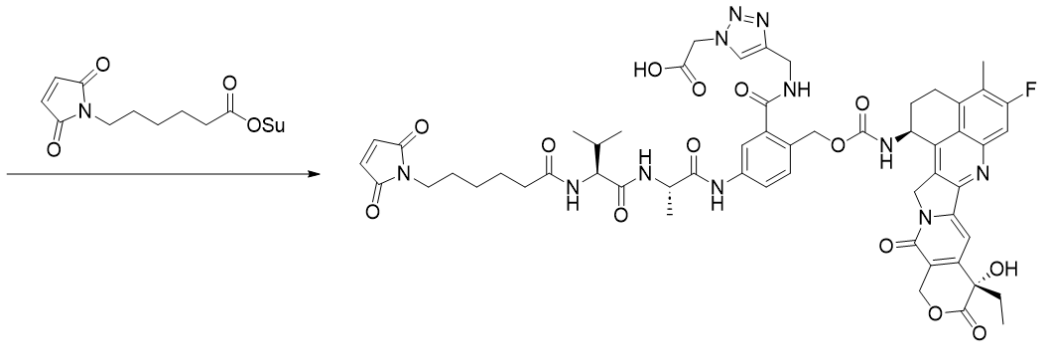


8

[0721] A una solución ácido 2-(4-((5-((S)-2-((S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-

metilbutanamido)propanamido)-2-(((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)benzamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acético (73 mg, 0,063 mmol) en THF (18 mL) y H_2O (6 mL) se agregó LiOH (10 mg, 0,252 mmol) a temperatura ambiente. Luego la mezcla se agitó a 25 °C durante 1h hasta que el análisis LCMS mostró que el pico principal era el producto. La mezcla se ajustó a pH 7-8 con TFA, y se usó directamente en el paso siguiente sin purificación adicional. LCMS: m/z =937,5 $(M+H)^+$, tiempo de retención 3,37 min (0,01% de TFA).

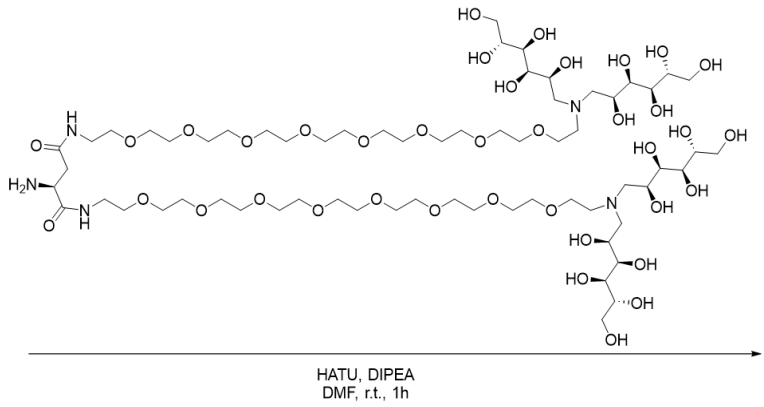
Paso 8

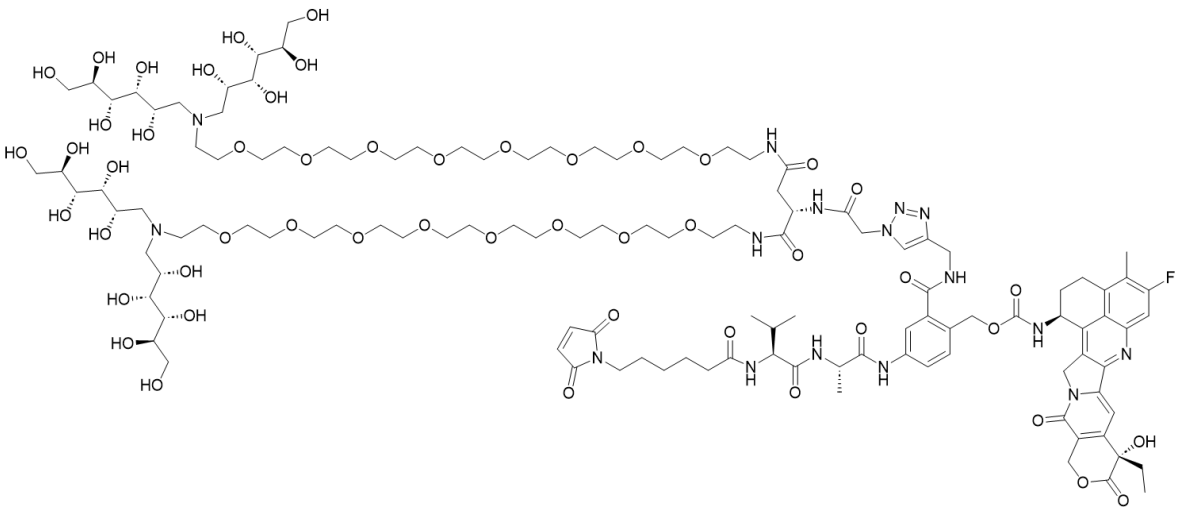


9

[0722] A la reacción del paso previo se agregó 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (13,8 mg, 0,045 mmol) a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La mezcla se concentró bajo presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna en fase reversa (0,01% de TFA) para dar el producto ácido 2-(4-((5-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanamido)-3-metilbutanamido)propanamido)-2-(((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)benzamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acético (18 mg, rendimiento 40%) como un sólido amarillo. LCMS: m/z =1130,38 $(M+H)^+$, tiempo de retención 4,32 min (0,01% de TFA), UV débil.

Paso 9





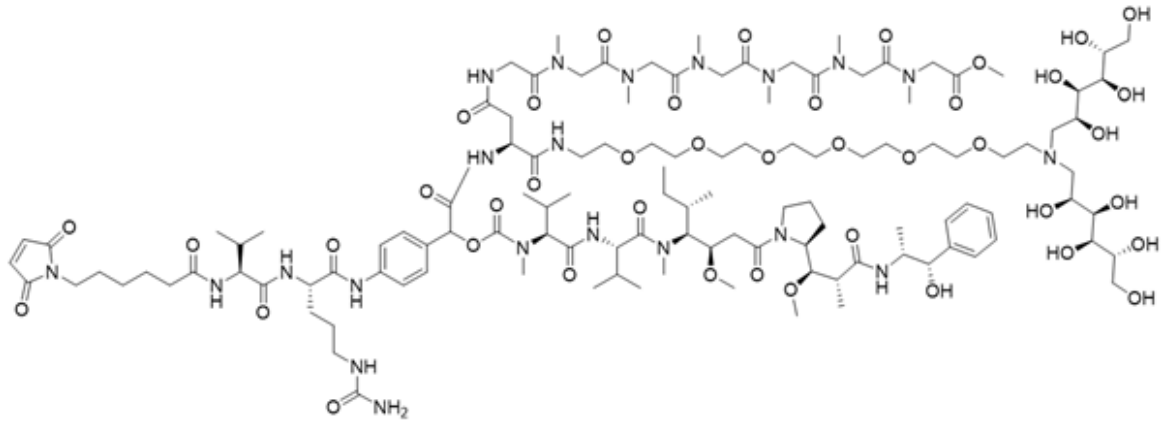
10

[0723] A una solución de ácido 2-(4-((5-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanamido)-3-metilbutanamido)propanamido)-2-(((((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamoil)oxi)metil)benzamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acético (18 mg, 0,015 mmol) y (S)-2-amino-N1,N4-bis((29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontil)succinamida (37 mg, 0,024 mmol) en DMF (5 mL) se agregó DIPEA (6,2 mg, 0,05 mmol) y se agitó a temperatura ambiente. Luego se agregó HATU (9,1 mg, 0,024 mmol), y la mezcla se calentó a 25 °C durante 0,5h hasta completarse la reacción. Luego la mezcla se purificó mediante cromatografía en columna en fase reversa (0,01% de TFA) para dar el producto ((1S,9S)-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-10,13-dioxo-2,3,9,10,13,15-hexahidro-1H,12H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-1-il)carbamato de 4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanamido)-3-metilbutanamido)propanamido)-2-(((1-((4S,36S,37R,38R,39R)-36,37,38,39,40-pentahidroxi-2,6-dioxo-4-(((29S,30R,31R,32R)-29,30,31,32,33-pentahidroxi-27-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-27-azatritriacontil)carbamoil)-34-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)-10,13,16,19,22,25,28,31-octaoxa-3,7,34-triazatetracontil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)carbamoil)bencilo (22 mg, rendimiento 55%) como un sólido blanco. LCMS: m/z =1346,4 $(M/2+H)^+$, tiempo de retención 3,60 min (0,01% de TFA).

[0724] ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,09 (s, 1H), 8,93 (s, 1H), 8,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,22 – 8,13 (m, 2H), 8,07 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,01 – 7,89 (m, 3H), 7,79 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,46 (d, *J* =Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,53 (s, 1H), 5,44 (d, *J* = 4,8 Hz, 4H), 5,32 – 5,18 (m, 4H), 5,14 – 5,05 (m, 2H), 4,80 (t, *J* = 8,2 Hz, 4H), 4,66 – 4,49 (m, 8H), 4,45 (s, 5H), 4,36 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,16 (t *J* = 7,8 Hz, 1H), 3,98 (s, 4H), 3,77 (s, 4H), 3,67 (d, *J* = 6,5 Hz, 4H), 3,63 – 3,54 (m, 9H), 3,50 (d, *J* = 2,6 Hz, 44H), 3,45 – 3,38 (m, 10H), 3,36 (d, *J* = 6,2 Hz, 18H), 3,29 – 3,21 (m, 7H), 3,17 (s, 4H), 3,09 (dd, *J* =18,4, 7,8 Hz, 2H), 2,65 (s, 2H), 2,38 (d, *J* = 2,0 Hz, 4H), 2,26 – 2,18 (m, 2H), 2,03 – 1,91 (m, 2H),

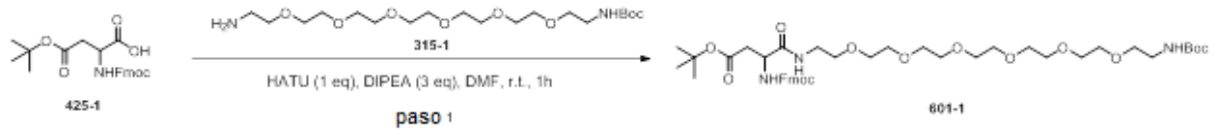
1,46 (t, *J* = 7,6 Hz, 4H), 1,29 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,16 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,08 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 0,96 – 0,71 (m, 9H).

Ejemplo 35: Preparación del Fármaco-Conector 35



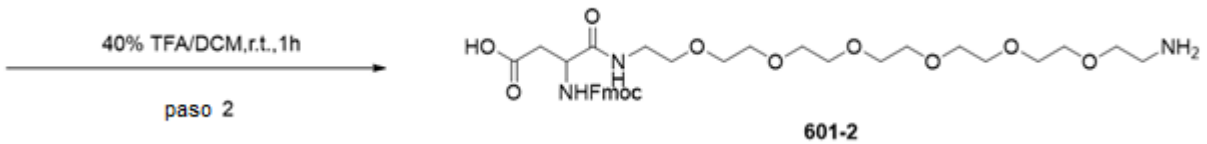
(Fármaco-Conector 35)

Paso 1



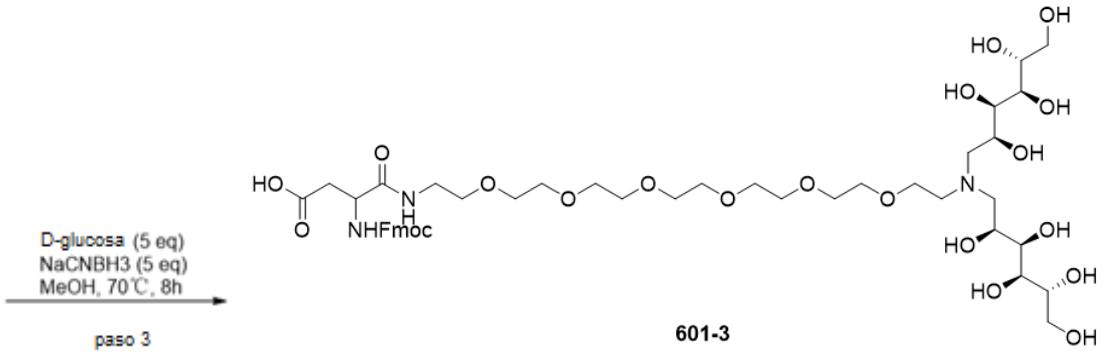
[0725] Una solución de 425-1 (300 mg, 0,729 mmol), 315-1 (310 mg, 0,730 mmol) y HATU (277 mg, 0,728 mmol) en DMF anhidro (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (283 mg, 2,190 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 601-1 (375 mg, 0,458 mmol, 62,83%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 2



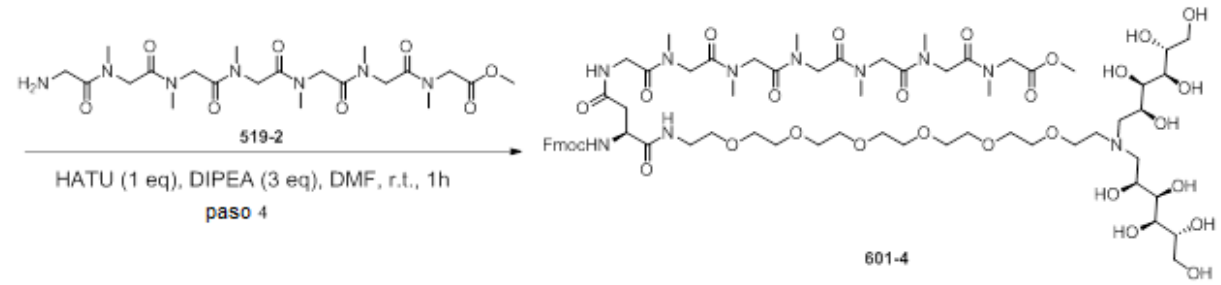
[0726] Una solución de 601-1 (375 mg, 0,458 mmol) y TFA (4 mL) en DCM anhidro (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 601-2 (271 mg, 0,410 mmol, 89,52%) como un aceite amarillo, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 3



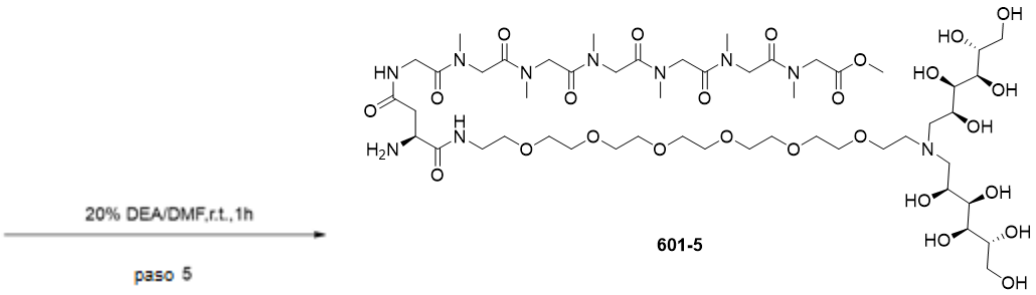
[0727] Una solución de 601-2 (271 mg, 0,410 mmol) y D-Glucosa (369 mg, 2,048 mmol) en metanol anhidro (45 mL) se calentó a 50 °C durante 30 min, luego se agregó $NaCNBH_3$ (129 mg, 2,053 mmol). La solución resultante se agitó durante otras 8 h a 70 °C hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó la masa del producto deseado. Luego la solución de la reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía líquida en fase reversa para dar 601-3 (182 mg, 0,184 mmol, 44,88%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 4



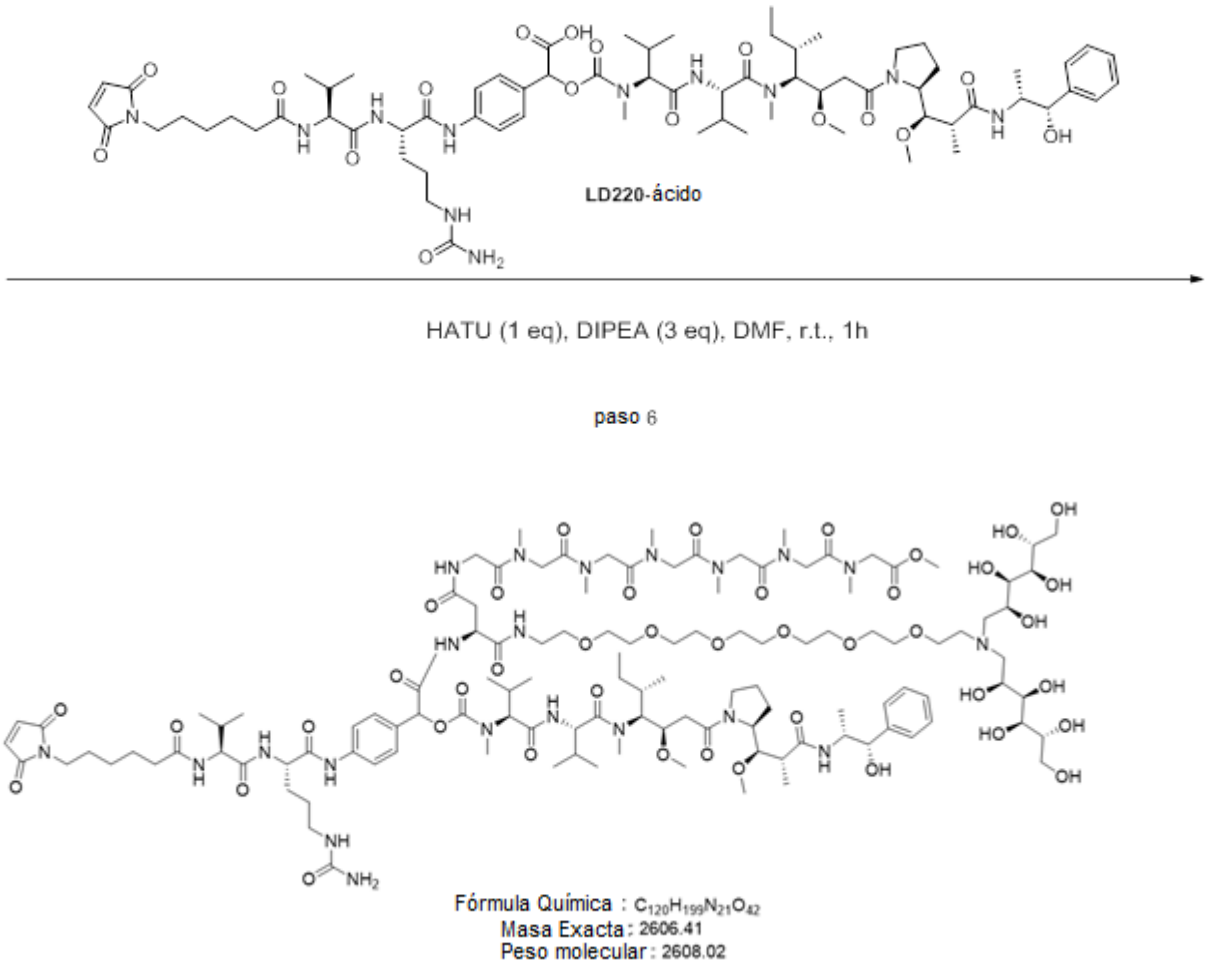
[0728] Una solución de 601-3 (182 mg, 0,184 mmol), 519-2 (78 mg, 0,184 mmol) y HATU (70 mg, 0,184 mmol) en DMF anhidro (5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (71 mg, 0,549 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. La solución de la reacción se purificó directamente por cromatografía líquida en fase reversa para dar 601-4 (156 mg, 0,105 mmol, 57,07%) como un sólido blanco. Pureza = 90%-95%.

Paso 5



[0729] Una solución de 601-4 (156 mg, 0,105 mmol) y DEA (1 mL) en DMF anhidro (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que LCMS indicó que se había consumido toda la amina de partida y se detectó el producto deseado. Luego la solución se concentró hasta secar para dar 601-5 (121 mg, 0,096 mmol, 91,43%) como un aceite incoloro, usado sin modificaciones en el siguiente paso. Pureza = 90%-95%.

Paso 6



[0730] Una solución de 601-5 (47 mg, 0,037 mmol), LD220-ácido (50 mg, 0,037 mmol) y HATU (14 mg, 0,037 mmol) en DMF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, luego se agregó DIPEA (14 mg, 0,108 mmol). La solución resultante se agitó durante 1 h adicional a temperatura ambiente hasta que LCMS indicó una reacción completa. Luego la

solución de la reacción se purificó mediante HPLC preparativa para dar LD601 (18 mg, 0,007 mmol, 18,92%) como un sólido blanco. LCMS, m/z = 1304,58(M/2+H)$^+$.

Ejemplo 36: *In vivo* antitumor activity for TAA1-directed conjugates de Fármaco-Conector 4

Ejemplo 36: Actividad antitumoral *in vivo* para conjugados de Fármaco-conector 4 dirigidos hacia TAA1

[731] Se evaluó la actividad antitumoral de los conjugados de Fármaco-conector 4 (Ejemplo 4) con el mAb anti-TAA1 en 4 modelos CDX para ovario, pulmón y cáncer de mama en ratones usando las líneas celulares OVCAR-3 (Co-bioer, CBP60294, cáncer de ovario), PA-1 (Procell, CL-0411, cáncer de ovario), NCI-H292 (Co-bioer, CBP60187, cáncer de pulmón) y MDA-MB-468 (Procell, CL-0290, cáncer de mama). Se inocularon ratones hembra NDG o BALB/c desnudos o NOD/SCID por vía subcutánea en el flanco derecho con células OVCAR-3 (1 x 10^7 en 0,1 mL de suspensión celular), células PA-1 (5 x 10^6 en 0,1 mL de suspensión celular), células NCI-H292 (5 x 10^6 en 0,1 mL de suspensión celular), o células MDA-MB-468 (5 x 10^6 en 0,1 mL de suspensión celular) mezclado con Matrigel (1:1). 4~24 días después de la inoculación del tumor, se seleccionaron ratones con un tamaño tumoral promedio de 128~156 mm^3 y se asignaron a 4~5 grupos de tratamiento usando aleatorización estratificada (n = 6 por grupo) en base a su volumen tumoral. El día 0 después de la aleatorización (con el día de la aleatorización definido como el día 0) se administró una dosis única de los artículos de prueba mediante inyección intravenosa.

[732] Se midieron el tamaño tumoral y el peso corporal dos veces por semana. El volumen tumoral (medido en dos dimensiones usando un calibre) se expresó en mm^3 usando la fórmula: $V = 0,5\ a\ x\ b^2$ donde a y b representan los diámetros mayor y menor del tumor, respectivamente. Se consideró como criterio de valoración un volumen tumoral superior a 2000 mm^3. Se monitoreó el peso corporal del animal como una evaluación indirecta de la toxicidad. Ninguno de los ratones mostró una pérdida significativa de peso en ninguno de los grupos de tratamiento. El valor DAR de los conjugados de ADC se define según se indica en las referencias de la figura.

[733] Tabla 1: Número de copias de TAA1 en células tumorales OVCAR-3, PA-1, NCI-H292 y MDA-MB-468

Línea celular	**Número de copias de la diana (X10^3 por célula)**	**Tipo de cáncer**
OVCAR-3	10	Ovárico
PA-1	63	Ovárico
NCI-H292	22	Adenocarcinoma de pulmón
MDA-MB-468	43	Mama Triple negativo

[734] En las Figuras 1-4 se muestran los datos de los estudios *in vivo*. No hubo morbilidad ni

muerte durante la duración del estudio. Los mAb anti-TAA1-Fármaco-conector 4 (8) produjeron una marcada inhibición del crecimiento tumoral en comparación con el control con vehículo, y mostraron una inhibición del crecimiento tumoral significativamente más fuerte que el mAb de referencia pelidotina (4); el control no diana b12-Fármaco-conector 4 (8) no provocó una inhibición apreciable del crecimiento tumoral en comparación con el control con vehículo.

[735] Se probó el número de copias de la diana (TAA1) en células tumorales OVCAR-3, PA-1, NCI-H292 y MDA-MB-468 con QIFKIT (DAKO, K0078). En resumen, las células se marcaron con anticuerpo monoclonal primario de ratón dirigido contra el antígeno de interés. Las células, las esferas de preparación y las esferas de calibración del kit se marcaron luego en paralelo con anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con fluoresceína. Se correlacionó la fluorescencia con el número de moléculas de anticuerpos primarios unidas en las células y en las esferas. Luego se analizaron las muestras en el citómetro de flujo y se calculó el número de copias en base a la ecuación derivada de la curva de calibración (Tabla 1). Estas líneas celulares tumorales analizadas cubrieron un amplio rango relacionado de niveles de expresión de TAA1.

Ejemplo 37: Actividad *in vitro* para conjugados de Fármaco-conector 4 dirigidos hacia TAA2

[736] Se evaluó la actividad de unión de los conjugados del Fármaco-conector 4 (8) con mAb anti-TAA2 o mAb anti-TAA2 mediante análisis por citometría de flujo (Beckman, Cytoflex) con la línea celular que expresa la diana OVCAR-3. En resumen, se sembraron 3 x 10^5 células por pocillo en una placa de 96 pocillos con fondo en V y se incubaron con 100 µL de mAb o ADC en diluciones seriadas. Después de 30 minutos de incubación a 4 ºC, las células se lavaron dos veces con PBS, se tiñeron con 100 µL de anticuerpo anti-Fc humano conjugado con PE diluido 1:200 en amortiguador de pH de FACS (1 x PBS que contiene 1 % de BSA) y se incubaron a 4 ºC durante 30 minutos. Después, las células se lavaron dos veces con PBS y se analizaron mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la Figura 5.

[737] Se analizó el número de copias de la diana (TAA2) (Tabla 3) en OVCAR3 mediante QIFKIT (DAKO, K0078). El estudio se llevó a cabo como se describió anteriormente.

[738] Se evaluó *in vitro* la citotoxicidad de los conjugados de Fármaco-conector 4 (8) con mAbs anti-TAA2 (Tabla 4). En resumen, un día antes de agregar el artículo de prueba, se recolectaron las células y se sembraron en placas de 96 pocillos de fondo plano blanco sólido. Al día siguiente, las células se expusieron al artículo de prueba en concentraciones de entre 60,6 y 0,00016 nM para los conjugados de Fármaco-conector 4 con mAbs anti-TAA2 (8) y el control negativo b12-Fármaco-conector 4 (8). Se incubaron las placas a 37 ºC durante 96 h. Posteriormente, a las placas se les agregaron 40 µL de Cell-titre Glo (CTG) por pocillo. Cinco (5) minutos después se tomaron lecturas de luciferasa y se analizaron con lectores de microplacas. Todas las lecturas se normalizaron como porcentajes de células viables en los pocillos de control sin tratar y se calcularon los valores de IC_{50} con el software Prism.

[739] Tabla 2: Número de copias de TAA2 en célula tumoral OVCAR-3)

Línea celular	Número de copias de la diana (X10^3 por célula)	Tipo de cáncer
OVCAR-3	107	Ovárico

[740] Tabla 3: EC_{50} de unión de mAbs anti-TAA2 y sus conjugados

EC_{50} (nM)	mAb1	mAb1-LD343 (8)	mAb2	mAb2-LD343 (8)	b12-LD343 (8)
OVCAR-3	10.68	12.26	12.63	13.54	NA

[741] Tabla 4: IC_{50} de citotoxicidad de conjugados de Fármaco-conector D anti-con TAA2 mAbs (8)

IC_{50} (nM)	mAb1-LD343 (8)	mAb2-LD343 (8)	b12-LD343 (8)
OVCAR-3	0.00498	0.00336	NA

[742] Las células OVCAR-3 utilizadas para los ensayos tienen un alto nivel de expresión de TAA2 (Tabla 2). Los mAb anti-TAA2 y sus conjugados demostraron una fuerte actividad de unión a líneas celulares que expresan TAA2 con EC_{50} dentro del rango entre 10~14 nM (Tabla 3). Por ello, la actividad de unión de mAbs Anti-TAA2 no quedó comprometida después de la conjugación.

[743] Los conjugados de Fármaco-conector D con mAb anti-TAA2 (8) produjeron una fuerte citotoxicidad en células OVCAR3 que expresan TAA2, mientras que el control negativo b12-Fármaco-conector D (8) no ejerció citotoxicidad sobre las células OVCAR3 (Figura 6). En la Tabla 4 se muestra la IC_{50} de los ADC probados.

Ejemplo 38: Actividad antitumoral *in vivo* para conjugados de Fármaco-conector 4 dirigidos hacia TAA2

[744] Se evaluaron las actividades antitumorales *in vivo* de conjugados de Fármaco-conector 4 con Anti-TAA2 mAb (Fármaco-conector 4 con Anti-TAA2 mAb1 (8) y Fármaco-conector 4 con Anti-TAA2 mAb2 (8)) en líneas tumorales celulares NCI-H441 (Co-bioer, CBP60137, Cáncer de pulmón) y HCC4006 (ATCC, CRL-2871, Cáncer de pulmón) como modelos.

[745] Los modelos tumorales NCI-H441 y HCC4006 se establecieron inyectando 5 x 10^6 células suspendidas en 0,1 mL de medio, mezcladas con Matrigel (1:1). 5~7 días después de la inoculación del tumor, se seleccionaron ratones con un tamaño tumoral promedio de 124~178 mm^3 y se asignaron a 5 grupos usando aleatorización estratificada (n = 6 por grupo) en función de sus volúmenes tumorales. Los tratamientos comenzaron después de la aleatorización y los ratones se trataron con una única inyección intravenosa (el día 0) de Fármaco-conector 4 con Anti-TAA2 mAbs a 1,25 mg/kg, o mAb de referencia vedotin (4) a 2,5 mg/kg, o b12-Fármaco-conector 4 (8) a 1,25 mg/kg. El tamaño tumoral y el peso corporal se midieron como se describió anteriormente. Se monitoreó el peso del cuerpo de los animales como una medida indirecta de la tolerabilidad. Ningún ratón mostró una pérdida significativa de peso en ninguno de los grupos de tratamiento. No hubo morbilidad ni muertes durante la duración del tratamiento.

[746] Se probó el número de copias de la diana (Tabla 5) con QIFKIT (DAKO, K0078). El estudio se llevó a cabo según se describió anteriormente.

[747] Tabla 5: Número de copias de TAA2 en células tumorales NCI-H441 y HCC4006

Línea celular	**Número de copias de la diana (X10^3 por célula)**	**Tipo de cáncer**
NCI-H441	5	Adenocarcinoma de pulmón
HCC-4006	56	Adenocarcinoma de pulmón

[748] En comparación con el grupo de control con vehículo, ambos grupos de tratamiento con el artículo de prueba (Fármaco-conector 4 con Anti-TAA2 mAbs (8)) en dosis únicas produjeron una actividad antitumoral significativa en los modelos tumorales NCI-H441 y HCC4006, y fue más potente que el vedotin de referencia (4).

[749] En la Tabla 5, HCC-4006 tiene un nivel de expresión de TAA2 alto, mientras que el nivel de expresión de TAA2 de la diana fue bajo en NCI-H441.

Ejemplo 39: Actividad *in vitro* para conjugados de Fármaco-conector 4 dirigidos hacia TAA3

[750] Se evaluaron la actividad de unión de Fármaco-conector 4 con mAbs anti-TAA3 o mAbs anti-TAA3 (8) y la citotoxicidad de Fármaco-conector 4 con mAbs anti-TAA3 (8) con líneas celulares CFPAC-1 y PC-3 que expresan la diana. Los ensayos se llevaron a cabo como se describió anteriormente. En las Figuras 9-12 se muestran los resultados. En la Tabla 7 y la Tabla 8 se muestran, respectivamente, la EC_{50} de unión de mAbs o ADCs y la IC_{50} de citotoxicidad de los ADC.

[751] Se probó el número de copias de la diana (TAA3) en CFPAC-1 y PC-3 con QIFKIT (DAKO, K0078), el ensayo se realizó como se describió anteriormente, y los resultados se muestran en la Tabla 6.

Línea celular	**Número de copias de la diana (X10^3 por célula)**	**[752] ipo de cáncer**
CFPAC-1	135	pancreático
PC-3	21	próstata

[753] Tabla 7: La EC_{50} de unión de mAbs anti-TAA3 y sus conjugados

EC_{50} (nM)		mAb1	mAb2	mAb3
CFPAC-1	mAb	1.66	1.76	1.83
	ADC	1.68	1.68	1.69
PC-3	mAb	1.11	1.16	1.15
	ADC	0.93	0.87	0.92

[754] Tabla 8: IC_{50} de citotoxicidad de Fármaco-conector 4 con anti-TAA3 mAbs (8)

IC_{50} (nM)	mAb1-LD343 (8)	mAb2-LD343 (8)	mAb3-LD343 (8)	b12-LD343 (8)
CFPAC-1	0.09	0.06	0.04	~67.85
PC-3	0.09	0.14	0.02	~14.07

[755] El nivel de expresión de las líneas celulares (CFPAC-1 y PC-3) utilizado para los experimentos abarcó tanto el nivel de expresión alto como el bajo (Tabla 6).

[756] El conjugado de fármaco-conector 4 con Anti-TAA3 mAbs y con anti-TAA3 mAbs (8) demostró una fuerte actividad de unión a líneas celulares que expresan TAA3 con EC_{50} (Tabla 7) dentro del rango entre 0,87~1,83 nM. La actividad de unión de mAbs anti-TAA3 no quedó por ello comprometida después de la conjugación.

[757] Los Fármaco-conector 4 con mAb anti-TAA3 (8) produjeron una fuerte citotoxicidad en células CFPAC-1 y PC-3 que expresan TAA3, mientras que el control negativo b12-Fármaco-conector 4 (8) no ejerció citotoxicidad en estas células analizadas (Figura 11-12). La IC_{50} de los ADC probados estuvo dentro del rango entre 0,02~0,14 nM, y en la Tabla 8 se muestran los datos.

Ejemplo 40: Actividad antitumoral *in vivo* para conjugados de Fármaco-conector 4 dirigidos hacia TAA3

[758] Se evaluó la actividad antitumoral *in vivo* de los conjugados Fármaco-conector 4 con mAb anti-TAA3 (8) en modelos de líneas celulares que representaban niveles de expresión de la diana altos y bajos, células CFPAC-1 (Co-bioer, CBP60665, Cáncer de páncreas) y PC-3 (Co-bioer, CBP60343, Cáncer de próstata).

[759] El método de estudio se llevó a cabo como se describió anteriormente. En resumen, el modelo tumoral CFPAC-1 y PC-3 se estableció inyectando 5 x 10^6 células suspendidas en Matrigel/medio (1:1). 4~6 días después de la inoculación del tumor, se seleccionaron ratones con un tamaño tumoral promedio de 118~138 mm^3 y se asignaron a 4 o 5 grupos para cada modelo usando aleatorización estratificada (n = 5~6 por grupo) en base a sus volúmenes tumorales. Los tratamientos comenzaron después de la aleatorización y fueron con una única dosis (el día 0) mediante inyección intravenosa de los artículos de prueba a 1,25 mg/kg. El tamaño tumoral y el peso corporal se midieron como se describió anteriormente. Se monitoreó el peso del cuerpo de los animales como una medida indirecta de la tolerabilidad. Ningún ratón mostró una pérdida significativa de peso en ninguno de los grupos de tratamiento. No hubo morbilidad ni muertes durante la duración del tratamiento.

[760] En las Figuras 13 y 14 se muestran gráficos de volumen tumoral contra período de tratamiento para diferentes ADC en CFPAC-1 y PC-3 respectivamente. En comparación con el control con vehículo, el tratamiento con Fármaco-conector 4 con mAb anti-TAA3 (8) en una única dosis demostró una actividad antitumoral significativa en el modelo de tumor PC-3, y una actividad modesta en el modelo CFPAC-1.

[761] las patentes de los EEUU, las publicaciones de solicitudes de patentes de los EEUU, las

solicitudes de patentes de los EEUU, las patentes extranjeras, las solicitudes de patentes extranjeras y las publicaciones distintas de patentes citadas en esta Descripción o en la Hoja de Datos de la Solicitud adjunta que se incorporan por completo en la presente a modo de referencia, hasta un grado que no sea inconsistente con la presente descripción.

[762] A partir de lo anterior, se podrá apreciar que, aunque en la presente se han descrito formas de realización específicas de la invención con fines ilustrativos, es posible realizar diversas modificaciones sin apartarse del espíritu y el alcance de la invención. Por lo tanto, la invención no es limitada, excepto por las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

SEQ ID NO: 1
GGGGS

SEQ ID NO: 2
GGGGSGGGGS

SEQ ID NO: 3
GGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO: 4
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO: 5
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO: 6 cadena pesada de IgG1 humano UniProt P01857-1
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP
KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS
HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK
EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC
LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW
QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 7 cadena liviana de Kappa humano UniProt P01834-1
RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
SFNRGEC

SEQ ID NO: 8 hexa-histidina
HHHHHH

SEQ ID NO: 9
LPXTG