



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112016016490-3 B1

(22) Data do Depósito: 14/01/2015

(45) Data de Concessão: 15/08/2023

(54) Título: COMPOSTOS DE AGENTES CITOTÓXICOS BIFUNCIONAIS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS REFERIDOS COMPOSTOS E USOS DOS MESMOS

(51) Int.Cl.: C07D 487/04; A61K 31/407; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 05/09/2014 US 62/046,685; 27/01/2014 US 61/932,118.

(73) Titular(es): PFIZER INC..

(72) Inventor(es): ANDREAS MADERNA; MATTHEW DAVID DOROSKI; ZECHENG CHEN; HUD LAWRENCE RISLEY; JEFFREY MICHAEL CASAVANT; CHRISTOPHER JOHN O'DONNELL; ALEXANDER M. PORTE; CHAKRAPANI SUBRAMANYAM.

(86) Pedido PCT: PCT IB2015050280 de 14/01/2015

(87) Publicação PCT: WO 2015/110935 de 30/07/2015

(85) Data do Início da Fase Nacional: 15/07/2016

(57) Resumo: AGENTES CITOTÓXICOS BIFUNCIONAIS. A presente invenção refere-se a dímeros citotóxicos compreendendo subunidades baseadas em CBI e/ou baseadas em CPI, conjugados de anticorpo fármaco compreendendo tais dímeros e a métodos para usar os mesmos para tratar o câncer e outras condições.

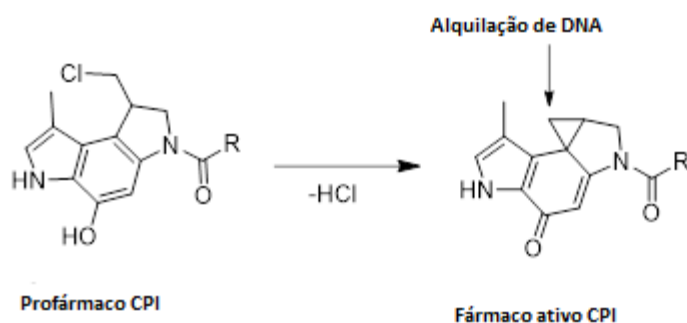
Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**"COMPOSTOS DE AGENTES CITOTÓXICOS BIFUNCIONAIS,
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO OS
REFERIDOS COMPOSTOS E USOS DOS MESMOS".**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção se refere a novos dímeros bifuncionais CBI e CPI úteis para o tratamento de doenças proliferativas. Os dímeros podem funcionar como fármacos autônomos, cargas nos conjugados anticorpo-fármaco (ADCs) e compostos ligantes de carga úteis na conexão com a produção ou administração de tais ADCs. A presente invenção se refere a composições incluindo os dímeros supramencionados, compostos ligantes de carga e ADCs e os métodos para usar estes dímeros, ligante-cargas e ADCs para tratar condições patológicas incluindo o câncer.

HISTÓRICO

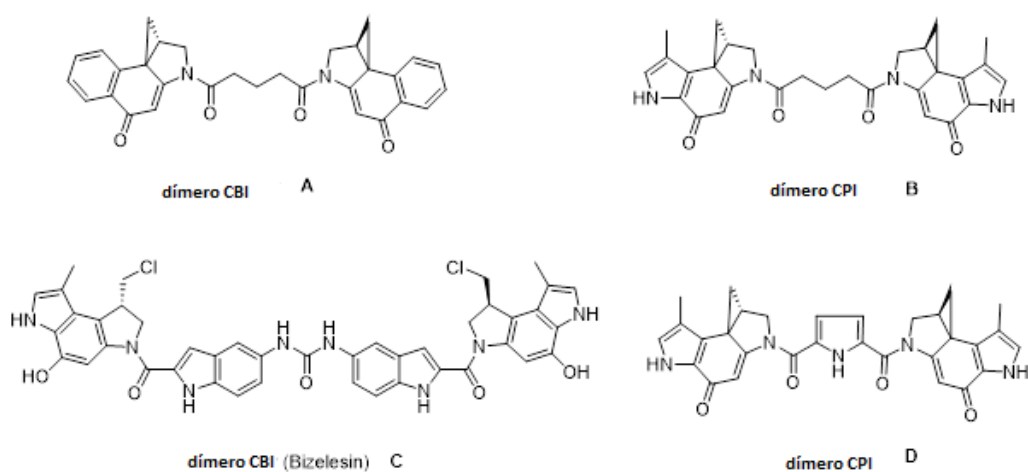
[002] Os monômeros baseados em CPI foram objeto de recentes publicações. Por exemplo, os compostos (+)-CC-1065 e as duocarmicinas são produtos naturais isolados a partir do caldo de cultura das espécies de *Streptomyces*, que mostraram ter uma atividade ultrapotente contra células cancerígenas de cultura e em animais experimentais. (+)-Yatakemicina foi isolada de *Streptomyces* sp. e representa o membro mais potente desta classe de produtos naturais. Acredita-se que a atividade biológica destes produtos naturais está relacionada a uma alquilação de DNA seletiva de sequência característica de adenina N3 em sítios ricos em AT através do carbono menos substituído do ciclopropano ativado. Acredita-se que este ligante de sulco menor inicia uma cascata de eventos celulares que levam à apoptose conforme é observada para as duocarmicinas ("Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065 and the Duocarmycin Natural Products", Current Topics in



[003] A forma do profármaco de CPI se converte nas espécies de fármaco ativo no meio biológico através de uma reação de ciclização intramolecular. (O termo "CPI" é derivado do nome químico: 1,2,8,8a-tetra-hidrociclopropa[c]pirrolo[3,2-e]indol-4(5H)-ona). O profármaco de CPI se converte assim em uma espécie de um fármaco ativo através de uma reação de ciclização intramolecular. Os precursores sintéticos de fenol (forma de profármaco) possuem propriedades biológicas indistinguíveis (eficiência e seletividade na alquilação de DNA, atividade citotóxica in vitro, atividade antitumor in vivo) em comparação com os próprios derivados de ciclopropano (forma ativa) ("Design, Synthesis, and Evaluation of Duocarmycin O-Amino Phenol Prodrugs Subject to Tunable Reductive Activation", J. Med. Chem. 2010, 53, 7731–7738). Em outras palavras, não importa se a ogiva de CPI está em sua forma ciclopropanada ativa ou em sua forma de profármaco. É importante observar que nestes compostos apenas um motivo de CPI está presente, por conseguinte estes compostos agem como monoalquiladores de DNA. Vários outros análogos sintéticos das estruturas de CPI foram subsequentemente desenvolvidas, isto é aquelas mostradas em ("Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065 and the Duocarmycin Natural Products", Current Topics in Medicinal Chemistry, 2009, 9, 1494-1524). De nota nesta referência estão os análogos sintéticos CBI, Cpzl, CFI, CI e CBQ. Os análogos de duocramicina monoalquilantes foram extensivamente estudados em estudos pré-

clínicos e clínicos ("Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065 and the Duocarmycin Natural Products, Current Topics in Medicinal Chemistry, 2009, 9, 1494-1524).

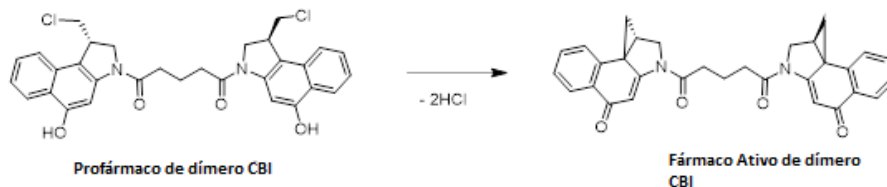
[004] Uma classe separada, porém, relacionada de compostos são análogos bifuncionais que contêm dois motivos de alquilação de DNA ativos (isto é, um CPI). Estes compostos são diferentes das duocarmicinas no fato delas carecerem da porção dentro das duocarmicinas, que funciona como os motivos de reconhecimento de DNA. Em oposição, estes compostos bifuncionais simplesmente contêm dois motivos de alquilação (isto é, dois motivos CPI) fundidos em conjunto. Devido à presença de dois motivos de alquilação reativos, estes compostos são reticuladores de DNA ativos, enquanto que os compostos com apenas um motivo de alquilação (todas as duocarmicinas) são apenas monoalquiladores de DNA.



[005] Os compostos mostrados acima são exemplos representativos da literatura e são retratados como potentes citotoxinas: **A** ("Glycosidic Prodrugs of Highly Potent Bifunctional Duocarmycin Derivatives for Selective Treatment of Cancer", Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 7336 –7339; "Duocarmycin Analogues Target Aldehyde Dehydrogenase 1 in LungCancer Cells", Angew. Chem. Int. Ed. 2012,

51, 2874 –2877; "Bifunctional prodrugs and drugs", WO 2011/054837, DE 10 2009 051 799; "The Two Faces of Potent Antitumor Duocarmycin-Based Drugs: A Structural Dissection Reveals Disparate Motifs for DNA versus Aldehyde Dehydrogenase 1 Affinity", *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 1–6. **B** ("Interstrand DNA Cross-linking with Dimers of the Spirocyclopropyl Alkylating Moiety of CC- 1065", *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 6428-6429; "CC-1065 analogs having two CPI subunits useful as antitumor agents and ultraviolet light absorbers", *Eur. Pat. Appl.* (1990), EP 359454, also for compounds **C** and **D**; **C** ("Synthesis and DNA Cross-Linking by a Rigid CPI Dimer", *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 8994-8995; "Nucleotide Preferences for DNA Interstrand Cross-Linking Induced by the Cyclopropylpyrroloindole Analogue U-77,779", *Biochemistry* 1993, 32, 2592-2600; "Determination of the Structural Role of the Internal Guanine-Cytosine Base Pair in Recognition of a Seven-Base-Pair Sequence Cross-Linked by Bizelesin", *Biochemistry* 1995, 34, 11005-11016; "Analysis of the Monoalkylation and Cross-Linking Sequence Specificity of Bizelesin, a Bifunctional Alkylation Agent Related to (+)-CC- 1065", *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 5925-5933; "Mapping of DNA Alkylation Sites Induced by Adozelesin and Bizelesin in Human Cells by Ligation-Mediated Polymerase Chain Reaction", *Biochemistry* 1994, 33, 6024-6030; "DNA Interstrand Cross-Links Induced by the Cyclopropylpyrroloindole Antitumor Agent Bizelesin Are Reversible upon Exposure to Alkali", *Biochemistry* 1993, 32, 9108-9114; "Replacement of the Bizelesin Ureadiyl Linkage by a Guanidinium Moiety Retards Translocation from Monoalkylation to Cross-Linking Sites on DNA", *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 3434-3442; "DNA interstrand cross-linking, DNA sequence specificity, and induced conformational changes produced by a dimeric analog of (+)-CC-1065", *Anti-Cancer Drug Design* (1991), 6, 427-452; "A phase I study of bizelesin, a highly potent and selective DNA interactive agent,

in patients with advanced solid malignancies", *Ann Oncol.* 2003 May;14(5):775-782; "A Phase I study of bizelesin (NSC 615291) in patients with advanced solid tumors", *Clin Cancer Res.* 2002, 3, 712-717; "Solution conformation of a bizelesin A-tract duplex adduct: DNA-DNA cross-linking of an A-tract straightens out bent DNA", *J Mol Biol.* 1995, 252, 86-101; "Preclinical pharmacology of bizelesin, a potent bifunctional analog of the DNA-binding antibiotic CC-1065", *Cancer Chemother Pharmacol.* 1994, 34, 317-322. **D** ("CC-1065 analogs having two CPI subunits useful as antitumor agents and ultraviolet light absorbers", *Eur. Pat. Appl.* (1990), EP 359454. O motivo de alquilação de DNA ativo pode existir em princípio tanto em uma forma de profármaco que se converte no fármaco ativo no meio biológico ou em seu estado ativo que não necessita de conversão adicional. A conversão profármaco em fármaco ativo para os reticulantes bifuncionais é exemplificada com o dímero de CBI mostrado abaixo:



[006] A mesma conversão acontece para todos os reticulantes bifuncionais que existem em seus estados de profármaco. Outros reticulantes bifuncionais relacionados foram relatados. ("Chemical and Biological Explorations of the Family of CC-1065 and the Duocarmycin Natural Products", *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2009, 9, 1494-1524; "DNA interstrand cross-linking agents and their chemotherapeutic potential", *Curr Med Chem.* 2012,19, 364-385; "Design and Synthesis of a Novel DNA-DNA Interstrand Adenine-Guanine Cross-Linking Agent", *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 4865-4866; "Effect of base sequence on the DNA cross-linking properties of pyrrolobenzodiazepine (PBD) dimers", *Nucleic Acids Res.* 2011, 39, 5800-5812; "Se-

quence-selective recognition of duplex DNA through covalent inter-strand cross-linking: kinetic and molecular modeling studies with pyrrolobenzodiazepine dimers", *Biochemistry*. 2003, 42, 8232-8239; "Bifunctional alkylating agents derived from duocarmycin SA: potent anti-tumor activity with altered sequence selectivity", *Bioorg Med Chem Lett*. 2000, 10, 495-498; "Design, Synthesis and Cytotoxicity Evaluation of 1-Chloromethyl-5-hidroxi-1,2-dihydro-3H-benz[e]indole (seco-CBI) Dimers", *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2000, 8, 1607-1617.

[007] Uma estratégia profármaco de fosfato para o seco-CBI monomérico contendo as citotoxinas foi descrita por Zhao e outros, ("Synthesis and biological evaluation of antibody conjugates of phosphate prodrugs of cytotoxic DNA alkylators for the targeted treatment of cancer", *J. Med. Chem.* 2012, 55, 766–782) e Zhang e outros, ("Immunoconjugates containing phosphate-prodrugged DNA minor groove binding agents, compositions containing them, and métodos of making them and their use for treating cancer", WO 2012/162482).

[008] Nenhum dos compostos mencionados acima, os quais têm núcleos de CBI e/ou CPI ligados em conjunto para formar uma espécie dimérica (os assim chamados dímeros CBI, dímeros CPI ou dímeros CBI/CPI) foram considerados para uso em conjugados de fármaco de anticorpo (ADCs) como uma carga.

[009] A conjugação de fármacos nos anticorpos, tanto diretamente ou através de ligantes, envolve uma consideração de uma variedade de fatores, incluindo a identidade e a localização do grupo químico para a conjugação do fármaco, o mecanismo da liberação do fármaco, os elementos estruturais provendo a liberação do fármaco e a modificação estrutural do fármaco livre liberado. Além disso, se o fármaco deve ser liberado depois da internalização do anticorpo, o mecanismo de liberação do fármaco deve ser consoante com o tráfego intracelular do conjugado.

[0010] Embora uma variedade de diferentes classes de fármaco tenha sido testada para a liberação por anticorpos, apenas poucas classes de fármacos provaram ser eficazes como conjugados de fármaco de anticorpo enquanto mantêm um perfil de toxicidade adequado. Uma tal classe é a de auristatinas, derivadas do produto natural dolastatina 10. As auristatinas representativas incluem (N-metilvalina-valina-dolaisoleucina-dolaproina-norefedrina) e (N-metilvalina-valina-dolaisoleucina-dolaproina-fenilalanina). Outros agentes de ligação de tubulina relacionados incluem as maitansinas (por exemplo, veja "Cell-binding agent-maytansinoid conjugates linked via a noncleavable linker, preparation métodos, and métodos using them for targeting specific cell populations" publicado como WO 2005/037992). Outros fármacos citotóxicos que foram empregados em ligação com anticorpos incluem fármacos de ligação ao DNA tal como caliqueamicina que proporciona a clivagem do DNA de filamento duplo específico da sequência. Uma outra classe de fármacos citotóxicos de ligação ao DNA empregada nos ADCs inclui as pirrolbenzodiazepinas diméricas (por exemplo, veja "Preparation of unsymmetrical pirrolbenzodiazepinas dimers for inclusion in targeted conjugates" publicado como WO2013/041606). Uma outra dita classe de fármacos onde a liberação de anticorpos foi testada é a de agentes alquilantes de ligação ao DNA, tal como o análogo de duocarmicina CC-1065 (veja "Preparation of CC-1065 analogs and their conjugates for treatment of cancer" publicado como WO2010/062171) e compostos relacionados (veja "Antibody-drug peptide conjugates for use as cytotoxins in cancer treatment" publicado como WO 2007/038658 e "Immunoconjugates containing phosphate-prodrugged DNA minor groove binding agents, compositions containing them, and métodos of making them and their use for treating cancer" publicado como WO2012/162482). No entanto, estes fármacos têm todas as limitações que se referem a indicações

da doença e perfil de tratamento e assim permanece uma necessidade por fármacos adicionais com propriedades melhoradas que podem ser liberadas através da conjugação do anticorpo. Consequentemente, a presente invenção provê novos ADCs com dímeros como cargas.

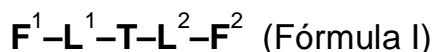
SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0011] A invenção descreve novos análogos de dímero estruturais que contêm novos elementos ligantes. Estes novos motivos espaçadores levam a compostos com diferentes propriedades biológicas, por exemplo, atividades melhoradas nos testes de proliferação de célula tumoral e estabilidades do plasma. Esta invenção também descreve novos elementos espaçadores para os dímeros CPI correspondentes e estruturas mistas de CBI-CPI.

[0012] Além disso, a presente invenção é a primeira a revelar que estes ditos compostos em conexão com um ADC em uma modalidade e incorporar estes compostos dentro de um ADC direcionado é um avanço significativo.

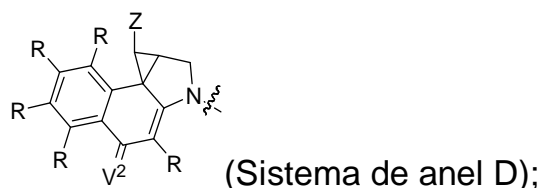
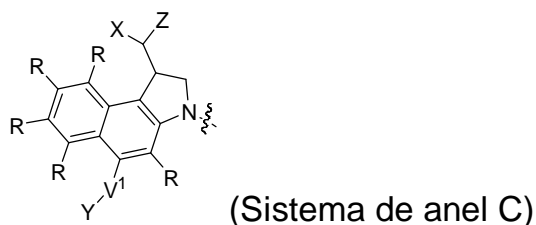
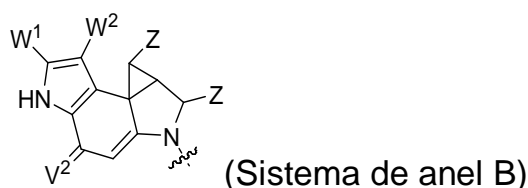
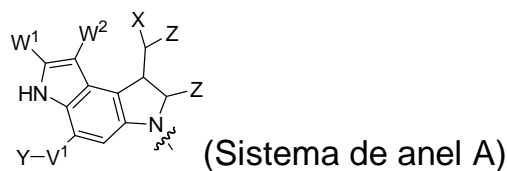
[0013] A presente invenção se refere a dímeros citotóxicos compreendendo subunidades com base em CBI e/ou CPI (incluindo as formas seco de CBI e/ou CPI, conforme detalhado no presente documento), aos conjugados de fármaco de anticorpo compreendendo ditos dímeros e aos métodos para usar os mesmos para tratar o câncer. Ambas as estruturas de CBI e CPI podem ser representadas por sua forma seco e podem ser substituídas e derivadas conforme detalhado no presente documento.

[0014] Sendo assim, a presente invenção se refere aos compostos e composições farmacêuticas contendo eles, a sua preparação e aos usos para os compostos, primariamente, porém não exclusivamente agentes anticâncer. De acordo com um aspecto, a presente invenção se refere ao composto "carga" de Fórmula I



ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo, em que:

[0015] F^1 e F^2 são um independentemente selecionado a partir de sistemas de anel A, B, C e D:



[0016] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_2-C_6$ alquenila, $-C_2-C_6$ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, $-NH_2$, $-NH(C_1-C_8 \text{ alquila})$, $-N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-NO_2$, $-C_6-C_{14}$ arila e $-C_6-C_{14}$ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se unem para formar um anel ou anéis, e em que a dita $-C_6-C_{14}$ arila e $-C_6-C_{14}$ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ alquila, $-C_1-C_{10}$ alcóxi, -halo, $-C_1-C_{10}$ alquiltio, -trifluorometila, $-NH_2$, $-NH(C_1-C_8 \text{ alquila})$, $-N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C_1-C_{10}$ alquil- $-N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C_1-C_3$ alquiltio, $-NO_2$ ou $-C_1-C_{10}$ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

[0017] cada V^1 é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

[0018] cada V^2 é independentemente O, N(R) ou S, para cada sis-

tema de anel no qual V^2 aparece;

[0019] W^1 e W^2 são cada um independentemente H, $-C_1-C_5$ alquila, -fenila, $-C(O)OR$, $-C(O)SR$, $-C(O)NHN(R)_2$ ou $-C(O)N(R)_2$ para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

[0020] cada X é independentemente -OH, -O-acila, azido, halo,

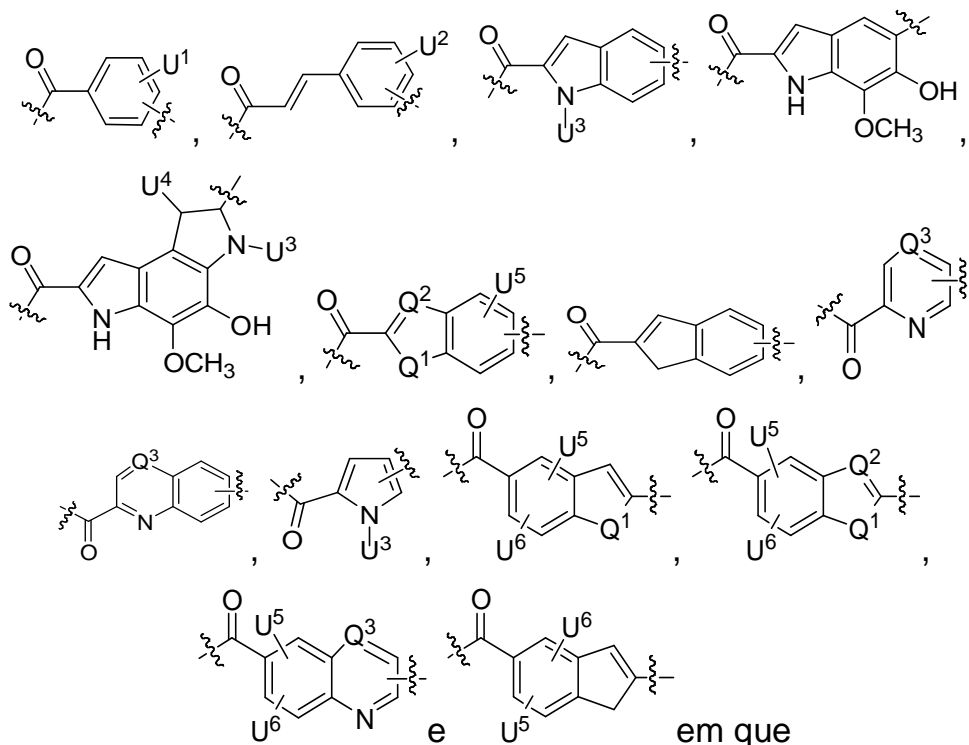
cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---O---S---R} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$, para cada sistema de anel no qual X aparece;

[0021] cada Y é independentemente selecionado a partir de do grupo consistindo em H, $-C_1-C_6$ alquil- R^A , $-C(O)R^A$, $-C(S)R^A$, $-C(O)OR^A$, $-S(O)_2OR^A$, $-C(O)N(R^A)_2$, $-C(S)N(R^A)_2$, glicosila, $-NO_2$ e $-PO(OR^A)_2$, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquil $N(R)_2$, em que a dita $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquil $N(R)_2$ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[0022] cada Z é independentemente selecionado a partir de do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)NHNH_2$ e $-C(O)$ -halo, e em que a dita C_1-C_8 alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)NHNH_2$ e $-C(O)$ -halo são cada uma opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

[0023] L^1 e L^2 são, cada independentemente, selecionados a partir

de uma ligação direta, carbonila ou um grupo carbonil acila ligado a F¹ ou F² na porção acila, onde o grupo carbonil acila é selecionado a partir do grupo consistindo em:



[0024] U¹ é selecionado a partir de H, -CH₃, -OH, -OCH₃, -NO₂, -NH₂, -NHNHAc, -NHNHC(O)CH₃, -NHC(O)fenila ou -halo,

[0025] U² é H, -OH ou -OCH₃,

[0026] U³ é H, -CH₃ ou -C₂H₅,

[0027] U⁴ é H ou CH₃S-,

[0028] U⁵ e U⁶ são, cada um independentemente selecionado a partir de H, -halo, -C₁-C₄ alquila, -C₁-C₃ alcóxi, -C₁-C₆ dialquilamino, -NO₂, -NHC(O)C₁-C₁₀ alquila, -OH, -NH₂, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)CH₃ ou -NHC(O)fenila,

[0029] Q¹ é -O-, -S- ou -NH-, e

[0030] Q² e Q³ são cada um independentemente -CH- ou -N-;

[0031] T é selecionado a partir de:

[0032] -NHC(O)-,

[0033] -C(O)NH-,

[0034] -C(O)O-,

[0035] -OC(O)-,

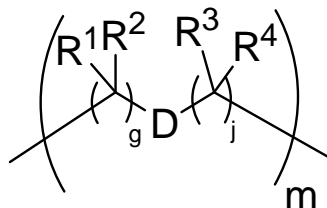
[0036] -NR^B-T¹-NR^C- onde R^B e R^C são cada um independentemente H ou -C₁-C₈ alquila ou em conjunto R^B e R^C se unem para formar um anel e juntos são (CH₂)₂₋₃, onde T¹ é selecionado a partir de -C(O)-, -C(O)(CH₂)_nC(O)- onde n é um número inteiro a partir de 0 a 50, -C(O)PhC(O)- onde Ph é 1,3- ou 1,4-fenileno,

[0037] -C(O)hetC(O)- em que het é uma heteroarila mono-, bi- ou tricíclica de 5 a 12 membros, contendo um, dois ou três heteroátomos independentemente selecionados a partir de O, N, S, P e B, em que het é opcionalmente substituído com 1 a 8 substituintes cada um independentemente selecionado a partir de do grupo consistindo em -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -NH₂, -NHR^D e -NO₂ e ditos substituintes opcionais em het são opcionalmente substituídas com R^E, onde pelo menos um de F¹ e F² é selecionado a partir de do grupo consistindo em sistema de anel C e sistema de anel D quando T é -C(O)hetC(O)-,

[0038] Em que cada R^D é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C(O)-C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂ e -C(O)-halo, opcionalmente substituído com R^E,

[0039] Em que cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂ e -C(O)-halo e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R,

[0040] $-C(A^1)X^1-T^2-X^1C(B^1)-$, onde T^2 é:



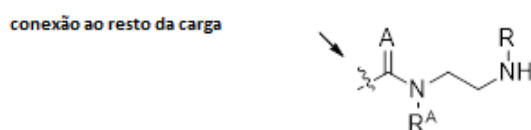
[0041] Em que cada X^1 é independentemente uma ligação, $-NR^E$ -, $-O$ - ou $-S$ -, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente $=O$ ou $=S$, em que R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um independentemente R^E ou R^1 e R^2 forma um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel ou ambos R^1 e R^2 e R^3 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel, ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel,

[0042] Onde os ditos sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila ou R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um ligações a diferentes carbonos em D, em que g e j são cada um independentemente um número inteiro a partir de 0 a 50 e m é um número inteiro a partir de 1 a 50 e em que D é uma ligação ou é selecionado a partir de do grupo consistindo em $-S$ -, $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_8$ heteroalquileno-, $-aralquileno$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo, onde o dito $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_8$ heteroalquileno-, $-aralquileno$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo são opcionalmente substituídos com $-R^E$, $-C(O)R^E$, $-C(O)OR^E$, $-N(R^E)_2$, $-N(R)C(O)R^E$ ou $-N(R)C(O)OR^E$ e D é adicionalmente opcionalmente substituído por 1 a 2 R, com a condição de que se g é 0, j é 0 e T^2 é $-C_1-C_8$ alquileno-, então um de F^1 e F^2 é selecionado a partir de do grupo consistindo em sistema de anel A e sistema de anel B e o outro de F^1 e F^2 é selecionado a partir de do grupo consistindo em sistema de anel C e sistema de anel D, e $-G^1-T^2-G^2$ -, onde G^1 e G^2 são cada um

te $-S(O)X^1-$ ou $-S(O)_2X^1-$.

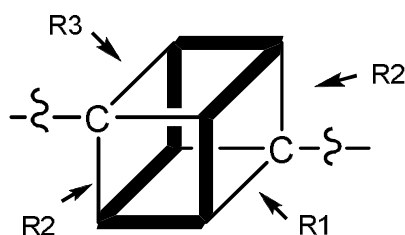
[0043] Em modalidades da invenção, o n variável é 0 a 50, preferencialmente 0 a 25, preferencialmente 0 a 10 e preferencialmente 1-5. Preferencialmente, o n variável pode ser 0, 1, 2, 3, 4 ou 5.

[0044] Em outras modalidades da invenção, o -Y- variável é $C(O)N(R^A)_2$ ou $C(S)N(R^A)_2$ onde um R^A é hidrogênio ou $-C_1-C_{20}$ alquila e o outro R^A é $-C_1-C_{20}$ alquil- $N(R)_2$, de modo que a estrutura:



[0045] é formada, onde A é oxigênio ou enxofre.

[0046] Conforme observado acima, as modalidades da presente invenção incluem aquelas onde R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada uma as ligações em diferentes carbonos em D. Quando D é um anel carbocíclico de 6 membros (**negrito, abaixo**), esta modalidade pode tomar a forma de um cubano:



[0047] Outras formas de cubanos (por exemplo, formas substituídas como as exemplificadas no presente documento) e não cubanos também são possíveis e incluídas dentro da invenção.

[0048] De acordo com um outro aspecto da invenção, é provido um composto "carga reticulante" de Fórmula IIA:

L-P (Fórmula IIA)

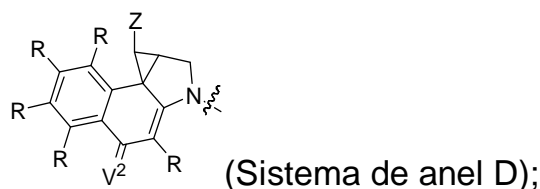
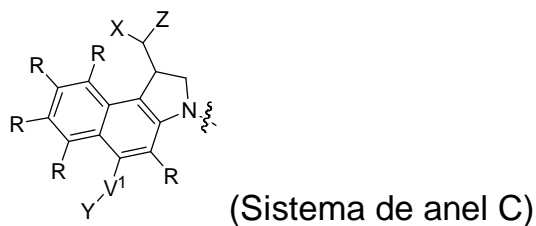
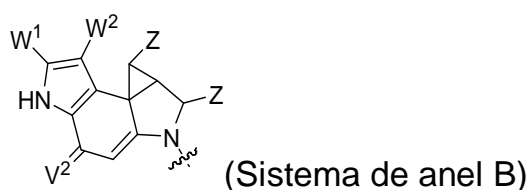
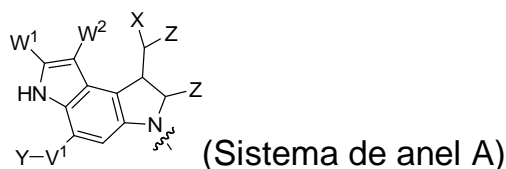
[0049] ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo, em que:

[0050] P é:



[0051] em que:

[0052] F^1 e F^2 são um independentemente selecionado a partir de sistemas de anel A, B, C e D:



[0053] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_2-C_6$ alquenila, $-C_2-C_6$ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, $-NH_2$, $-NH(C_1-C_8 \text{ alquila})$, $-N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-NO_2$, $-C_6-C_{14}$ arila e $-C_6-C_{14}$ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se unem para formar um anel ou anéis, e em que a dita $-C_6-C_{14}$ arila e $-C_6-C_{14}$ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 to 5 substituintes independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ alquila, $-C_1-C_{10}$ alcóxi, -halo, $-C_1-C_{10}$ alquiltio, -trifluorometila, $-NH_2$, $-NH(C_1-C_8 \text{ alquila})$, $-N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C_1-C_{10}$ alquil- $-N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C_1-C_3$ alquiltio, $-NO_2$ ou $-C_1-C_{10}$ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece:

[0054] cada V^1 é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S,

para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

[0055] cada V^2 é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V^2 aparece;

[0056] W^1 e W^2 são cada um independentemente H, $-C_1-C_5$ alquila, -fenila, $-C(O)OR$, $-C(O)SR$, $-C(O)NHN(R)_2$ ou $-C(O)N(R)_2$ para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

[0057] cada X é independentemente selecionado a partir de -OH, -O-acila, azido, halo, cianato, tiocianato, isocianato, tioisocia-

nato, ou $\xi-O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{\underset{\underset{O}{\parallel}}{S}}-R$ para cada sistema de anel no qual X aparece;

[0058] cada Y é independentemente selecionado a partir de uma ligação,

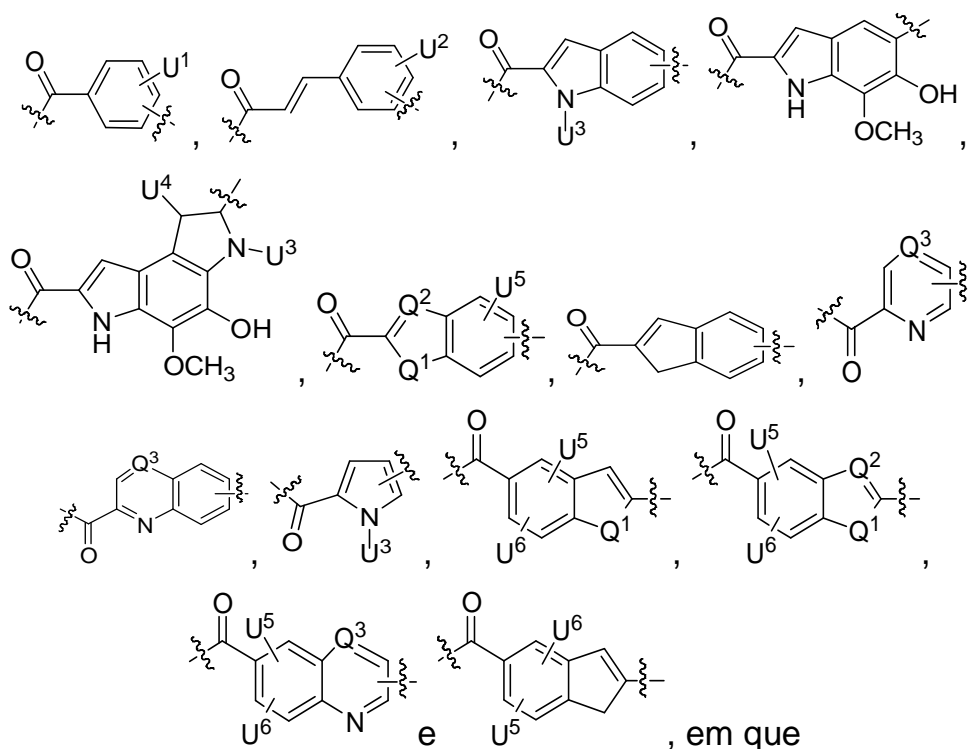
H, $-C(O)R^A$, $-C(S)R^A$, $-C(O)OR^A$, $-S(O)_2OR^A$, $-C(O)N(R^A)_2$, $-C(S)N(R^A)_2$, glicosila, $-NO_2$ e $-P(O)(OR^A)_2$ para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir de H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)₂, $-C_1-C_{20}$ alquileno, $-C_1-C_8$ heteroalquileno, $-C_6-C_{14}$ arileno, aralquileno, $-C_1-C_{10}$ heterociclo, $-C_3-C_8$ carbociclo e $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)- e R^F onde o dito R^A é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R e em que um Y é divalente e é ligado ao L,

[0059] R^F é $-N(R^6)QN(R^5)C(O)-$ e é ligado ao L na carbonila adjacente N(R⁵), em que R^5 e R^6 são, cada um independentemente, selecionados a partir de do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila e $-C_3-C_8$ carbociclila, ou R^5 ou R^6 se unem com um carbono substituído em Q para formar um anel $-C_1-C_{10}$ heterocíclico ou anel $-C_6-C_{14}$ heteroarila ou R^5 e R^6 se unem em conjunto para formar um sistema de anel $-C_1-C_{10}$ heterocíclico ou $-C_6-C_{14}$ heteroarila e onde Q é $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_1-C_8$ heteroalquileno-, $-C_6-C_{14}$

no-, -aralquilen-, -C₁-C₁₀ heterociclo- ou -C₃-C₈ carbociclo-, em que Q, R⁵ e R⁶ são cada um independentemente opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[0060] cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ ari-la, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ al-quila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, -C(O)OH, -C(O)NHNH₂ e -C(O)-halo, e em que a dita C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ ari-la, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ al-quila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, -C(O)OH, -C(O)NHNH₂ e -C(O)-halo são cada um opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes indepen-dentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

[0061] L¹ e L² são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta, carbonila, ou um grupo carbonil acila liga-do ao F¹ ou F² na porção acila, onde o grupo carbonil acila é selecio-nado a partir do grupo consistindo em:



[0062] U¹ é selecionado a partir de

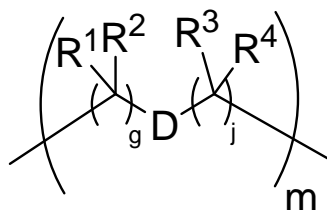
- H, -CH₃, -OH, -OCH₃, -NO₂, -NH₂, -NHNHAc, -NHNHC(O)CH₃,
 [0063] -NHC(O)fenila ou -halo,
 [0064] U² é H, -OH ou -OCH₃,
 [0065] U³ é H, -CH₃ ou -C₂H₅,
 [0066] U⁴ é H ou CH₃S-,
 [0067] U⁵ e U⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir de H, -halo, -C₁-C₄ alquila, -C₁-C₃ alcóxi, -C₁-C₆ dialquilamino, -NO₂, -NHC(O)C₁-C₁₀ alquila, -OH, -NH₂, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)CH₃ ou -NHC(O)fenila,
 [0068] Q¹ é O, S ou NH, e
 [0069] Q² e Q³ são cada um independentemente -CH- ou -N-;
 [0070] T é selecionado a partir de:
 [0071] -NHC(O)-,
 [0072] -C(O)NH-,
 [0073] -C(O)O-,
 [0074] -OC(O)-,
 [0075] -NR^B-T¹-NR^C- onde R^B e R^C são cada um independentemente H ou -C₁-C₈ alquila ou em conjunto R^B e R^C se unem para formar um anel e em conjunto são (CH₂)₂₋₃, onde T¹ é selecionado a partir de -C(O)-, -C(O)(CH₂)_nC(O)- onde n é um número inteiro a partir de 0 a 50, -C(O)PhC(O)- onde Ph é 1,3- ou 1,4-fenileno,
 [0076] -C(O)hetC(O)- em que het é uma heteroarila mono-, bi- ou tricíclica de 5 a 12 membros, contendo um, dois ou três heteroátomos independentemente selecionados a partir de O, N, S, P e B, onde het é opcionalmente substituído com 1 a 8 substituintes cada um independentemente selecionado a partir de do grupo consistindo em -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterocíclica, -C₃-C₈ carbocíclica, -NH₂, -NHR^D e -NO₂, e ditos substituintes opcionais em het são opcionalmente substituídos com R^E, onde pelo menos um de F¹ e F² é selecionado a partir de do grupo consistindo do siste-

ma de anel C e sistema de anel D quando T é -C(O)hetC(O)-,

[0077] em que cada R^D é independentemente selecionado a partir de do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C(O)-C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂ e -C(O)-halo, opcionalmente substituídos com R^E ,

[0078] em que cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂ e -C(O)-halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R,

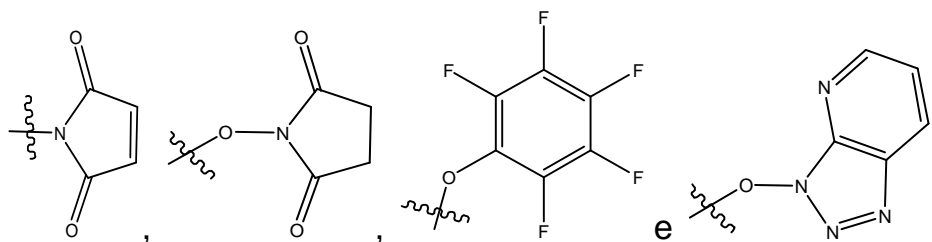
[0079] -C(A¹)X¹-T²-X¹C(B¹)-, onde T² é:



[0080] em que cada X^1 é independentemente uma ção, -NR^E-, -O- ou -S-, em que A¹ e B¹ são cada um independentemente =O ou =S, em que R¹, R², R³ e R⁴ são cada um independentemente R^E ou R¹ e R² formam um sistema de anel, ou R³ e R⁴ formam um sistema de anel ou ambos R¹ e R², e R³ e R⁴, cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R¹ e R³ formam um sistema de anel, ou R² e R⁴ formam um sistema de anel, ou ambos R¹ e R³, e R² e R⁴, cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os ditos sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ heterociclila ou -C₃-C₈ carbociclila, ou R¹, R², R³ e R⁴ são, cada um, ligações a diferentes carbonos em D, em que g e j são cada um independentemente um número inteiro a partir de 0 a 50 e m é um número inteiro a partir de 1 a 50, e em que D é uma ligação ou é selecionado a

partir do grupo consistindo em $-S-$, $-C_1-C_8$ alquilenos-, $-C_6-C_{14}$ arilenos-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilenos-, $-C_1-C_8$ heteroalquilenos-, $-aralquilenos$, $-C_1-C_{10}$ heterociclos e $-C_3-C_8$ carbociclos, onde os ditos $-C_1-C_8$ alquilenos-, $-C_6-C_{14}$ arilenos-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilenos-, $-C_1-C_8$ heteroalquilenos-, $-aralquilenos$, $-C_1-C_{10}$ heterociclos e $-C_3-C_8$ carbociclos são opcionalmente substituídos com $-R^E$, $-C(O)R^E$, $-C(O)OR^E$, $-N(R^E)_2$, $-N(R)C(O)R^E$ ou $-N(R)C(O)OR^E$ e D é adicionalmente opcionalmente substituído por 1 a 2 R, e $-G^1-T^2-G^2-$, onde G^1 e G^2 são cada um independentemente $-S(O)X^1-$ ou $-S(O)_2X^1-$;

[0081] L é $L^A-L^B-(L^C)_{1-3}$, em que L^A é selecionado a partir de do grupo consistindo em $-halo$, $-N(R)_2$, $-CON(R)_2$, $-S$ -arila opcionalmente substituída com $-NO_2$ ou $-CON(R)_2$, $-S$ -heteroarila opcionalmente substituída com $-NO_2$, $alquil-SO_2$ -heteroarila, $arilSO_2$ -heteroarila-,



[0082] L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$ em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionados a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-$, $-C(O)NRC_1-C_6alquil-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)C_1-C_6alquilNRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-C(O)-$, $-C_1-C_6alquil-S-S-C_1-C_6alquil-$, $INRC(O)CH_2-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)CH_2-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-NRC(O)C_1-C_6alquil-$, $-N=CR$ -fenil- $O-C_1-C_6alquil-$, $-N=CR$ -fenil- $O-C_1-C_6alquil-C(O)-$, $-C(O)-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6alquil$ -fenil($NRC(O)C_1-C_6alquila$) $_{1-4}-$, $-C(O)C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-NRC(O)C_1-C_6alquil-$, $-C_1-C_6alquil-$, $-S-$, $-C(O)-CH(NR-C(O)C_1-C_6alquil)-C_1-C_6alquil-$ e $(-CH_2-CH_2-O-)_{1-20}$,

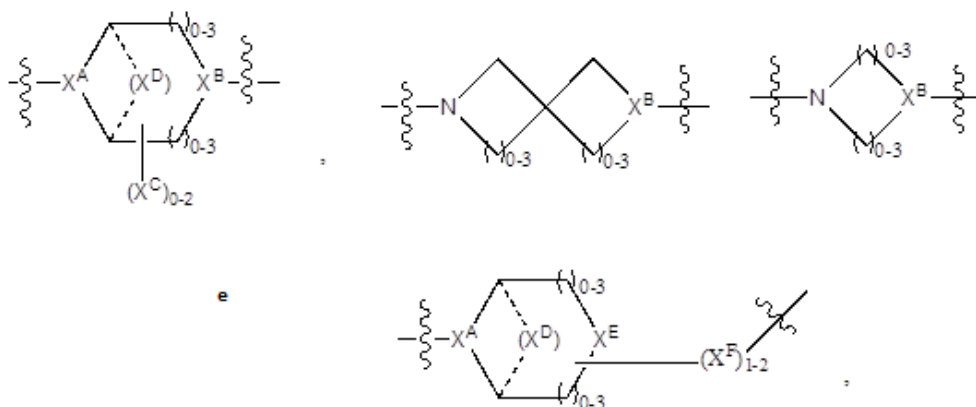
[0083] em que L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural ou $-(CR^{15})_o-S-S-(CR^{15})_p$ onde o e p são cada um independentemente um número inteiro a partir de 1 a 20,

[0084] L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou ausente;

[0085] L^C está ausente ou independentemente selecionado a partir do grupo consistindo

em $-C_{1-6}$ alquilen-, $-NRC_3-C_8$ -heterociclilNR-, $-NRC_3-C_8$ -carbociclilNR-, $-NRC_1-C_6$ alquilNR-, $-NRC_1-C_6$ alquilen-, -S-, -NR-, -NRNR-, $-O(CR_2)_{1-4}S-S(CR_2)_{1-4}N(R)$ -, $-NRC_1-C_6$ -alquilenofenilenoNR-, $-NRC_1-C_6$ alquilenofenileno-

SO_2NR -, $-OC_{1-6}$ alquilS- SC_{1-6} alquilC(COOR)NR-, $-NRC(COOR)C_{1-6}$ alquilS- SC_{1-6} alquilO,



[0086] em que

[0087] X^A é CR ou N

[0088] X^B é CH, $CR(C(R)_2)_{1-3}NR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}O$, $CR(C(R)_2)_{1-3}C(O)NR$, $CR-(C(R)_2)_{1-3}C(O)NRNR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}SO_2NR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}NRNR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}NRC(O)$ ou N,

[0089] cada X^C é R,

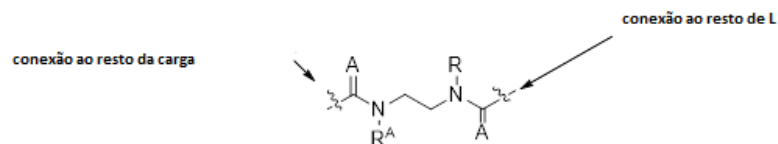
[0090] cada X^D é $-(CH_2)_{1-5}$ - ou está ausente,

[0091] X^E é O, S, $C(R)_2$, $C(R)(C(R)_2)_{1-3}NR_2$ ou NR e

[0092] cada X^F é $(C(R)_2)_{1-3}NR$ ou $C(R)_2-(C(R)_2)_{1-3}O$.

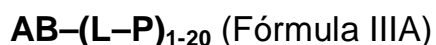
[0093] Em outras modalidades da invenção, o -Y- variável é

$C(O)N(R^A)_2$ ou $C(S)N(R^A)_2$ onde um R^A é hidrogênio ou $-C_1-C_{20}$ alquila e o outro R^A é $-C_1-C_{20}$ alquil- $N(R)$ -, de modo que a estrutura:



[0094] seja formada, onde cada A é independentemente oxigênio ou enxofre.

[0095] De acordo com ainda um outro aspect da invenção, é provido um composto conjugado de fármaco de anticorpo de Fórmula IIIA:



[0096] ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo, em que:

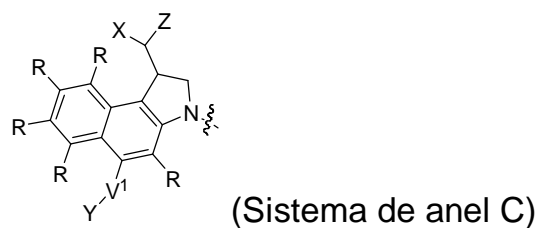
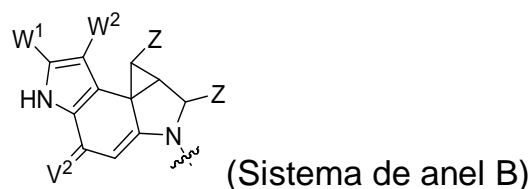
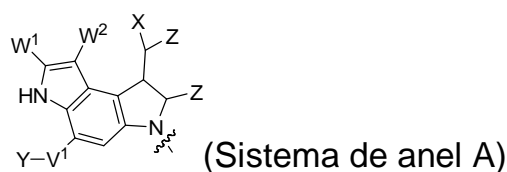
[0097] AB é um anticorpo,

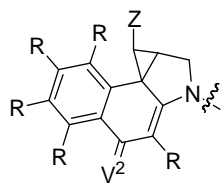
[0098] P é:



[0099] em que:

[00100] F^1 e F^2 são um independentemente selecionado a partir de sistemas de anel A, B, C e D:





(Sistema de anel D);

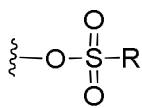
[00101] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se unem para formar um anel ou anéis, e em que a dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ or -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

[00102] cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

[00103] cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

[00104] W¹ e W² são cada um independentemente H, -C₁-C₅ alquila, -fenila, -C(O)OR, -C(O)SR, -C(O)NHN(R)₂ ou -C(O)N(R)₂ para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

[00105] cada X é independentemente selecionado a partir de -OH, -O-acila, azido, halo, cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou



, para cada sistema de anel no qual X aparece;

[00106] cada Y é independentemente selecionado a partir de uma ligação,

H, -C(O)R^A, -C(S)R^A, -C(O)OR^A, -S(O)₂OR^A, -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -P(O)(OR^A)₂ para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir de

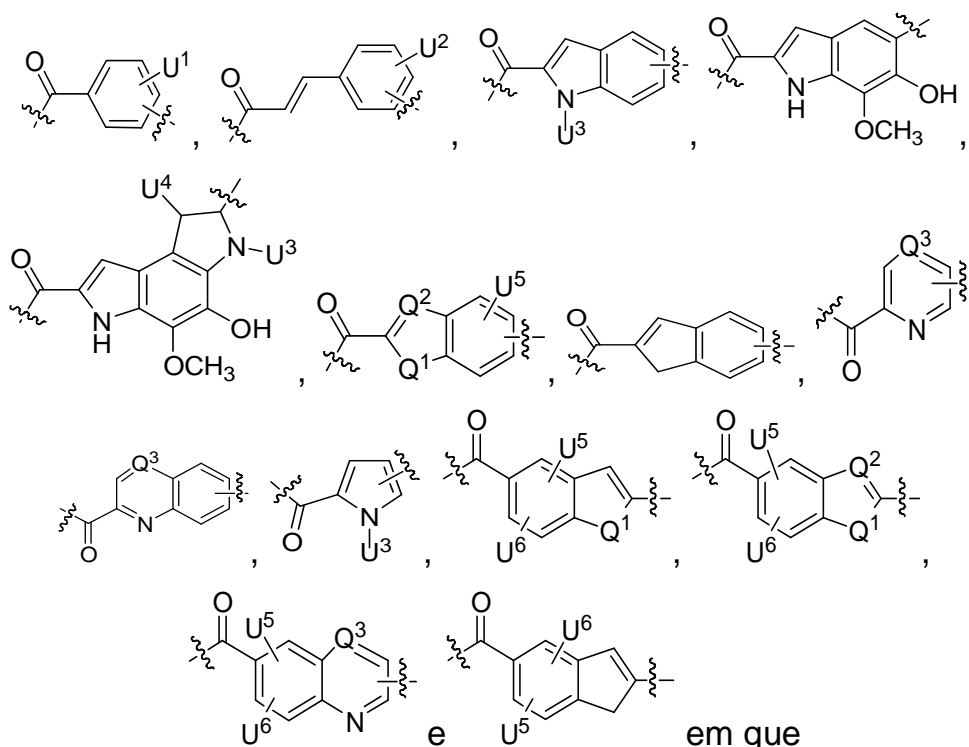
H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, -C₁-C₂₀ alquileno, -C₁-C₈ heteroalquileno, -C₆-C₁₄ arileno, aralquileno, -C₁-C₁₀ heterociclo, -C₃-C₈ carbociclo e -C₁-C₂₀ alquilN(R)-, e R^F onde o dito R^A é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, e em que um Y é divalente e está ligado ao L,

[00107] R^F é -N(R⁶)QN(R⁵)C(O)- e está ligado ao L na carbonila adjacente N(R⁵), em que R⁵ e R⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir de do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila e -C₃-C₈ carbociclila ou R⁵ ou R⁶ se unem com um carbono substituído em Q para formar um anel -C₁-C₁₀ heterocíclico ou -C₆-C₁₄ heteroarila ou R⁵ e R⁶ se unem em conjunto para formar um sistema de anel -C₁-C₁₀ heterocíclico ou -C₆-C₁₄ heteroarila e onde Q é -C₁-C₈ alquileno-, -C₁-C₈ heteroalquileno-, -C₆-C₁₄ arileno-, -aralquileno-, -C₁-C₁₀ heterociclo- ou -C₃-C₈ carbociclo-, em que Q, R⁵ e R⁶ são cada um independentemente opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00108] cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, -C(O)OH, -C(O)NHNH₂ e -C(O)-halo, e em que a dita C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, -C(O)OH, -C(O)NHNH₂ e -C(O)-halo são cada um opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

[00109] L¹ e L² são, cada um independentemente, selecionados a

partir de uma ligação direta, carbonila ou um grupo carbonil acila ligado ao F¹ ou F² na porção acila, onde o grupo carbonil acila é selecionado a partir do grupo consistindo em:



[00110] U¹ é selecionado a partir de H, -CH₃, -OH, -OCH₃, -NO₂, -NH₂, -NHNHAc, -NHNHC(O)CH₃, -NHC(O)fenila ou -halo,

[00111] U² é H, -OH ou -OCH₃,

[00112] U³ é H, -CH₃ ou -C₂H₅,

[00113] U⁴ é H ou CH₃S-,

[00114] U⁵ e U⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir de H, -halo, -C₁-C₄ alquila, -C₁-C₃ alcóxi, -C₁-C₆ dialquilamino, -NO₂, -NHC(O)C₁-C₁₀ alquila, -OH, -NH₂, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)CH₃ ou -NHC(O)fenila,

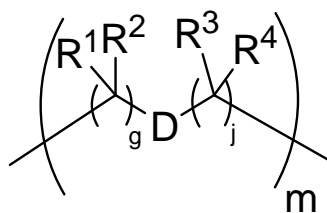
[00115] Q¹ é -O-, -S- ou -NH-,

[00116] Q² e Q³ são cada um independentemente -CH- ou -N-;

[00117] T é selecionado a partir de:

[00118] -NHC(O)-,

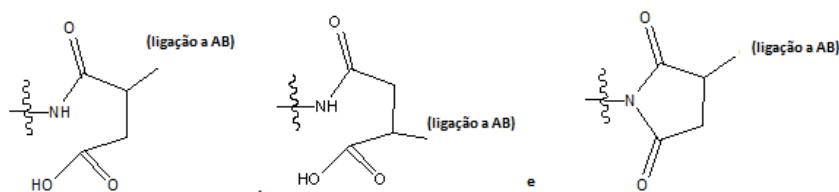
- [00119] -C(O)NH-,
- [00120] -C(O)O-,
- [00121] -OC(O)-,
- [00122] -NR^B-T¹-NR^C- onde R^B e R^C são cada um independentemente H ou -C₁-C₈ alquila, ou em conjunto R^B e R^C se unem para formar um anel e em conjunto são (CH₂)₂₋₃, onde T¹ é selecionado a partir de -C(O)-, -C(O)(CH₂)_nC(O)- onde n é um número inteiro a partir de 0 a 50, -C(O)PhC(O)- onde Ph é 1,3- ou 1,4-fenileno,
- [00123] -C(O)hetC(O)- em que het é uma heteroarila mono-, bi- ou tricíclica de 5 a 12 membros, contendo um, dois ou três heteroátomos independentemente selecionados a partir de O, N, S, P e B, onde het é opcionalmente substituído com 1 a 8 substituintes cada um independentemente selecionado a partir de do grupo consistindo em -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -NH₂, -NHR^D e -NO₂, e os ditos substituintes opcionais em het são opcionalmente substituídos com R^E, onde pelo menos um de F¹ e F² é selecionado a partir do grupo consistindo do sistema de anel C e sistema de anel D quando T é -C(O)hetC(O)-,
- [00124] em que cada R^D é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H ou -C₁-C₈ alquila, -C(O)-C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, e -C(O)-halo, opcionalmente substituídos com R^E,
- [00125] em que cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, e -C(O)-halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R,
- [00126] -C(A¹)X¹-T²-X¹C(B¹)-, onde T² é:



[00127] em que cada X^1 é independentemente uma ligação, $-NR^E$ -, $-O$ - ou $-S$ -, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente $=O$ ou $=S$, em que R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um independentemente R^E ou R^1 e R^2 formam um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^2 , e R^3 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel, ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os ditos sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila, ou R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um ligações a diferentes carbonos em D, em que g e j são cada um independentemente um número inteiro a partir de 0 a 50 e m é um número inteiro a partir de 1 a 50, e em que D é uma ligação ou é selecionado a partir do grupo consistindo em $-S$ -, $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_8$ heteroalquileno-, $-aralquileno$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo, onde os ditos $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_8$ heteroalquileno-, $-aralquileno$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo são opcionalmente substituídos com $-R^E$, $-C(O)R^E$, $-C(O)OR^E$, $-N(R^E)_2$, $-N(R)C(O)R^E$ or $-N(R)C(O)OR^E$, e D é adicionalmente opcionalmente substituído por 1 a 2 R, e $-G^1-T^2-G^2$ -, onde G^1 e G^2 são cada um independentemente $-S(O)X^1$ - ou $-S(O)_2X^1$ -;

[00128] L é $L^A-L^B-(L^C)_{1-3}$;

[00129] L^A é selecionado a partir de: uma ligação a AB, $-NR$ -(ligação a AB), alquil- SO_2 -heteroarila, aril SO_2 -heteroarila-,



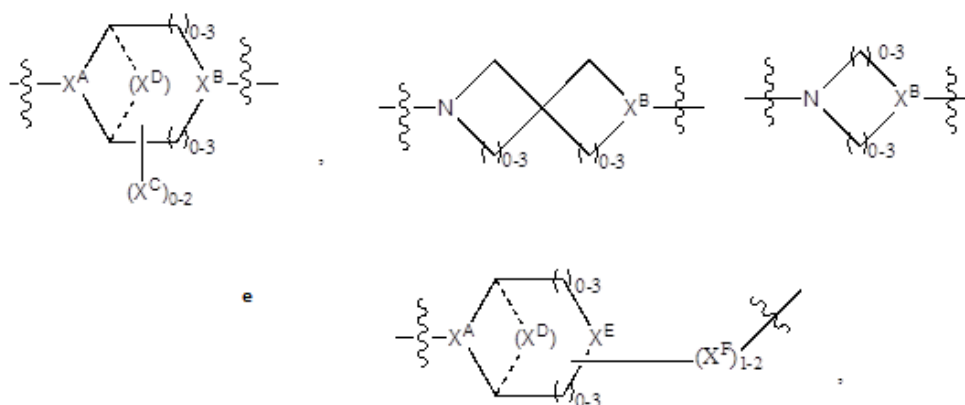
[00130] L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$

[00131] em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionados a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-$, $-C(O)NRC_1-C_6alquil-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)C_1-C_6alquilNRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-C(O)-$, $-C_1-C_6alquil-S-S-C_1-C_6alquil-$, $-NRC(O)CH_2-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)CH_2-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-NRC(O)C_1-C_6alquil-$, $-N=CR-fenil-O-C_1-C_6alquil-$, $-N=CR-fenil-O-C_1-C_6alquil-C(O)-$, $-C(O)-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-fenil(NR-C(O)C_1-C_6alquila)_{1-4}-$, $-C(O)C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-NRC(O)C_1-C_6alquil-$, $-C_1-C_6alquil-$, $-S-$, $-C(O)-CH(NR-C(O)C_1-C_6alquil)-C_1-C_6alquil-$ e $(-CH_2-CH_2-O-)_{1-20}$,

[00132] L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural or $-(CR^{15})_o-S-S-(CR^{15})_p$ onde o and p são cada um independentemente um número inteiro a partir de 1 a 20,

[00133] L^{B3} é $-PABA-$, $-PABC-$ ou está ausente,

[00134] L^C está ausente ou é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-C_1-C_6alquilen-$, $-NRC_3-C_8-heterocicliNR-$, $-NRC_3-C_8-carbocicliNR-$, $-NRC_1-C_6alquilNR-$, $-NRC_1-C_6alquilen-$, $-S-$, $-NR-$, $-NRNR-$, $-O(CR_2)_{1-4}S-S(CR_2)_{1-4}N(R)-$, $-NRC_1-C_6alquilenofenilenoNR-$, $-NRC_1-C_6alquilenofenileno-$, SO_2NR- , $-OC_1-C_6alquilS-SC_1-C_6alquilC(COOR)NR-$, $-NRC(COOR)C_1-C_6alquilS-SC_1-C_6alquilaO-$,



[00135] em que

[00136] X^A é CR ou N,

[00137] X^B é CH, $CR(C(R)_2)_{1-3}NR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}O$, $CR(C(R)_2)_{1-3}C(O)NR$, $CR-(C(R)_2)_{1-3}C(O)NRNR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}SO_2NR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}NRNR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}NRC(O)$ ou N,

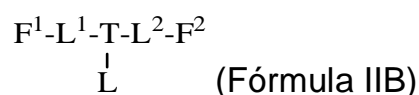
[00138] cada X^C é R;

[00139] cada X^D é $-(CH_2)_{1-5}-$, ou está ausente;

[00140] X^E é O, S, $C(R)_2$, $C(R)(C(R)_2)_{1-3}-NR_2$ ou NR, e

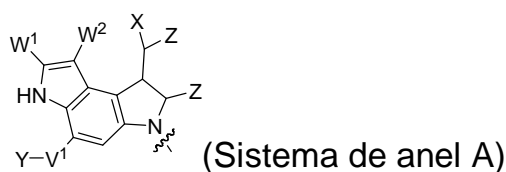
[00141] cada X^F é $(C(R)_2)_{1-3}-NR$ ou $C(R)_2-(C(R)_2)_{1-3}-O$.

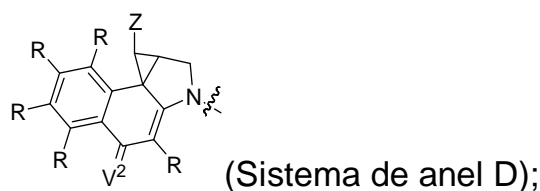
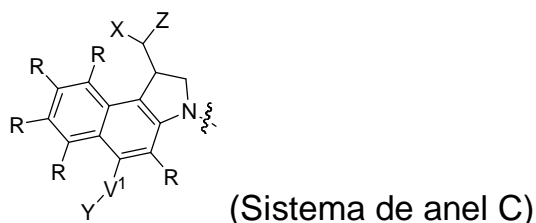
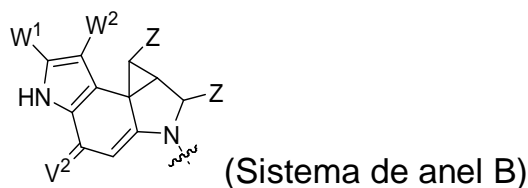
[00142] De acordo com um outro aspecto da invenção, é provido um composto ligante de carga de Fórmula IIB:



[00143] ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo, em que:

[00144] F^1 e F^2 são, cada um independentemente, selecionados a partir de sistemas de anel A, B, C e D:





[00145] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se unem para formar um anel ou anéis, e em que a dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ ou -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

[00146] cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

[00147] cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

[00148] W¹ e W² são cada um independentemente H, -C₁-C₅ alquila, -fenila, -C(O)OR, -C(O)SR, -C(O)NHN(R)₂ ou -C(O)N(R)₂ para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

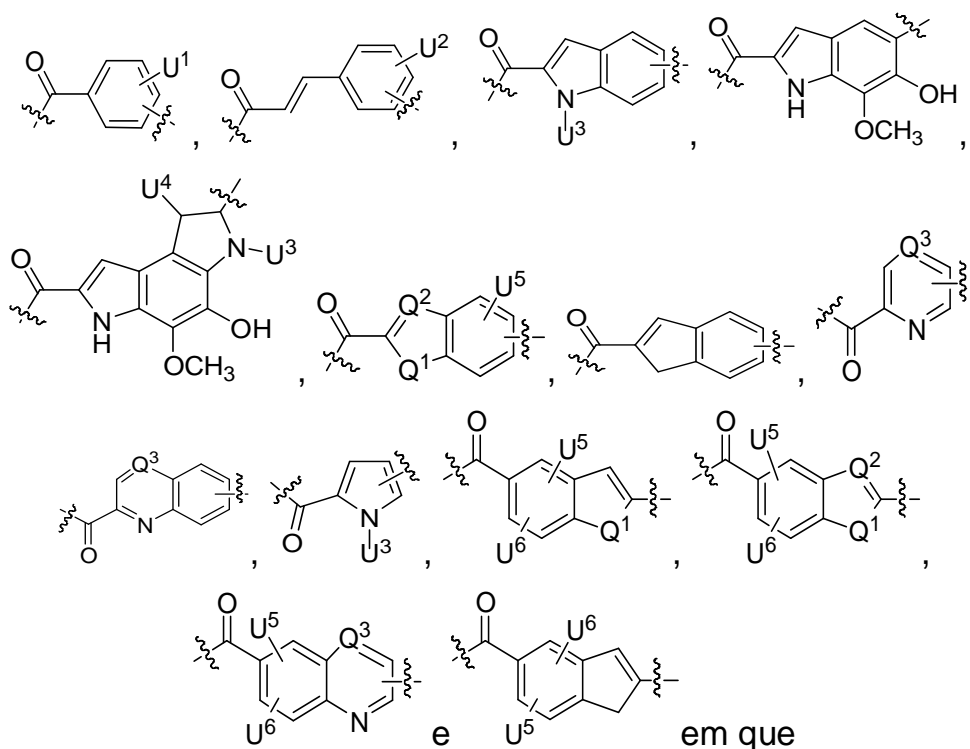
[00149] cada X é independentemente -OH, -O-acila, azido, halo,

cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato ou $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---O---S---R} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$, para cada sistema de anel no qual X aparece;

[00150] cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alquil- R^{A} , $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{S})\text{R}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\text{A}}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}})_2$, $-\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{A}})_2$, glicosila, $-\text{NO}_2$ e $-\text{PO}(\text{OR}^{\text{A}})_2$, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^{A} é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_1-\text{C}_{20}$ alquila, $-\text{C}_1-\text{C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_6-\text{C}_{14}$ arila, aralquila, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ heterociclila, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ carbociclila e $-\text{C}_1-\text{C}_{20}$ alquil $\text{N}(\text{R})_2$, em que a dita $-\text{C}_1-\text{C}_{20}$ alquila, $-\text{C}_1-\text{C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_6-\text{C}_{14}$ arila, aralquila, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ heterociclila, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ carbociclila e $-\text{C}_1-\text{C}_{20}$ alquil $\text{N}(\text{R})_2$ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00151] cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_1-\text{C}_8$ alquila, $-\text{C}_1-\text{C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_6-\text{C}_{14}$ arila, aralquila, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ heterociclila, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ carbociclila, $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1-\text{C}_8$ alquila, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_8 \text{ alquila})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHNH}_2$ e $-\text{C}(\text{O})\text{-halo}$, e em que a dita C_1-C_8 alquila, $-\text{C}_1-\text{C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_6-\text{C}_{14}$ arila, aralquila, $-\text{C}_1-\text{C}_{10}$ heterociclila, $-\text{C}_3-\text{C}_8$ carbociclila, $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1-\text{C}_8$ alquila, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_8 \text{ alquila})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHNH}_2$ e $-\text{C}(\text{O})\text{-halo}$ são cada uma opcionalmente substituída com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

[00152] L^1 e L^2 são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta, carbonila ou um grupo carbonil acila ligado ao F^1 ou F^2 na porção acila, onde o grupo carbonil acila é selecionado a partir do grupo consistindo em:



[00153] U^1 é selecionado a partir de H, -CH₃, -OH, -OCH₃, -NO₂, -NH₂, -NHNHAc, -NHNHC(O)CH₃, -NH-C(O)fenila ou -halo,

[00154] U^2 é H, -OH ou -OCH₃,

[00155] U^3 é H, -CH₃ ou -C₂H₅,

[00156] U^4 é H ou CH₃S-,

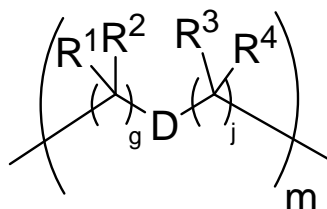
[00157] U^5 e U^6 são, cada um independentemente, selecionados a partir de H, -halo, -C₁-C₄ alquila, -C₁-C₃ alcóxi, -C₁-C₆ dialquilamino, -NO₂, -NHC(O)C₁-C₁₀ alquila, -OH, -NH₂, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)CH₃ ou -NHC(O)fenila,

[00158] Q^1 é -O-, -S- ou -NH-, e

[00159] Q^2 e Q^3 são cada um independentemente -CH- ou -N-;

[00160] T é selecionado a partir de:

[00161] -C(A¹)X¹-T²-X¹C(B¹)-, onde T² é:



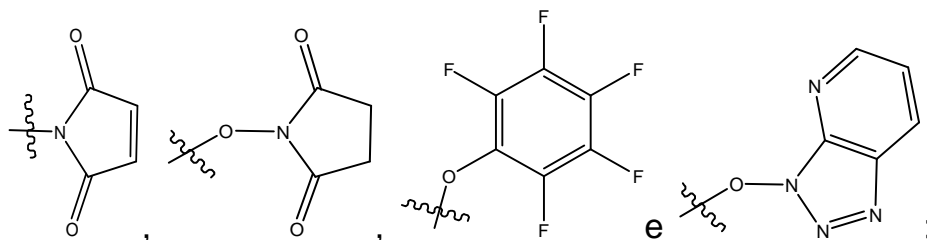
[00162] em que cada X^1 é independentemente uma ligação, $-NR^E$ -, $-O$ - ou $-S$ -, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente $=O$ ou $=S$, em que R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um independentemente R^E , ou R^1 e R^2 formam um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^2 , e R^3 e R^4 cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel, ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila ou R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são, cada um, ligações a diferentes carbonos em D, em que g e j são cada um independentemente um número inteiro a partir de 0 a 50 e m é um número inteiro a partir de 1 a 50, e em que D é selecionado a partir de do grupo consistindo em $-C_1-C_8$ alquilenos-, $-C_6-C_{14}$ arilenos-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilenos-, $-C_1-C_8$ heteroalquilenos-, $-aralquilenos$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclos e $-C_3-C_8$ carbociclos, onde o dito $-C_1-C_8$ alquilenos-, $-C_6-C_{14}$ arilenos-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilenos-, $-C_1-C_8$ heteroalquilenos-, $-aralquilenos$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclos e $-C_3-C_8$ carbociclos são substituídos com um membro do grupo selecionado a partir de $N(R^E)C(O)$ - onde a carbonila é ligada ao L, and $-C(O)$ - onde a carbonila é ligada ao L, e adicionalmente opcionalmente substituída por 1 a 2 R;

[00163] onde cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-arila$ -, $-aralquila$ -, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, e $-C(O)$ -halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00164] L é $L^A-L^B-(L^C)_{1-3}$;

[00165] L^A é selecionado a partir de $-halo$ -, $-N(R)_2$ -, $-CON(R)_2$ -, $-S$ -arila opcionalmente substituída

com $-\text{NO}_2$ ou $-\text{CONR}_2$, $-\text{S}$ -heteroarila opcionalmente substituída com $-\text{NO}_2$, alquil- SO_2 -heteroarila, aril SO_2 -heteroarila-,



[00166] L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$

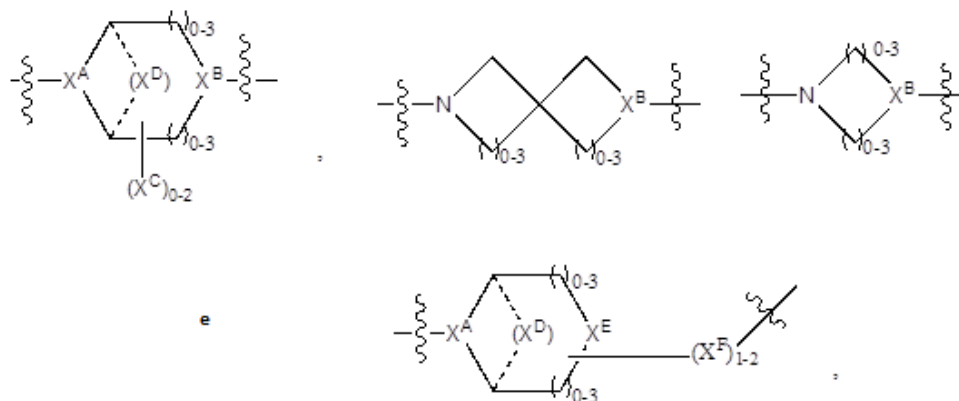
[00167] em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionados a partir do grupo consistindo em $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{S})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NRC}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{1-6}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquilNRC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{1-6}-$, $-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{1-6}-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-\text{S}-\text{S}-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{NRC}(\text{O})\text{CH}_2-$, $-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{1-6}\text{NRC}(\text{O})\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{N}=\text{CR}-\text{fenil}-\text{O}-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{N}=\text{CR}-\text{fenil}-\text{O}-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{1-6}\text{NRC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquilfenil}(\text{NRC}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquila})_{1-4}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{1-6}-\text{NRC}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}(\text{NR}-\text{C}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil})-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquil}-$ e $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_{1-20}$;

[00168] L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural ou $-(\text{CR}^{15})_o-\text{S}-\text{S}-(\text{CR}^{15})_p$ onde o e p são cada um independentemente um número inteiro a partir de 1 a 20,

[00169] L^{B3} é $-\text{PABA}-$, $-\text{PABC}-$ ou está ausente;

[00170] L^C está ausente ou é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-\text{C}_1-\text{C}_6\text{alquilen}-$, $-\text{NRC}_3-\text{C}_8\text{-heterocicliNR}-$, $-\text{NRC}_3-\text{C}_8\text{-carbocicliNR}-$, $-\text{NRC}_1-\text{C}_6\text{alquilNR}-$, $-\text{NRC}_1-\text{C}_6\text{alquilen}-$, $-\text{S}-$, $-\text{NR}-$, $-\text{NRNR}-$, $-\text{O}(\text{CR}_2)_{1-4}\text{S}-\text{S}(\text{CR}_2)_{1-4}\text{N}(\text{R})-$, $-\text{NRC}_1-\text{C}_6\text{-alquilenofenilenoNR}-$, $-\text{NRC}_1-\text{C}_6\text{alquilenofenilenoSO}_2\text{NR}-$, $-\text{OC}_1-\text{C}_6\text{alquilS}-\text{SC}_1-\text{C}_6\text{alquilC}(\text{COOR})\text{NR}-$, $-\text{NRC}(\text{CO}$

SO₂NR-, -OC₁₋₆alquilS-SC₁₋₆alquilC(COOR)NR-, -NRC(COOR)C₁₋₆alquilS-SC₁₋₆alquilO-,



[00171] em que

[00172] X^A é CR ou N,

[00173] X^B é CH, CR(C(R)₂)₁₋₃NR, CR(C(R)₂)₁₋₃O, CR(C(R)₂)₁₋₃C(O)NR, CR-(C(R)₂)₁₋₃C(O)NRNR, CR(C(R)₂)₁₋₃SO₂NR, CR(C(R)₂)₁₋₃NRNR, CR(C(R)₂)₁₋₃NRC(O) ou N;

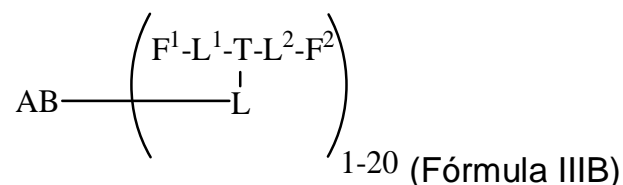
[00174] cada X^C é R;

[00175] cada X^D é -(CH₂)₁₋₅, ou está ausente;

[00176] X^E é O, S, C(R)₂, C(R)(C(R)₂)₁₋₃-NR₂ ou NR, e

[00177] cada X^F é (C(R)₂)₁₋₃-NR ou C(R)₂-(C(R)₂)₁₋₃-O.

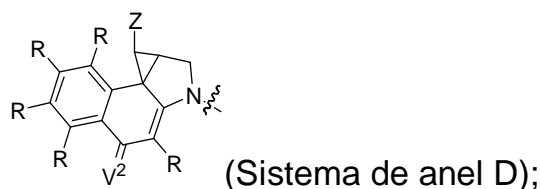
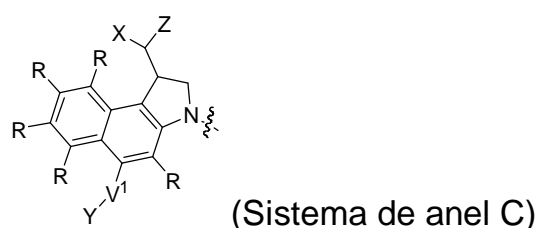
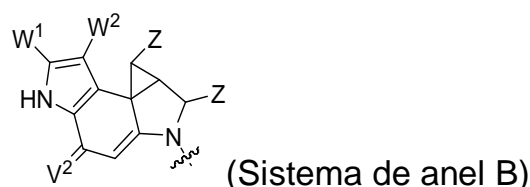
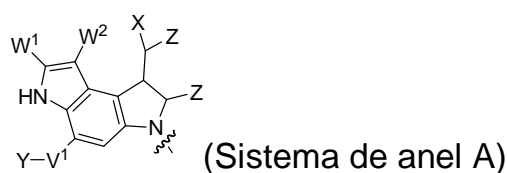
[00178] De acordo com ainda um outro aspecto da invenção é provido um composto conjugado de fármaco de anticorpo de Fórmula IIIB:



[00179] ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato do mesmo, em que:

[00180] AB é um anticorpo;

[00181] F¹ e F² são, cada um independentemente, selecionados a partir de sistemas de anel A, B, C e D:



[00182] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se unem para formar um anel ou anéis, e em que a dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ ou -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

[00183] cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

[00184] cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

[00185] W¹ e W² são cada um independentemente H, -C₁-C₅ alquila, -fenila, -C(O)OR, -C(O)SR, -C(O)NHN(R)₂ ou -C(O)N(R)₂ para cada

sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

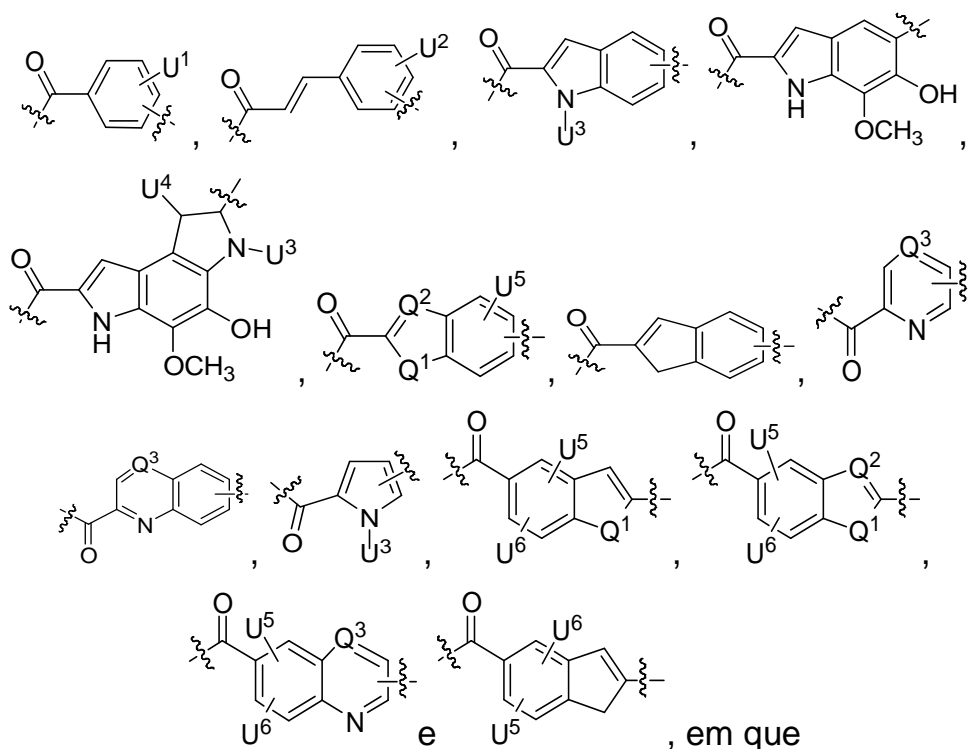
[00186] cada X é independentemente -OH, -O-acila, azido, halo,

cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato ou $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---O---S---R} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$, para cada sistema de anel no qual X aparece;

[00187] cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_6$ alquil- R^A , $-C(O)R^A$, $-C(S)R^A$, $-C(O)OR^A$, $-S(O)_2OR^A$, $-C(O)N(R^A)_2$, $-C(S)N(R^A)_2$, glicosila, $-NO_2$ e $-PO(OR^A)_2$, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquil $N(R)_2$, em que a dita $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquil $N(R)_2$ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00188] cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)NHNH_2$ e $-C(O)$ -halo, e em que a dita C_1-C_8 alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)NHNH_2$ e $-C(O)$ -halo são cada uma opcionalmente substituída com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

[00189] L^1 e L^2 são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta, carbonila ou um grupo carbonil acila ligado ao F^1 ou F^2 na porção acila, onde o grupo carbonil acila é selecionado a partir do grupo consistindo em:



[00190] U¹ é selecionado a partir de H, -CH₃, -OH, -OCH₃, -NO₂, -NH₂, -NHNHAc, -NHNHC(O)CH₃, -NH-C(O)fenila ou -halo,

[00191] U² é H, -OH ou -OCH₃,

[00192] U³ é H, -CH₃ ou -C₂H₅,

[00193] U⁴ é H ou CH₃S-,

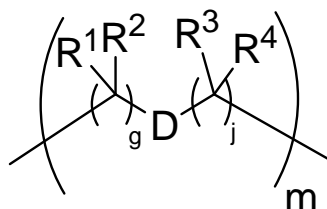
[00194] U⁵ e U⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir de H, -halo, -C₁-C₄ alquila, -C₁-C₃ alcóxi, -C₁-C₆ dialquilamino, -NO₂, -NHC(O)C₁-C₁₀ alquila, -OH, -NH₂, -NHC(O)NH₂, -NHC(O)CH₃ ou -NHC(O)fenila,

[00195] Q¹ é -O-, -S- ou -NH-, e

[00196] Q² e Q³ são cada um independentemente -CH- ou -N-;

[00197] T é selecionado a partir de:

[00198] -C(A¹)X¹-T²-X¹C(B¹)-, onde T² é:

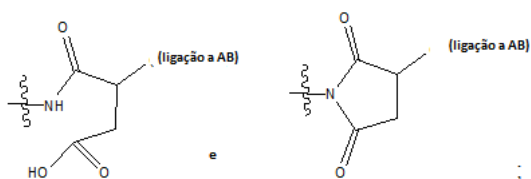


[00199] em que cada X^1 é independentemente uma ligação, $-NR^E$ -, $-O$ - ou $-S$ -, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente $=O$ ou $=S$, em que R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um independentemente R^E , ou R^1 e R^2 formam um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^2 , e R^3 e R^4 cada um independentemente forma sistemas de anel ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila ou R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são cada um ligações a diferentes carbonos em D, em que g e j são cada um independentemente um número inteiro a partir de 0 a 50 e m é um número inteiro a partir de 1 a 50, e em que D é selecionado a partir do grupo consistindo em $-C_1-C_8$ alquilen-, $-C_6-C_{14}$ arilen-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilen-, $-C_1-C_8$ heteroalquilen-, -aralquilen-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo, onde o dito $-C_1-C_8$ alquilen-, $-C_6-C_{14}$ arilen-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilen-, $-C_1-C_8$ heteroalquilen-, -aralquilen-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo são substituídos com um membro do grupo selecionado a partir de $N(R^E)C(O)$ - onde a carbonila é ligada ao L, e $-C(O)$ - onde a carbonila é ligada ao L, e adicionalmente opcionalmente substituída por 1 a 2 R;

[00200] onde cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, -arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$ e $-C(O)$ -halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00201] L é $L^A-L^B-(L^C)_{1-3}$

[00202] L^A é selecionado a partir de: um ligação ao AB, $-NR$ -(ligação ao AB), alquil- SO_2 -heteroarila, aril SO_2 -heteroarila-,



[00203] L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$

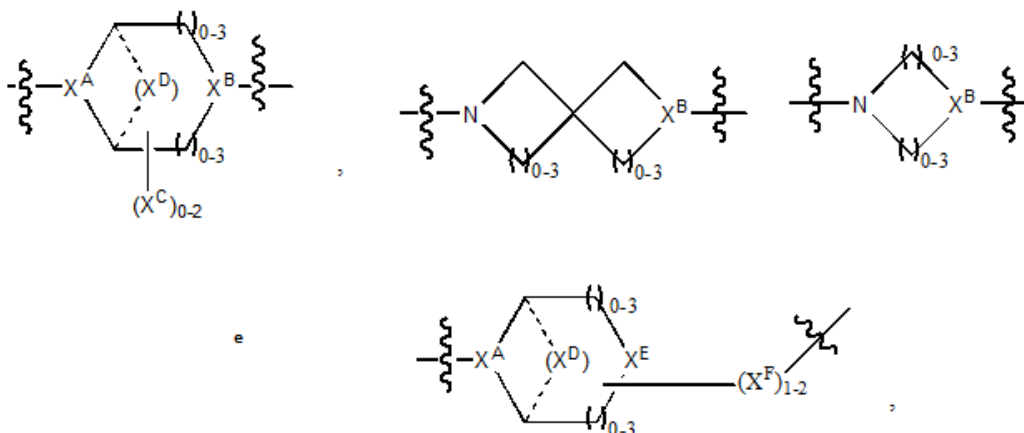
[00204] em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionados a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil}-$, $-C(O)NRC_1-C_6\text{alquil}-$, $-C_1-C_6\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil}NRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C_1-C_6\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}-C(O)-$, $-C_1-C_6\text{alquil}-S-S-C_1-C_6\text{alquil}-$, $INRC(O)CH_2-$, $-C_1-C_6\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)CH_2-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil}NRC(O)C_{1-6}\text{alquil}-$, $-N=CR\text{-fenil-O-C}_1\text{-C}_6\text{alquil}-$, $-N=CR\text{-fenil-O-C}_1\text{-C}_6\text{alquil}-C(O)-$, $-C(O)-C_1-C_6\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil}NRC(O)C_{1-6}\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil}(OCH_2CH_2)_{1-6}-NRC(O)C_{1-6}\text{alquil}-$, $-C_1-C_6\text{alquil}-$, $-S-$, $-C(O)-CH(NR-C(O)C_1-C_6\text{alquil})-C_1-C_6\text{alquil}-$ e $(-CH_2-CH_2-O-)_{1-20}$;

[00205] L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural ou $-(CR^{15})_o-S-S-(CR^{15})_p$ onde o e p são cada um independentemente um número inteiro a partir de 1 a 20,

[00206] L^{B3} é $-PABA-$, $-PABC-$ ou está ausente;

[00207] L^C está ausente ou é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-C_1-C_6\text{alquilen}-$, $-NRC_3-C_8\text{-heterociclilNR}-$, $-NRC_3-C_8\text{-carbociclilNR}-$, $-NRC_1-C_6\text{alquilNR}-$, $-NRC_1-C_6\text{alquilen}-$, $-S-$, $-NR-$, $-NRNR-$, $-O(CR_2)_{1-4}S-S(CR_2)_{1-4}N(R)-$, $-NRC_1-C_6\text{-alquilenofenilenoNR}-$, $-NRC_1-C_6\text{alquilenofenilenoSO}_2NR-$, $-OC_1-C_6\text{alquilS-SC}_1-C_6\text{alquilC(COOR)NR}-$, $-NRC(CO)SO_2NR-$, $-OC_1-C_6\text{alquilS-SC}_1-C_6\text{alquilC(COOR)NR}-$, $-NRC(COOR)C_1-C$

$_{6}\text{alquilS-SC}_{1-6}\text{alquilO-}$,



[00208] em que

[00209] X^A é CR ou N,

[00210] X^B é CH, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NR}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{O}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{C}(\text{O})\text{NR}$, $\text{CR}-(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{C}(\text{O})\text{NRNR}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{SO}_2\text{NR}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NRNR}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NRC}(\text{O})$ ou N;

[00211] cada X^C é R;

[00212] cada X^D é $-(\text{CH}_2)_{1-5}-$, ou está ausente;

[00213] X^E é O, S, $\text{C}(\text{R})_2$, $\text{C}(\text{R})(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{-NR}_2$ ou NR, e

[00214] cada X^F é $(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{-NR}$ ou $\text{C}(\text{R})_2-(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{-O}$.

[00215] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde:

[00216] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_{1-20}$ alquila e $-\text{NH}_2$;

[00217] cada V^1 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

[00218] cada V^2 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^2 aparece;

[00219] W^1 e W^2 são cada um independentemente H, $-\text{C}_{1-5}$ alquila, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$, ou $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_2$ para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

[00220] cada X é independentemente halo, para cada sistema de

anel no qual X aparece;

[00221] cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C(O)R^A$, $-C(O)N(R^A)_2$, glicosila, $-NO_2$ e $-PO(OR^A)_2$, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)₂, em que a dita $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

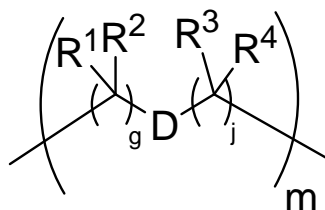
[00222] L^1 e L^2 são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta e carbonila; e

[00223] T é selecionado a partir de:

[00224] $-NR^B-T^1-NR^C-$ onde R^B e R^C são cada um independentemente H ou $-C_1-C_8$ alquila,

[00225] $-C(O)hetC(O)-$ em que het é uma heteroarila monocíclica de 5 a 12 membros, contendo um a dois heteroátomos independentemente selecionados a partir de O, N e S, em que het é opcionalmente substituído com 1 a 8 substituintes cada um independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-C_1-C_8$ alquila, $-NH_2$, e $-NH_2$, e os ditos substituintes opcionais em het são opcionalmente substituídos com $-C_1-C_8$ alquila, onde pelo menos um de F^1 e F^2 é selecionado a partir do grupo consistindo em sistema de anel C e sistema de anel D quando T é $-C(O)hetC(O)-$, e

[00226] $-C(A^1)X^1-T^2-X^1C(B^1)-$, onde T^2 é:



[00227] em que cada X^1 é uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente $=O$, em que R^1 , R^2 , R^3 , e R^4 são cada um in-

dependentemente H ou R^1 e R^2 formam um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^2 , e R^3 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel, ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os ditos sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila, e em que D é uma ligação ou é selecionado a partir do grupo consistindo em $-S-$, $-C_1-C_8$ alquilen-, $-C_6-C_{14}$ arilen-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilen-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo, onde o dito $-C_1-C_8$ alquilen-, $-C_6-C_{14}$ arilen-, $-C_6-C_{14}$ heteroarilen-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo são opcionalmente substituídos com $-NH_2$, $-N(R)C(O)H$ ou $-N(R)C(O)OH$.

[00228] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde dois ou mais R se unem opcionalmente para formar um anel ou anéis.

[00229] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde

[00230] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila e $-NH_2$;

[00231] cada V^1 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

[00232] cada V^2 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^2 aparece;

[00233] W^1 e W^2 são cada um independentemente H, $-C_1-C_5$ alquila, $-C(O)OR$, ou $-C(O)NR_2$ para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

[00234] cada X é independentemente halo, para cada sistema de anel no qual X aparece;

[00235] cada Y é independentemente selecionado a partir de uma

ligação,

H, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{S})\text{R}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{\text{A}}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}})_2$, $-\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{A}})_2$, glicosila, $-\text{NO}_2$ e $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{\text{A}})_2$ para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^{A} é independentemente selecionado a partir de H, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquila, $-\text{C}_1\text{-C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_6\text{-C}_{14}$ arila, aralquila, $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ heterociclila, $-\text{C}_3\text{-C}_8$ carbociclila, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquil $\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquileno, $-\text{C}_1\text{-C}_8$ heteroalquileno, $-\text{C}_6\text{-C}_{14}$ arileno, aralquileno, $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ heterociclo, $-\text{C}_3\text{-C}_8$ carbociclo e $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquil $\text{N}(\text{R})$ -, e R^{F} onde dito R^{A} é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, e em que um Y é divalente e está ligado ao L,

[00236] R^{F} é $-\text{N}(\text{R}^6)\text{QN}(\text{R}^5)\text{C}(\text{O})$ - e está ligado ao L na carbonila adjacente $\text{N}(\text{R}^5)$, em que R^5 e R^6 são, cada um independentemente, selecionados a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_1\text{-C}_8$ alquila e $-\text{C}_1\text{-C}_8$ heteroalquila, ou R^5 ou R^6 se unem com um carbono substituído em Q para formar um anel $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ heterocíclico ou $-\text{C}_6\text{-C}_{14}$ heteroarila ou R^5 e R^6 se unem em conjunto para formar um sistema de anel $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ heterocíclico ou $-\text{C}_6\text{-C}_{14}$ heteroarila and onde Q é $-\text{C}_1\text{-C}_8$ alquileno-, $-\text{C}_6\text{-C}_{14}$ arileno-, ou $-\text{C}_3\text{-C}_8$ carbociclo-, em que Q, R^5 e R^6 são, cada um independentemente opcionalmente, substituídos com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00237] L^1 e L^2 são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta e carbonila; e

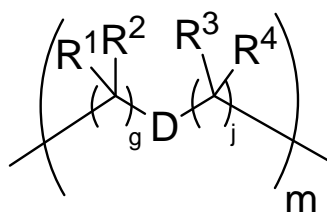
[00238] T é selecionado a partir de:

[00239] $-\text{NR}^{\text{B}}\text{-T}^1\text{-NR}^{\text{C}}\text{-}$ onde R^{B} e R^{C} são cada um independentemente H ou $-\text{C}_1\text{-C}_8$ alquila,

[00240] $-\text{C}(\text{O})\text{hetC}(\text{O})\text{-}$ em que het é uma heteroarila monocíclica de 5 a 12 membros, contendo um ou dois heteroátomos independentemente selecionados a partir de O, N e S, em que het é opcionalmente substituído com 1 a 8 substituintes cada um independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em $-\text{C}_1\text{-C}_8$ alquila, $-\text{NH}_2$, e $-\text{NH}_2$,

e os ditos substituintes opcionais em het são opcionalmente substituídos com $-C_1-C_8$ alquila, onde pelo menos um de F^1 e F^2 é selecionado a partir do grupo consistindo em sistema de anel C e sistema de anel D quando T é $-C(O)hetC(O)-$, e

[00241] $-C(A^1)X^1-T^2-X^1C(B^1)-$, onde T^2 é:



[00242] em que cada X^1 é uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente $=O$, em que R^1 , R^2 , R^3 , e R^4 são cada um independentemente H ou R^1 e R^2 formam um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^2 , e R^3 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel, ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os ditos sistemas de anel são independentemente selecionados a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila, e em que D é uma ligação ou é selecionado a partir do grupo consistindo em $-S-$, $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo, onde o dito $-C_1-C_8$ alquileno-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo são opcionalmente substituídos com $-NH_2$, $-N(R)C(O)H$ ou $-N(R)C(O)OH$.

[00243] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde

[00244] cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila e $-NH_2$;

[00245] cada V^1 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

[00246] cada V^2 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^2 aparece;

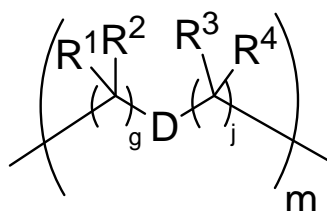
[00247] W^1 e W^2 são cada um independentemente H, $-C_1-C_5$ alquila, $-C(O)OR$, ou $-C(O)NR_2$ para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

[00248] cada X é independentemente halo, para cada sistema de anel no qual X aparece;

[00249] cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C(O)R^A$, $-C(O)N(R^A)_2$, glicosila, $-NO_2$ e $-PO(OR^A)_2$, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)₂, em que a dita $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_3-C_8$ carbociclila e $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

[00250] L^1 e L^2 são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta e carbonila; e

[00251] T é $-C(A^1)X^1-T^2-X^1C(B^1)-$, onde T^2 é:

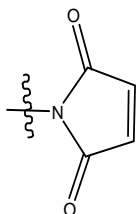


[00252] em que cada X^1 é uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada um independentemente =O, em que R^1 , R^2 , R^3 , e R^4 são cada um independentemente H ou R^1 e R^2 formam um sistema de anel, ou R^3 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^2 , e R^3 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, ou R^1 e R^3 formam um sistema de anel, ou R^2 e R^4 formam um sistema de anel, ou ambos R^1 e R^3 , e R^2 e R^4 , cada um independentemente forma sistemas de anel, onde os ditos sistemas de anel são independentemente selecionados

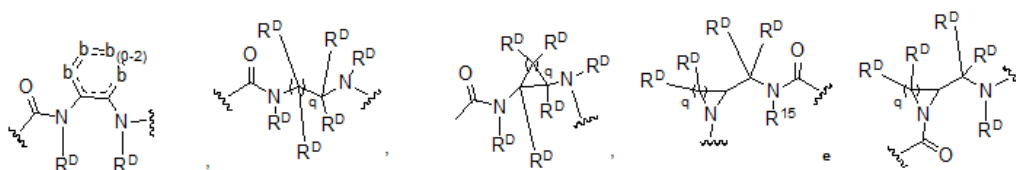
a partir de $-C_1-C_{10}$ heterociclila ou $-C_3-C_8$ carbociclila, e em que D é uma ligação ou é selecionado a partir do grupo consistindo em $-S-$, $-C_1-C_8$ alquilen-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo, onde dito $-C_1-C_8$ alquilen-, $-C_6-C_{14}$ arileno-, $-C_6-C_{14}$ heteroarileno-, $-C_1-C_{10}$ heterociclo e $-C_3-C_8$ carbociclo são opcionalmente substituídos com $-NH_2$, $-N(R)C(O)H$ ou $-N(R)C(O)OH$.

[00253] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde

[00254] L^A é selecionado a partir do grupo consistindo em $-halo$, $-N(R)_2$, $-CON(R)_2$, $-S$ -arila opcionalmente substituída com $-NO_2$ ou $-CON(R)_2$, $-S$ -heteroarila opcionalmente substituída com $-NO_2$, alquil- SO_2 -heteroarila, aril SO_2 -heteroarila-, e



[00255] L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$ em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionados a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6$ alquil-, $-C(O)NRC_1-C_6$ alquil-, $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}-$, $-C(O)C_1-C_6$ alquilNRC(O)-, $-C(O)C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}-$, $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}-C(O)-$, $-C_1-C_6$ alquil- $S-S-C_1-C_6$ alquilNRC(O) CH_2- , $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ NRC(O) CH_2- , $-C(O)C_1-C_6$ alquilNRC(O) CH_2- , $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ NRC(O) CH_2- , $-C(O)C_1-C_6$ alquilNRC(O) C_{1-6} alquil-, $-C(O)-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ NRC(O)-, $-C(O)C_1-C_6$ alquil-fenil(NR- $C(O)C_1-C_6$ alquila) $_{1-4}-$, $-C(O)C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ -NRC(O) C_1-C_6 alquil-, $-C_1-C_6$ alquil-, $-S-$, $-C(O)-CH(NR-C(O)C_1-C_6$ alquil)- C_1-C_6 alquil- e $(-CH_2-CH_2-O)_{1-20}$, em que L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural ou $-(CR^{15})_o-S-S-(CR^{15})_p$ onde o e p são cada um independentemente um número inteiro a partir de 1 a 20, e L^{B3} é $-PABA-$, $-PABC-$ ou está ausente; e



[00261] em que q é 1-10, e cada b é independentemente CR^D , N, NR^D , O ou S.

[00262] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde um ou mais W é C_1 - C_3 alquila.

[00263] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde X é cloro.

[00264] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde um Y é H ou $-C(O)C_1$ - C_{10} alquila.

[00265] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde um ou mais Z é H.

[00266] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde T é selecionado a partir de uma amida ou amino-ligação-amino da fórmula $-NH-C(O)-NH-$ ou $-NH-C(O)-het-C(O)-NH-$.

[00267] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde a amida é $-C(O)NH-$ ou $-NHC(O)-$.

[00268] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais como aqueles mencionados no presente documento onde het é uma heteroarila selecionada a partir de pirrol-2,5-diila-, fur-2,5-diila-, indol-2,5-diila, benzofuran-2,5-diila e 3, 6-di-hidrobenzo[1, 2-b:4, 3-b']di-pirrol-2,7-diila.

[00269] Os aspectos adicionais da invenção incluem compostos tais

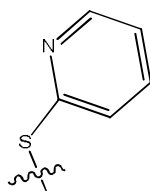
como aqueles mencionados no presente documento onde L^1 e L^2 são selecionados a partir de carbonila, 2-carbonilindol-5-ila, 2-carbonil-6-hidróxi-7-metoxiindol-5-ila, 2-carbonil-1,2,3,6-tetra-hidrobenzo[1,2-b:4,3-b']dipirrol-7-ila, 2-carbonil-4-hidróxi-5-metóxi-1,2,3,6-tetra-hidrobenzo[1,2-b:4,3-b']dipirrol-7-ila e 2-carbonil-4-hidróxi-5-metóxi-1,2,3,6-tetra-hidrobenzo[1,2-b:4,3-b']dipirrol-7-ila.

[00270] Os aspectos adicionais da invenção são aqueles compostos recitados no presente documento onde um ou mais dos que seguem se aplicam: W é metila; X é um halogênio; Y é hidrogênio ou -COR onde R é C_1 - C_{10} alquila; e Z é hidrogênio.

[00271] A invenção também inclui composto conforme descrito no presente documento onde T é selecionado a partir de uma amida (isto é, -C(O)NH- ou -NHC(O)-); ou um amino-ligação-amino da fórmula -NH-T'-NH onde T' é carbonila ou -C-(O)-het-C(O)-. Onde T é um amino-ligação-amino da fórmula NH-T'-NH, T' pode ser carbonila (isto é, -C-(O)-) ou -C(O)-het-C(O)- onde het é uma heteroarila selecionada a partir de pirrol-2-, 5-diila-; fur-2, 5-diila-; indol-2, 5-diila; benzofuran-2, 5-diila; ou 3, 6-di-hidrobenzo[1, 2-b:4, 3-b']dipirrol-2, 7-diila.

[00272] Também incluídos nas modalidades da invenção estão aqueles compostos como descritos no presente documento onde L^1 e L^2 são selecionados a partir de 2-carbonilindol-5-ila; 2-carbonil-6-hidróxi-7-metoxiindol-5-ila; 2-carbonil-1, 2, 3, 6-tetra-hidrobenzo[1, 2-b:4, 3-b']dipirrol-7-ila; 2-carbonil-4-hidróxi-5-metóxi-1, 2, 3, 6-tetra-hidrobenzo[1, 2-b:4, 3-b']dipirrol-7-ila; e 2-carbonil-4-hidróxi-5-metóxi-1, 2, 3, 6-tetra-hidrobenzo[1, 2-b:4, 3-b']dipirrol-7-ila.

[00273] Um outro aspecto da invenção inclui compostos conforme descrito no presente documento onde L^A é



[00274] A invenção inclui além disso, ligantes de carga ou conjugados de fármaco de anticorpo compreendendo um radical dos compostos de carga descritos no presente documento.

[00275] De forma importante, a invenção inclui composições farmacêuticas dos compostos, e quaisquer sais farmaceuticamente aceitáveis ou solvatos dos mesmos, descritos no presente documento, onde a composição farmacêutica inclui um excipiente farmaceuticamente aceitável.

[00276] A invenção ainda se refere a métodos de tratar câncer compreendendo administrar a um paciente que precisa do mesmo de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ou mais de um composto descrito no presente documento ou uma composição farmacêutica ou composições compreendendo um ou mais destes compostos.

[00277] Alguns compostos, incluindo cargas, ligantes de carga e ADCs retratados no presente documento, são mostrados em uma forma estereoisomérica específica. A invenção, no entanto, pretende incluir todas as formas estereoisoméricas destes compostos. Por exemplo, um composto com todos os centros estereoisoméricos pode ser retratado como a forma R, S do composto, porém a invenção conduz todas as formas estereoisoméricas, por exemplo, R,R; R,S; S,R e S,S.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[00278] A presente invenção se refere aos compostos bifuncionais citotóxicos, aos conjugados de fármaco de anticorpo (ADCs) compreendendo ditos compostos bifuncionais citotóxicos e aos métodos para usar o mesmo para tratar câncer e outras condições patológicas. A invenção também se refere a métodos de uso de tais compostos e/ou conjugados in vitro, in situ e in vivo para a detecção, diagnóstico ou

tratamento de células de mamíferos ou condições patológicas associadas.

Definições e Abreviações

[00279] A menos que expressado de outra forma, os termos e as frases a seguir que são usados no presente documento pretendem ter os significados a seguir. Quando os nomes comerciais são usados no presente documento, o nome comercial inclui a formulação do produto, o fármaco genérico e o(s) ingrediente(s) farmacêutico(s) ativo(s) do produto com nome comercial, a menos que indicado de outra forma pelo contexto.

[00280] O termo "anticorpo" (ou "Ab") no presente documento é usado no sentido mais amplo e cobre especificamente os anticorpos monoclonais intactos, anticorpos policlonais, anticorpos monoespecíficos, anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos) e fragmentos de anticorpo que exibem a atividade biológica desejada. Um anticorpo e fragmentos de anticorpo que exibem a atividade biológica desejada. Um anticorpo intacto tem primariamente duas regiões: uma região variável e uma região constante. A região variável se liga a e interage com um antígeno-alvo. A região variável inclui uma região complementar determinante (CDR) que reconhece e se liga a um sítio de ligação específico em um antígeno particular. A região constante pode ser reconhecida pelo sistema immune e interagir com o sistema imune (veja, por exemplo, Janeway e outros, 2001, *Immuno. Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Um anticorpo pode ser de qualquer tipo ou classe (por exemplo, IgG, IgE, IgM, IgD e IgA) ou subclasse (por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2). O anticorpo pode ser derivado de quaisquer espécies adequadas. Em algumas modalidades, o anticorpo é de origem humana ou murina. Um anticorpo pode ser, por exemplo, humano, humanizado ou quimérico.

[00281] Os termos "especificamente se liga" e "ligação específica"

se referem à ligação ao anticorpo em um antígeno predeterminado. Tipicamente, o anticorpo se liga com uma afinidade de pelo menos cerca de $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ e se liga a um antígeno predeterminado com uma afinidade que é pelo menos duas vezes maior do que a sua afinidade pela ligação a um antígeno não específico (por exemplo, BSA, caseína) diferente do antígeno predeterminado ou um antígeno intimamente relacionado.

[00282] O termo "anticorpo monoclonal" conforme usado no presente documento se refere a um anticorpo obtido a partir de uma população de anticorpos substancialmente homogêneos, isto é, os anticorpos individuais compreendendo a população são idênticos exceto com relação a possíveis mutações que ocorrem naturalmente que podem estar presentes em quantidades menores. Os anticorpos monoclonais são altamente específicos, sendo direcionados a um único sítio antígeno. O modificador "monoclonal" indica o caráter do anticorpo como sendo obtido a partir de uma população substancialmente homogênea de anticorpos e não deve ser interpretada como a produção necessária do anticorpo por qualquer método particular.

[00283] O termo "anticorpos monoclonais" inclui especificamente anticorpos "quiméricos" nos quais uma porção da cadeia pesada e/ou leve é idêntica a ou homóloga com a sequência correspondente de anticorpos derivados de uma espécie particular ou pertencente a uma classe ou subclasse de anticorpo particular enquanto o restante da(s) cadeia(s) é idêntico a ou homólogo com as sequências correspondentes de anticorpos derivados de outras espécies ou pertencentes a uma outra classe ou subclasse de anticorpo, assim como fragmentos de tais anticorpos, à medida que eles exibem a atividade biológica desejada.

[00284] Conforme usado no presente documento, "H(C)-" se refere a trastuzumab (nome comercial HERCEPTIN®) o qual é um anticorpo

monoclonal que interfere com o receptor HER2/neu, ligado através de uma de suas cistinas ao composto da invenção. Conforme usado no presente documento, "H(K)-" se refere a trastuzumab o qual é um anticorpo monoclonal que interfere com o receptor HER2/neu, ligado através de uma de suas lisinas ao composto da invenção.

[00285] Um "anticorpo intacto" é um que compreende uma região variável de ligação ao antígeno assim como um domínio constante de cadeia leve (C_L) e domínios constantes de cadeia pesada, C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} e C_{H4} , conforme sejam adequados para a classe do anticorpo. Os domínios constantes podem ser domínios constantes de sequência nativa (por exemplo, domínios constantes de sequência nativa humana) ou variantes de sequência de aminoácido dos mesmos.

[00286] Um anticorpo intacto pode ter uma ou mais "funções efectoras", as quais se referem àquelas atividades biológicas que podem ser atribuídas à região Fc (por exemplo, uma região Fc de sequência nativa ou região Fc variante de sequência de aminoácido) de um anticorpo. Exemplos de funções efectoras de anticorpo incluem citotoxicidade dependente complementar, citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (ADCC) e fagocitose mediada por célula dependente de anticorpo.

[00287] Um "fragmento de anticorpo" compreende uma porção de um anticorpo intacto, preferencialmente compreendendo a ligação ao antígeno ou região variável do mesmo. Os exemplos de fragmentos de anticorpo incluem Fab, Fab', $F(ab')_2$, e fragmentos Fv, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, anticorpos lineares, moléculas de anticorpo de cadeia única, scFv, scFv-Fc, fragmentos multiespecíficos de anticorpo formados a partir de fragmentos de anticorpo(s), fragmento(s) produzidos por uma biblioteca de expressão Fab ou fragmentos de ligação de epítopo de qualquer um dos que estão acima os quais se ligam imuno-especificamente a um antígeno-alvo (por exemplo, um antígeno de

célula cancerígena, um antígeno viral ou um antígeno microbiano).

[00288] O termo "variável" no contexto de um anticorpo se refere a certas porções dos domínios variáveis do anticorpo que diferem extensivamente na sequência e são usados nesta ligação e especificidade de cada anticorpo particular para seu antígeno particular. Esta variabilidade está concentrada em três segmentos chamados "regiões hipervariáveis" nos domínios variáveis na cadeia leve e cadeia pesada. As porções mais altamente conservadas de domínios variáveis são chamadas as regiões estruturais (FRs). Os domínios variáveis de cadeias leves e pesadas nativas compreendem quatro FRs conectadas por três regiões hipervariáveis.

[00289] O termo "região hipervariável" quando usado no presente documento se refere aos resíduos de aminoácido de um anticorpo que são responsáveis pela ligação ao antígeno. A região hipervariável geralmente compreende resíduos de aminoácido a partir de uma "região determinante de complementariedade" ou "CDR" (por exemplo, resíduos 24-34 (L1), 50-56 (L2) e 89-97 (L3) no domínio variável da cadeia leve e 31-35 (H1), 50-65 (H2) e 95-102 (L3) no domínio variável da cadeia pesada; Kabat e outros (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)) e/ou aqueles resíduos de um "laço hipervariável" (por exemplo, resíduos 26-32 (L1), 50-52 (L2) e 91-96 (L3) no domínio variável da cadeia leve e 26-32 (H1), 53-55 (H2) e 96-101 (H3) no domínio variável da cadeia pesada; Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917). Os resíduos FR são aqueles resíduos de domínio variável diferentes dos resíduos de região hipervariável conforme definidos no presente documento.

[00290] Um fragmento de anticorpo "Fv de cadeia única" ou "scFv" compreende os domínios V.sub.H e V.sub.L de um anticorpo, em que estes domínios estão presentes em uma cadeia de polipeptídeo única.

Tipicamente, o polipeptídeo Fv também compreende um ligante de polipeptídeo entre os domínios V.sub.H e V.sub.L os quais permitem ao scFv de formar a estrutura desejada para a ligação ao antígeno. Para uma revisão de scFv, veja Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

[00291] O termo "diacorpo" se refere a pequenos fragmentos de anticorpo com dois sítios de ligação ao antígeno, cujos fragmentos compreendem um domínio pesado variável (V_H) conectado a um domínio leve variável (V_L) na mesma cadeia de polipeptídeo. Ao usar um ligante que é muito curto para permitir o pareamento entre os dois domínios na mesma cadeia, os domínios são forçados a parear com os domínios complementares de uma outra cadeia e criar dois sítios de ligação ao antígeno. Os diacorpos são descritos mais completamente em, por exemplo, Pedido de Patente EP 0 404 097; publicação internacional WO 93/11161; e Hollinger e outros, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448.

[00292] As formas "humanizadas" de anticorpos não humanos (por exemplo, roedores) são anticorpos quiméricos que contêm a sequência mínima derivada de imunoglobulina não humana. Para a maior parte, os anticorpos humanizados são as imunoglobulinas humanas (anticorpo recipiente) nas quais os resíduos da região hipervariável do recipiente são substituídos pelos resíduos a partir da região hipervariável das espécies não humanas (anticorpo do doador) tais como camundongo, rato, coelho ou primata não humano tendo a especificidade, afinidade e capacidade desejadas. Em alguns exemplos, os resíduos da região estrutural (FR) da imunoglobulina humana são substituídos por resíduos não humanos correspondentes. Além disso, os anticorpos humanizados podem compreender resíduos que não são encontrados no anticorpo recipiente ou no anticorpo do doador. Estas modificações

são feitas também para refinar o desempenho do anticorpo. Em geral, o anticorpo humanizado compreenderá substancialmente todos de pelo menos um, e tipicamente dois, domínios variáveis, nos quais todos ou substancialmente todos dos laços hipervariáveis correspondem àqueles de uma imunoglobulina não humana e todas ou substancialmente todas das FRs são aquelas de uma sequência da imunoglobulina humana. O anticorpo humanizado opcionalmente também compreende pelo menos uma porção de uma região constante de imunoglobulina (Fc), tipicamente aquela da imunoglobulina humana. Para maiores detalhes, veja Jones e outros, 1986, *Nature* 321:522-525; Riechmann e outros, 1988, *Nature* 332:323-329; e Presta, 1992, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596.

[00293] Conforme usado no presente documento, "isolado" significa separado de outros componentes de (a) uma fonte natural, tal como uma planta ou célula ou cultura celular animal ou (b) uma mistura de reação química orgânica sintética. Conforme usado no presente documento, "purificado" significa que quando isolado, o isolado contém pelo menos 95% e em um outro aspecto pelo menos 98%, de um composto (por exemplo, um conjugado) em peso do isolado.

[00294] Um anticorpo "isolado" é um que foi identificado e separado e/ou recuperado de um componente de seu ambiente natural. Os componentes contaminantes de seu ambiente natural são materiais que interfeririam com os usos diagnósticos ou terapêuticos para o anticorpo e podem incluir enzimas, hormônios e outros solutos protéicos ou não protéicos. Em modalidades preferidas, o anticorpo será purificado (1) até mais do que 95% em peso do anticorpo conforme determinado pelo método Lowry e mais preferencialmente mais do que 99% em peso, (2) até um grau suficiente para obter pelo menos 15 resíduos de sequência de aminoácido N-terminal ou interna através do uso de um sequenciador de copo giratório ou (3) até a homogeneidade

através de SDS-PAGE sob condições de redução ou não redução usando o azul de Coomassie ou preferencialmente, coloração de prata. O anticorpo isolado inclui o anticorpo in situ dentro de células recombinantes uma vez que pelo menos um componente do ambiente natural do anticorpo não estará presente. Normalmente, no entanto, o anticorpo isolado será preparado através de pelo menos uma etapa de purificação.

[00295] Um anticorpo que "induz apoptose" é um que induz a morte celular programada conforme determinada pela ligação de anexina V, fragmentação de DNA, encolhimento celular, dilatação de retículo endoplasmático, fragmentação celular e/ou formação de vesículas de membrana (chamados corpos apoptóticos). A célula é uma célula tumoral, por exemplo, célula da mama, ovário, estômago, endométrio, glândula salivar, pulmão, rins, colon, tireoide, pancreática ou da bexiga. Vários métodos estão disponíveis para a avaliação dos eventos celulares associados com a apoptose. Por exemplo, a translocação da fosfatidil serina (PS) pode ser medida pela ligação à anexina; a fragmentação do DNA pode ser avaliada através da hierarquização do DNA; e a condensação nuclear/de cromatina junto com a fragmentação do DNA pode ser avaliada através de qualquer aumento nas células hipodiploides.

[00296] O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" se refere a uma quantidade de um fármaco eficaz para tratar uma doença ou distúrbio em um mamífero. No caso do câncer, a quantidade terapeuticamente eficaz do fármaco pode reduzir o número de células de câncer; reduzir o tamanho do tumor; inibir (isto é, diminuir até certo grau e preferencialmente parar) a infiltração celular do câncer nos órgãos periféricos; inibir (isto é, diminuir até certo grau e preferencialmente parar) a metástase do tumor; inibir, até certo grau, o crescimento do tumor; e/ou aliviar até certo grau um ou mais dos sintomas associados

com o câncer. À medida que o fármaco pode inibir o crescimento de e/ou matar as células de câncer existentes, ele pode ser citostático e/ou citotóxico. Para a terapia do câncer, a eficácia pode, por exemplo, ser medida através da avaliação do tempo para a progressão da doença (TTP) e/ou determinar a taxa de resposta (RR).

[00297] O termo "quantidade substancial" se refere a uma maioria, isto é, maior do que 50% da população, de uma mistura ou uma amostra.

[00298] O termo "metabólito intracelular" se refere a um composto que resulta de um processo ou reação metabólica dentro de uma célula em conjugado de fármaco de anticorpo (ADC). O processo ou reação metabólica pode ser um processo enzimático tal como clivagem proteolítica de um ligante de peptídeo do ADC. Os metabólitos intracelulares incluem, porém não se limitam a, anticorpos e fármaco livre que sofreram a clivagem intracelular depois da entrada, difusão, absorção ou transporte em uma célula.

[00299] Os termos "clivado de forma intracelular" e "clivagem intracelular" se referem a um processo ou reação metabólica dentro de uma célula em um ADC ou similar, pelo que a ligação covalente, por exemplo, o ligante, entre a porção do fármaco e o anticorpo esteja quebrada, resultando em fármaco livre ou outro metabólito do conjugado dissociado do anticorpo dentro da célula. As porções clivadas do ADC são assim os metabólitos intracelulares.

[00300] O termo "biodisponibilidade" se refere à disponibilidade sistêmica (isto é, níveis de sangue/plasma) de uma dada quantidade de um fármaco administrado a um paciente. A biodisponibilidade é um termo absoluto que indica a medição de ambos o tempo (taxa) e a quantidade total (medida) de fármaco que alcança a circulação geral de uma forma farmacêutica de dosagem administrada.

[00301] O termo "atividade citotóxica" se refere à morte celular, um

efeito citostático ou um efeito antiproliferativo de um ADC ou um metabólito intracelular de dito ADC. A atividade citotóxica pode ser expressada como o valor IC_{50} , o qual é a concentração (molar ou de massa) por volume unitário no qual as células sobrevivem.

[00302] Um "distúrbio" é qualquer condição que se beneficiaria de tratamento com um fármaco ou um conjugado de fármaco de anticorpo. Isto inclui distúrbios crônicos e agudos ou doenças incluindo aquelas condições patológicas que predis põem um mamífero ao distúrbio em questão. Os exemplos não limitantes de distúrbios a serem tratados no presente documento incluem cânceres benignos e malignos; leucemia e malignidades linfoides, distúrbios neuronais, gliais, astrocitais, hipotalâmicos e outros distúrbios glandulares, macrofágicos, epiteliais, estromais e blastocoélicos; e distúrbios inflamatórios, angiogênicos e imunológicos.

[00303] Os termos "câncer" e "canceroso" se referem a ou descrevem a condição ou distúrbio fisiológico nos mamíferos que é tipicamente caracterizado por crescimento celular não regulado. Um "tumor" compreende uma ou mais células cancerosas.

[00304] Exemplos de um "paciente" incluem, porém não se limitam a, um ser humano, rato, camundongo, porquinho de índia, macaco, porco, cabra, vaca, cavalo, cão, gato, passar e ave. Em uma modalidade exemplificadora, o paciente é um ser humano.

[00305] Os termos "tratar" ou "tratamento" a menos que indicados de outra forma pelo contexto, se referem ao tratamento terapêutico e medidas profiláticas para prevenir a recidiva, em que o objetivo é inibir ou retardar (diminuir) uma mudança ou transtorno fisiológico indesejado, como o desenvolvimento ou a disseminação do câncer. Para as finalidades desta invenção, os resultados clínicos benéficos ou desejados incluem, porém não se limitam a, alívio dos sintomas, diminuição da extensão da doença, estado estabilizado (isto é, sem piora) da do-

ença, retardo ou diminuição da progressão da doença, melhora ou palição do estado de doença e remissão (tanto parcial ou total), seja detectável ou indetectável. O "tratamento" também pode significar prolongar a sobrevivência conforme comparado à sobrevivência esperada caso não recebesse tratamento. Aqueles que necessitam de tratamento incluem aqueles que já têm a condição ou distúrbio assim como aqueles que tendem a ter a condição ou distúrbio.

[00306] No contexto do câncer, o termo "tratar" inclui qualquer um ou todos os relativos a inibir o crescimento de células tumorais, células de câncer ou de um tumor; inibir a replicação de células tumorais ou células de câncer, diminuir a carga tumoral total ou diminuir o número de células cancerosas e melhorar um ou mais sintomas associados com a doença.

[00307] No contexto de uma doença autoimune, o termo "tratar" inclui qualquer um ou todos os relativos a inibir a replicação de células associadas com um estado de doença autoimune incluindo, porém sem se limitar a, células que produzem um anticorpo autoimune, diminuir a carga anticorpo autoimune e melhorar um ou mais sintomas de uma doença autoimune.

[00308] No contexto de uma doença infecciosa, o termo "tratar" inclui qualquer um ou todos de: inibir o crescimento, multiplicação ou replicação do patógeno que causa a doença infecciosa e melhora um ou mais sintomas de uma doença infecciosa.

[00309] O termo "bula" é usado para se referir a instruções incluídas como de costume nas embalagens comerciais de produtos terapêuticos que contêm informação sobre a indicação(ões), uso, dosagem, administração, contraindicações e/ou advertências com relação ao uso de tais produtos terapêuticos.

[00310] Conforme usado no presente documento, os termos "célula", "linhagem celular" e "cultura celular" são usados de forma inter-

cambiável e todas tais designações incluem a progenia. Os termos "transformantes" e "células transformadas" incluem a célula objeto primária e culturas ou a progenia derivada do mesmo com relação ao número de transferências. Também deve-se entender que toda a progenia pode não ser precisamente idêntica no teor do DNA, devido a mutações deliberadas ou inadvertentes. A progenia mutante que tem a mesma função ou atividade biológica conforme rastreada na célula originariamente transformada é incluída. No local onde as designações distintas forem intencionais, ficará claro a partir do contexto.

[00311] Conforme usado no presente documento, CBI se refere a 1,2,9,9a-tetra-hidro-4H-benzo[e]ciclopropa[c]indol-4-ona ou uma forma substituída ou derivada da mesma. CBI também pode se referir à forma seco de CBI, ou seco-CBI, a qual é também conhecida como 1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ol, ou uma forma (ou formas) substituída(s) ou derivada(s) da mesma.

[00312] Conforme usado no presente documento, CPI se refere a 1,2,8,8a-tetra-hidrociclopropa[c]pirrolo[3,2-e]indol-4(5H)-ona ou uma forma substituída ou derivada da mesma. CPI também pode se referir à forma seco de CPI, ou seco-CPI, a qual é também conhecida como 8-(clorometil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-ol, ou uma forma (ou formas) substituída(s) ou derivada(s) da mesma.

[00313] A menos que indicado de outra forma, o termo "alquila" sozinho ou como parte de um outro termo se refere a um hidrocarboneto saturado, de cadeia reta ou ramificada tendo o número indicado de átomos de carbono (por exemplo, "C₁-C₈" alquila se refere a um grupo alquila tendo de 1 a 8 átomos de carbono). Os grupos alquila compreendem tipicamente de 1 a 20 átomos de carbono, preferencialmente de 1 a 8 átomos de carbono e mais preferencialmente de 1 a 4 átomos de carbono. Quando o número de átomos de carbono não é indicado, o grupo alquila tem de 1 a 8 átomos de carbono. As C₁-C₈ alquilas de

cadeia reta incluem, porém não se limitam a, metila, etila, n-propila, n-butila, n-pentila, n-hexila, n-heptila e n-octila; enquanto que as C_1 - C_8 alquilas ramificadas incluem, porém não se limitam a, -isopropila, -sec-butila, -isobutila, -terc-butila, -isopentila e -2-metilbutila; C_2 - C_8 alquilas insaturadas incluem, porém não se limitam a, vinila, alila, 1-butenila, 2-butenila, isobutilenila, 1-pentenila, 2-pentenila, 3-metil-1-butenila, 2-metil-2-butenila, 2,3-dimetil-2-butenila, 1-hexila, 2-hexila, 3-hexila, acetilenila, propinila, 1-butinila, 2-butinila, 1-pentinila, 2-pentinila e 3-metil-1-butinila. A referência à "alquila" no presente documento se refere a porções não substituídas e substituídas conforme descritas acima.

[00314] A menos que indicado de outra forma, "alquilenos" sozinho ou como parte de um outro termo, se refere a um radical de hidrocarboneto cíclico de cadeia saturada, reta ou ramificada do número declarado de átomos de carbono, tipicamente 1-18 átomos de carbono e tendo dois centros de radical monovalente derivados pela remoção dos dois átomos de hidrogênio do mesmo ou de dois diferentes átomos de carbono de um alceno parental). Os grupos alquilenos compreendem tipicamente de 1 a 18 átomos de carbono, preferencialmente de 1 a 10 átomos de carbono, mais preferencialmente de 1 a 8 átomos de carbono e mais preferencialmente de 1 a 4 átomos de carbono. Os radicais de alquilenos típicos incluem, porém não se limitam a: metileno ($-CH_2-$), 1,2-etileno ($-CH_2CH_2-$), 1,3-propileno ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-butileno ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$) e similares. Um " C_1 - C_{10} " alquilenos de cadeia reta é um grupo hidrocarboneto saturado de cadeia reta da fórmula $-(CH_2)_{1-10}-$. Exemplos de um C_1 - C_{10} alquilenos incluem metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno e decaleno. A referência ao "alquilenos" no presente documento se refere a porções não substituídas e substituídas conforme as descritas acima.

[00315] A menos que indicado de outra forma, o termo "heteroalquila" sozinho ou em combinação com um outro termo, significa, a menos que declarado de outra forma, um hidrocarboneto de cadeia estável reta ou ramificada ou combinações das mesmas, totalmente saturadas ou contendo de 1 a 3 graus de insaturação, que consistem do número declarado de átomos de carbono e de um a três heteroátomos selecionados a partir do grupo consistindo em O, N, Si e S, e em que os átomos de nitrogênio e enxofre podem ser opcionalmente oxidados e o heteroátomos de nitrogênio pode ser opcionalmente quaternizado. O(s) heteroátomo(s) O, N e S podem ser colocados em qualquer posição interior do grupo heteroalquila. O heteroátomo Si pode ser colocado em qualquer posição do grupo heteroalquila, incluindo a posição na qual o grupo alquila está ligado ao restante da molécula. Até dois heteroátomos podem ser consecutivos. Os grupos heteroalquila compreendem tipicamente de 1 a 15 átomos de carbono, preferencialmente de 1 a 12 átomos de carbono, mais preferencialmente de 1 a 8 átomos de carbono e mais preferencialmente de 1 a 4 átomos de carbono. A referência à "heteroalquila" no presente documento se refere a porções não substituídas e substituídas conforme as descritas acima.

[00316] A menos que indicado de outra forma, o termo "heteroalquilenos" sozinho ou como parte de um outro substituinte significa um grupo divalente derivado da heteroalquila (conforme discutido acima). Para os grupos heteroalquilenos, os heteroátomos também podem ocupar um ou ambos dos terminais de cadeia. A referência ao "heteroalquilenos" no presente documento se refere a porções não substituídas e substituídas conforme as descritas acima.

[00317] A menos que indicado de outra forma, "arila," sozinha ou uma parte de um outro termo, significa um radical hidrocarboneto aromático carbocíclico substituído ou não substituído monovalente de 5-20, preferencialmente 5-14 ou 6-14, átomos de carbono derivados

pela remoção de um átomo de hidrogênio a partir de um único átomo de carbono de um sistema de anel aromático parental. Os grupos arila típicos incluem, porém não se limitam a, radicais derivados de benzeno, benzeno substituído, naftaleno, antraceno, bifenila e similares. Um grupo aromático carbocíclico substituído (por exemplo, um grupo arila) pode ser substituído com um ou mais, preferencialmente 1 a 5, dos grupos que seguem: C_1-C_8 alquila, $-O-(C_1-C_8\text{alquila})$, $-C(O)R^9$, $-OC(O)R^9$, $-C(O)OR^9$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, halogênio, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R^9)$, $-N(R^9)_2$ e $-CN$; em que cada R^9 é independentemente selecionado a partir de $-H$, C_1-C_8 alquila e arila não substituída. Em algumas modalidades, um grupo aromático carbocíclico substituído também pode incluir um ou mais de: $-NHC(=NH)NH_2$, $-NHCONH_2$, $-S(=O)_2R^9$ e $-SR^9$. "Arieno" é a porção divalente correspondente.

[00318] "Alquila substituída" (ou "alquilenos substituídos", "heteroalquila substituída" ou "heteroalquilenos substituídos") significa o grupo ou radical relevante contendo alquila conforme discutido acima no qual um ou mais átomos de hidrogênio são independentemente substituídos com um substituinte. Os substituintes típicos incluem, porém não se limitam a, $-X$, $-R^{10}$, $-O-$, $-OR^{10}$, $-SR^{10}$, $-S^-$, $-NR^{10}_2$, $-NR^{10}_3$, $=NR^{10}$, $-CX_3$, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-N=C=O$, $-NCS$, $-NO$, $-NO_2$, $=N_2$, $-N_3$, $-NR^{10}C(=O)R^{10}R^{10}$, $-C(=O)NR^{10}_2$, $-SO_3^-$, $-SO_3H$, $-S(=O)_2R^{10}$, $-OS(=O)_2OR^{10}$, $-S(=O)_2NR^{10}$, $-S(=O)R^{10}$, $-OP(=O)(OR^{10})_2$, $-P(=O)(OR^{10})_2$, $-PO_3^{2-}$, PO_3H_2 , $-AsO_2H_2$, $-C(=O)R^{10}$, $-C(=O)X$, $-C(=S)R^{10}$, $-CO_2R^{10}$, $-CO_2^-$, $-C(=S)OR^{10}$, $-C(=O)SR^{10}$, $-C(=S)SR^{10}$, $-C(=O)NR^{10}_2$, $-C(=S)NR^{10}_2$ ou $-C(=N R^{10})NR^{10}_2$, onde cada X é independentemente um halogênio: $-F$, $-Cl$, $-Br$ ou $-I$; e cada R^{10} é independentemente $-H$, C_1-C_{20} alquila, C_1-C_{20} heteroalquila, C_6-C_{20} arila, C_1-C_{10} heterociclila, um grupo protetor ou uma porção de profármaco. Os grupos arila, al-

quileno e heteroalquileno conforme descritos acima podem ser também similarmente substituídos.

[00319] A menos que indicado de outra forma, "arquila" sozinha ou parte de um outro termo, significa um grupo alquila, conforme definido acima, substituted with an arila group, conforme definido acima.

[00320] A menos que indicado de outra forma, "C₃-C₁₀ heterociclila" sozinha ou como parte de um outro termo, se refere a um sistema de anel monovalente substituído ou não substituído, aromático ou não aromático monocíclico, bicíclico ou tricíclico tendo de 2 a 10, 2 ao 14 ou 2-20 átomos de carbono, preferencialmente 3 a 8 átomos de carbono (também referidos como membros de anel) e de um a quatro membros de anel de heteroátomos independentemente selecionados a partir de N, O, P ou S e derivados pela remoção de um átomo de hidrogênio a partir de um átomo de anel de um sistema de anel parental. Um ou mais átomos N, C ou S na heterociclila podem ser oxidados. O anel que inclui o heteroátomo pode ser aromático ou não aromático. Os heterociclos aromáticos são algumas vezes referidos no presente documento como heteroarilas. A menos que observado de outra forma, a heterociclila está ligada a seu grupo pendent em qualquer heteroátomo ou átomo de carbono que resulte em uma estrutura estável. Os exemplos representativos de uma C₂-C₁₀ heterociclila incluem, porém não se limitam a, tetra-hidrofuranila, oxetanila, piranila, pirrolidinila, piperidinila, piperazinila, benzofuranila, benzotiofeno, benzotiazolila, indolila, benzopirazolila, pirrolila, tiofenila (tiofeno), furanila, tiazolila, imidazolila, pirazolila, triazolila, quinolinila incluindo as porções como 1,2,3,4-tetra-hidro-quinolinila, pirimidinila, piridinila, piridonila, pirazinila, piridazinila, isotiazolila, isoxazolila, tetrazolila, epóxido, oxetano e BO-DIPY (substituído ou não substituído). Uma C₂-C₁₀ heterociclila pode ser substituída com até sete grupos incluindo, porém sem se limitar a, C₁-C₈ alquila, C₁-C₈ heteroalquila, -OR¹¹,

la, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{11}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{11}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{11}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{11}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{11})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{11}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{11}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}^{11}$, halogênio, $-\text{N}_3$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{R}^{11})$, $-\text{N}(\text{R}^{11})_2$ e $-\text{CN}$; em que cada R^{11} é independentemente selecionado a partir de $-\text{H}$, $\text{C}_1\text{-C}_8$ alquila, $\text{C}_1\text{-C}_8$ heteroalquila e arila. Em algumas modalidades, uma heterociclila substituída também pode incluir um ou mais de: $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-\text{NHCONH}_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{11}$ e $-\text{SR}^{11}$. Heterociclo ou $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ heterociclo é a porção divalente correspondente. Os heterociclos aromáticos divalentes são algumas vezes referidos no presente documento como heteroarileno ou $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ heteroarileno.

[00321] Conforme observado acima, os heterociclos aromáticos são algumas vezes referidos no presente documento como heteroarilas e contêm preferencialmente 5-14, 6-14 ou 6-20 átomos de carbono além dos heteroátomos. As heteroarilas podem ser sistemas de anel monocíclicos, bicíclicos ou tricíclicos. As heteroarilas representativas incluem, porém não se limitam à triazolila, tetrazolila, oxadiazolila, piridila, furila, benzofuranila, tiofenila, benzotiofenila, quinolinila, pirrolila, indolila, oxazolila, benzoxazolila, imidazolila, benzimidazolila, tiazolila, benzotiazolila, isoxazolila, pirazolila, isotiazolila, piridazinila, pirimidinila, pirazinila, triazinila, cinolinila, ftalazinila, quinazolinila, pirimidila, azepinila, oxepinila e quinoxalinila. As heteroarilas são opcionalmente substituídas. Os substituintes típicos incluem, porém não se limitam a, $-\text{X}$, $-\text{R}^h$, $-\text{O}-$, $-\text{OR}^h$, $-\text{SR}^h$, $-\text{S}^-$, $-\text{NR}^h_2$, $-\text{NR}^h_3$, $=\text{NR}^h$, $-\text{CX}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{OCN}$, $-\text{SCN}$, $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$, $-\text{NCS}$, $-\text{NO}$, $-\text{NO}_2$, $=\text{N}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{NR}^h\text{C}(=\text{O})\text{R}^h$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h_2$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^h$, $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OR}^h$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^h$, $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^h$, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^h)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^h)_2$, $-\text{PO}_3^{2-}$, PO_3H_2 , $-\text{AsO}_2\text{H}_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^h$, $-\text{C}(=\text{O})\text{X}$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}^h$, $-\text{CO}_2\text{R}^h$, $-\text{CO}_2^-$, $-\text{C}(=\text{S})\text{OR}^h$, $-\text{C}(=\text{O})\text{SR}^h$, $-\text{C}(=\text{S})\text{SR}^h$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^h_2$, $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^h_2$, $-\text{C}(=\text{NR})\text{NR}^h_2$, $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ heteroalquila, $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ arila, $\text{C}_3\text{-C}_8$ heterociclila, um grupo protetor ou uma porção de profármaco, onde cada X é independentemen-

te um halogênio: -F, -Cl, -Br ou -I; e cada R^h é independentemente -H ou C_1-C_6 alquila. Os heterociclos aromáticos divalentes são algumas vezes referidos no presente documento como heteroarilenos ou C_1-C_{10} heteroarilenos.

[00322] A menos que indicado de outra forma, "heteroaralquila" sozinha ou parte de um outro termo, significa um grupo alquila, conforme definido acima, substituído com um grupo heterociclila aromático, conforme definido acima. A heteroaralquila é a porção divalente correspondente.

[00323] A menos que indicado de outra forma, " C_3-C_8 carbociclila" sozinha ou como parte de um outro termo, é um anel carbocíclico, de 3-, 4-, 5-, 6-, 7 ou 8 membros monovalente, substituído ou não substituído ou não saturado, não aromático, monocíclico ou bicíclico derivado pela remoção de um átomo de hidrogênio a partir de um átomo de anel de um sistema de anel parental. A C_3-C_8 carbociclila representativa inclui, porém não se limita a, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclopentadienila, ciclo-hexila, ciclo-hexenila, 1,3-ciclo-hexadienila, 1,4-ciclo-hexadienila, ciclo-heptila, 1,3-ciclo-heptadienila, 1,3,5-ciclo-heptatrienila, ciclooctila, ciclooctadienila, biciclo(1.1.1.)pentane e biciclo(2.2.2.)octano. Um grupo C_3-C_8 carbociclila pode ser não substituído ou substituído com até sete grupos incluindo, porém sem se limitar a, C_1-C_8 alquila, C_1-C_8 heteroalquila, $-OR^{11}$, arila, $-C(O)R^{11}$, $-OC(O)R^{11}$, $-C(O)OR^{11}$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR^{11}$, $-C(O)N(R^{11})_2$, $-NHC(O)R^{11}$, $-S(=O)_2R^{11}$, $-S(=O)R^{11}$, $-OH$, -halogênio, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R^{11})$, $-N(R^{11})_2$ e $-CN$; onde cada R^{11} é independentemente selecionado a partir de -H, C_1-C_8 alquila, C_1-C_8 heteroalquila e arila. " C_3-C_8 carbociclo" é a porção divalente correspondente.

[00324] Conforme usado no presente documento, um substituinte de azido se refere a $-N=N=N$; um substituinte de cianato se refere a $-O-CN$; um substituinte de tiocianato se refere a $-S-CN$; um substituin-

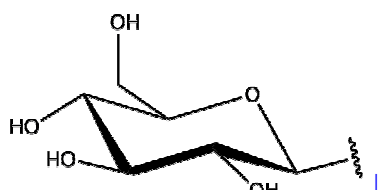
te de isocianato se refere a $\text{N}=\text{C}=\text{O}$; e um substituinte de tioisocianato se refere a $\text{S}-\text{N}=\text{C}=\text{O}$.

[00325] O termo "quiral" se refere a moléculas que têm a propriedade de não sobreposição à imagem de espelho, enquanto o termo "aquiral" se refere a moléculas que podem ser sobrepostas à sua imagem de espelho.

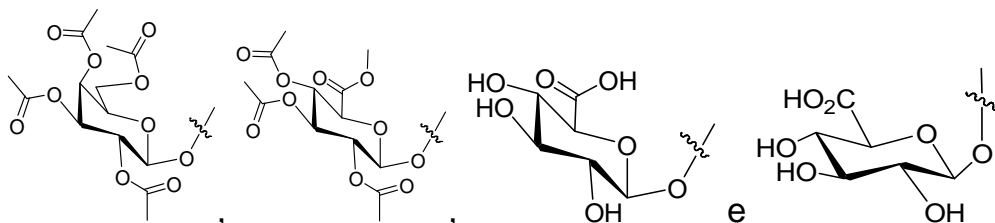
[00326] O termo "estereoisômeros" se refere a compostos que têm constituição química idêntica, porém diferem com relação à disposição dos átomos ou grupos no espaço.

[00327] "Diastereômero" se refere a um estereoisômero com dois ou mais centros de quiralidade e cujas moléculas não são imagens especulares uma da outra. Os diastereômeros têm diferentes propriedades físicas diferentes, por exemplo, pontos de fusão, pontos de ebulição, propriedades espectrais e as reatividades. As misturas de diastereômeros podem se separar sob procedimentos analíticos de alta resolução como a eletroforese e a cromatografia.

[00328] "Glicosila" se refere à estrutura:



[00329] ou formas substituídas das mesmas, por exemplo incluindo as estruturas de referência substituídas para formar as estruturas como:

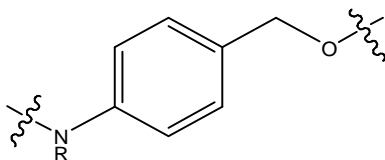


[00330] e muitas outras.

[00331] As definições e convenções estereoquímicas usadas no presente documento geralmente seguem S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms, McGraw-Hill Book Compa-

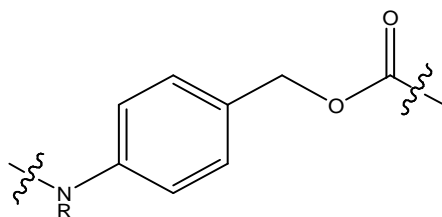
ny, New York (1984); and Eliel and Wilen, Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., New York (1994). Muitos compostos orgânicos existem em suas formas opticamente ativas, isto é, eles têm a capacidade de girar o plano da luz polarizada no plano. Ao descrever um composto opticamente ativo, os prefixos D e L ou R e S, são usados para denotar a configuração absoluta da molécula sobre os seus centros quirais. Os prefixos d e l ou (+) e (-) são empregados para designar o sinal de rotação de luz polarizada planar pelo composto, com (-) ou l significando que o composto é levorrotatório. Um composto prefixado com (+) ou d é dextrorrotatório. Para uma dada estrutura química, estes estereoisômeros são idênticos exceto pelo fato de que eles são imagens especulares um do outro. Um estereoisômero específico também pode ser referido como um enantiômero e uma mistura de tais isômeros é frequentemente chamada uma mistura enantiomérica. Uma mistura de 50:50 dos enantiômeros é referida como uma mistura racêmica ou um racemato, que pode ocorrer onde não existe estereosseleção ou a estereoespecificidade em uma reação ou processo químico. Os termos "mistura racêmica" e "racemato" se referem a uma mistura equimolar de duas espécies enantioméricas, destituída de atividade ótica.

[00332] Conforme usado no presente documento, "-PABA-" ou "PABA" se refere ao ácido p-aminobenzoico e porções derivadas das mesmas, por exemplo a estrutura:



[00333] ou variantes dos mesmos.

[00334] Conforme usado no presente documento, "-PABC-" ou "PABC" se refere a p-aminobenziloxycarbonila e porções derivadas das mesmas, por exemplo a estrutura:



[00335] ou variantes dos mesmos.

[00336] Um "derivado" de aminoácido inclui um aminoácido tendo substituições ou modificações por ligação covalente de um aminoácido parental, tal como, por exemplo, através de alquilação, glicosilação, acetilação, fosforilação e similares. Também são incluídos dentro da definição de "derivado", por exemplo, um ou mais análogos de um aminoácido com ligações substituídas, assim como outras modificações conhecidas na técnica.

[00337] Um "aminoácido natural" se refere à arginina, glutamina, fenilalanina, tirosina, triptofano, lisina, glicina, alanina, histidina, serina, prolina, ácido glutâmico, ácido aspártico, treonina, cisteína, metionina, leucina, asparagina, isoleucina e valina, a menos que indicados de outra forma pelo contexto.

[00338] O "grupo protetor" se refere a uma porção que, quando ligada a um grupo reativo em uma molécula mascara, reduz ou impede a reatividade. Exemplos de grupos protetores podem ser encontrados em T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons, New York, 1999, e Harrison and Harrison e outros, *Compendium of Synthetic Organic Métodos*, Vols. 1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996), os quais são incorporados no presente documento a título de referência em sua totalidade. Os grupos protetores hidróxi representativos incluem grupos acila, benzil e tritil éteres, tetra-hidropiranyl éteres, trialkylsilyl éteres e alil éteres. Os grupos protetores amino representativos incluem, formila, acetila, trifluoroacetila, benzila, benziloxycarbonila (CBZ), terc-butoxycarbonila (Boc), trimetil silila (TMS), 2-trimethylsilyl-etanossulfonila (SES), grupos tritila e tritila substituída,

aliloxicarbonila, 9-fluorenilmetiloxicarbonila (FMOC), nitro-veratrilocarbonila (NVOC) e similares.

[00339] Exemplos de um "grupo protetor hidroxila" incluem, porém não se limitam a, metoximetil éter, 2-metoxietoximetil éter, tetra-hidropiranyl éter, benzil éter, p-metoxibenzil éter, trimetilsilil éter, trietil-silil éter, triisopropil silil éter, t-butildimetil silil éter, trifenilmetil silil éter, éster de acetato, ésteres de acetato substituídos, pivalato, benzoato, metanossulfonato e p-toluenossulfonato.

[00340] "Grupo de saída" se refere a um grupo funcional que pode ser substituído por um outro grupo funcional. Tais grupos de partida são bem conhecidos na técnica e os exemplos incluem, porém não se limitam a, um haleto (por exemplo, cloreto, brometo, iodeto), metanosulfonila (mesila), p-toluenossulfonila (tosila), trifluorometilsulfonila (triflato) e trifluorometilsulfonato.

[00341] A frase "sal farmaceuticamente aceitável" conforme usada no presente documento, se refere a sais orgânicos ou inorgânicos farmaceuticamente aceitáveis de um composto. O composto tipicamente contém pelo menos um grupo amino e consequentemente os sais de adição de ácido que podem ser formados com este grupo amino. Os sais exemplificadores incluem, porém não se limitam a, sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloreto, brometo, iodeto, nitrato, bissulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartarato, oleato, tanato, pantotenato, bitartarato, ascorbato, succinato, maleato, malato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanossulfonato, etanossulfonato, benzenossulfonato, p-toluenossulfonato e sais de pamoato (isto é, 1,1'-metileno-bis-(2-hidróxi-3-naftoato)). Um sal farmaceuticamente aceitável pode envolver a inclusão de uma outra molécula tal como um íon de acetate, um íon de succinate ou outro contraíon. O contraíon pode ser qualquer porção orgânica ou inorgânica que estabiliza a mu-

dança no composto parental. Além disso, um sal farmaceuticamente aceitável pode ter mais do que um átomo carregado em sua estrutura. Os exemplos onde múltiplos átomos carregados são parte do sal farmaceuticamente aceitável podem ter múltiplos contraíons. Portanto, um sal farmaceuticamente aceitável pode ter um ou mais átomos carregados e/ou um ou mais contraíon.

[00342] "Solvato farmaceuticamente aceitável" ou "solvato" se referem a uma associação de uma ou mais moléculas de solvente e um composto ou conjugado da invenção. Exemplos de solventes que formam os solvatos farmaceuticamente aceitáveis incluem, porém não se limitam a, água, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etila, ácido acético e etanolamina.

[00343] Os termos "carga" ou "carga de fármaco" ou "carregamento de carga" representam ou se referem ao número médio de cargas ("carga" e "cargas" são usados de forma intercambiável no presente documento com "fármaco" e "fármacos") por anticorpo em uma molécula de ADC. A carga de fármaco pode variar de 1 a 20 fármacos por anticorpo. Isto é algumas vezes referido como o DAR, ou relação fármaco para anticorpo. As composições dos ADCs descritos no presente documento têm tipicamente DAR's de 1-20 e em certas modalidades de 1-8, de 2-8, de 2-6, de 2-5 e de 2-4. Os típicos valores de DAR são 2, 4, 6 e 8. O número médio de fármacos por anticorpo ou valor de DAR, podem ser caracterizados por meios convencionais tais como espectroscopia visível/UV, espectroscopia de massa, teste ELISA e HPLC. O valor de DAR quantitativo também pode ser determinado. Em alguns exemplos, a separação, purificação e a caracterização de ADCs homogêneos tendo um valor de DAR particular podem ser alcançadas por meios tais como HPLC de fase reversa ou a eletroforese. DAR pode ser limitado pelo número de sítios de ligação no anticorpo. Por exemplo, onde a ligação é uma tiol cisteína, um anticorpo pode

ter apenas um ou vários grupos tiol cisteína, ou pode ter apenas um ou vários grupos tiol suficientemente reativos através de uma unidade ligante que pode ser ligada. Em algumas modalidades, como um grupo de tiol cisteína de um resíduo de cisteína que forma uma ligação dissulfeto entre as cadeias. Em algumas modalidades, as tiol cisteínas de um grupo tiol de um resíduo de cisteína que não formam uma ligação dissulfeto entre as cadeias. Tipicamente, menos porções de fármaco do que o máximo teórico são conjugadas a um anticorpo durante uma reação de conjugação. Um anticorpo pode conter, por exemplo, muitos resíduos de lisina que não reagem com um ligante ou intermediário de ligante. Apenas os grupos lisina mais reativos podem reagir com um reagente de ligante reativo.

[00344] Em geral, os anticorpos não contêm muitos, se alguns, grupos livres e reativos de tiol cisteína que podem ser ligados a um fármaco através de um ligante. A maioria dos resíduos de tiol cisteína nos anticorpos existe como pontes dissulfeto e deve ser reduzida como um agente de redução tal como ditioneitol (DTT). O anticorpo pode ser submetido a condições de desnaturação para revelar os grupos nucleofílicos reativos tais como lisina ou cisteína. A carga (relação fármaco/anticorpo) de um ADC pode ser controlada de várias formas diferentes, incluindo: (i) limitar o excesso molar de fármaco-ligante relativo ao anticorpo, (ii) limitar o tempo ou a temperatura da reação de conjugação e (iii) limitar de forma parcial ou limitar as condições redutivas para a modificação de tiol cisteína. No local onde mais do que um grupo nucleofílico reage com um fármaco-ligante, então o produto resultante é uma mistura de ADCs com uma distribuição de uma ou mais porções de fármaco por anticorpo. O número médio de fármacos por anticorpo pode ser calculado a partir da mistura, por exemplo, ensaio de anticorpo ELISA duplo, específico para o anticorpo e específico para o fármaco. Os ADCs individuais podem ser identificados na mistura

por espectroscopia de massa e separados por HPLC, por exemplo, cromatografia de interação hidrofóbica.

[00345] Abaixo está uma lista de abreviações e definições que não podem ser definidas ou descritas de outra forma neste pedido: DMSO (se refere a dimetil sulfóxido), HRMS (se refere a espectrometria de massa de alta resolução), DAD (se refere a detecção por arranjo de diodos), TFA (se refere a ácido 2,2,2-trifluoroacético ou ácido trifluoroacético), TFF (se refere a filtração em fluxo tangencial), EtOH (se refere a etanol), MW (se refere a peso molecular), HPLC (se refere a cromatografia líquida de alto desempenho), HPLC prep (se refere a cromatografia líquida preparativa de alto desempenho), etc. (se refere a e assim por diante), tritila (se refere a 1,1',1''-etano-1,1,1-triiltribenzeno), THF (se refere a tetra-hidrofurano), NHS (se refere a 1-hidróxi-2,5-pirrolidinadiona), Cbz (se refere a carboxibenzila), eq. (se refere a equivalente), *n*-BuLi (se refere a *n*-butillítio), OAc (se refere a acetato), MeOH (se refere a metanol), *i*-Pr (se refere a isopropila ou propan-2-il), NMM (se refere a 4-metilmorfolina), e "-" (em uma tabela se refere a nenhum dado disponível neste momento).

[00346] As porções e substituintes divalentes usados no presente documento pretendem se referir a tais porções ou substituintes ligados ou unidos em uma ou ambas as direções. Por exemplo, a porção -C(O)NR- (na definição de L^{B1} e em todo local) pretende conduzir -C(O)NR- assim como -NRC(O)-, a porção -C(O)C₁-C₆alquil- pretende conduzir -C(O)C₁-C₆alquil- assim como -C₁-C₆alquilaC(O)- e assim por diante. Mais geralmente, uma descrição de uma porção não simétrica divalente ligada em um de seus lados "esquerdo" e "direito" pretende conduzir tanto a porção conforme apresentada (lado esquerdo da porção ligada no lado esquerdo como escrito, lado direito da porção ligada no lado direito como escrito) e o inverso da porção conforme apresentado (lado esquerdo da porção ligada no lado direito conforme es-

crito, lado direito da porção ligada no lado esquerdo conforme escrito).

[00347] Os termos "ligação" e "ausente" são ambos usados no presente documento para descrever uma variável que não inclui um átomo ou átomos. Sendo assim, quando uma variável divalente que é "ausente" é entendida como se as porções adjacentes estivessem ligadas uma a outra. Por exemplo, caso L^{B2} esteja ausente, entende-se que L^{B1} pode estar ligado a L^{B3} ; ou se L^{B1} e L^{B2} estiverem ambos ausentes, entende-se que L^A pode estar ligado a L^{B3} . De forma similar, se uma variável divalente for definida como sendo uma "ligação" que se entende como não existem átomos presentes e as porções adjacentes são ligadas uma a outra. Sendo assim, por exemplo, quando a variável "D" é definida como sendo uma ligação, estima-se que os carbonos D adjacentes (na definição de estrutura T^2) estejam ligados um ao outro. Entende-se que uma variável monovalente ausente é um hidrogênio ou um par de elétrons capaz de ligação covalente adicional.

A unidade de anticorpo (A, Ab ou AB)

[00348] Conforme observado acima, o termo "anticorpo" (ou "A", "Ab" ou "AB") no presente documento é usado no sentido mais amplo e cobre especificamente os anticorpos monoclonais intactos, anticorpos policlonais, anticorpos monoespecíficos, anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos) e fragmentos de anticorpo que exibem a atividade biológica desejada. Além disso, enquanto certos aspectos da invenção descritos no presente documento se referem a conjugados de fármaco de anticorpo, é adicionalmente previsto que a porção de anticorpo do conjugado deva ser substituída com algo que especificamente se ligue ou se associe de forma reativa com um receptor, antígeno ou outra porção receptiva associada com uma dada população de célula alvo. Por exemplo, em vez de conter um anticorpo um conjugado da invenção poderia conter uma molécula direcionada que se ligue, ou que forme complexos, ou reaja com um receptor, an-

tígeno ou outra porção receptive de uma população celular entendida como sendo terapeuticamente ou de outra forma biologicamente modificada. Exemplo de tais moléculas incluem proteínas de menor peso molecular, polipeptídeo ou peptídeos, lectinas, glicoproteínas, não peptídeos, vitaminas, moléculas que transportam nutrientes (tais como, porém, sem se limitar a transferrina), ou qualquer outra molécula ou substâncias de ligação celular. Em certos aspectos, o anticorpo ou outra tal molécula direcionada age como que ao liberar um fármaco à população celular alvo em particular com o qual o anticorpo ou outra molécula direcionada interaje.

[00349] Em um outro aspecto, a presente invenção se refere a um composto conjugado de fármaco de anticorpo de Fórmulas IIIA ou IIIB em que o anticorpo AB é selecionado a partir de: trastuzumab, mutantes de trastuzumab (por exemplo, um mutante de trastuzumab revelado no presente documento ou no pedido de patente internacional PCT/IB2012/056234), oregovomab, edrecolomab, cetuximab, um anticorpo monoclonal humanizado para o receptor vitronectina ($\alpha_v\beta_3$), alemtuzumab, anticorpos anti-HLA-DR incluindo um anticorpo anti-HLA-DR humanizado para o tratamento de linfoma não Hodgkin, anticorpos 131I Lym-1, anticorpos anti-HLA-Dr10 incluindo um anticorpo anti-HLA-Dr10 de murino para o tratamento de linfoma não Hodgkin, anticorpos anti-cd33, anticorpos anti-cd22 incluindo um anticorpo anti-CD22 mAb humanizado para o tratamento de doença de Hodgkin ou linfoma não Hodgkin, labetuzumab, bevacizumab, ibritumomab tiuxetan, ofatumumab, panitumumab, rituximab, tositumomab, ipilimumab e gemtuzumab.

[00350] Os heteroátomos, que podem estar presentes em uma unidade de anticorpo incluem enxofre (em uma modalidade, a partir de um grupo sulfidríla de um anticorpo), oxigênio (em uma modalidade, a partir de um grupo carbonila, carboxila ou hidroxila de um anticorpo) e

nitrogênio (em uma modalidade, a partir de um grupo amino primário ou secundário de um anticorpo). Estes heteroátomos podem estar presentes no anticorpo no estado natural do anticorpo, por exemplo um anticorpo que ocorre naturalmente ou pode ser introduzido no anticorpo através de modificação química.

[00351] Em uma modalidade, uma unidade de anticorpo tem um grupo sulfidril e a unidade de anticorpo se liga através do átomo de enxofre do grupo sulfidril.

[00352] Em uma outra modalidade, o anticorpo tem resíduos de lisina que podem reagir com ésteres ativados (tais ésteres incluem, porém não se limitam a, ésteres de N-hidroxissuccinimida, pentafluorofenila e p-nitrofenila) e assim formam uma ligação amida consistindo do átomo de nitrogênio da unidade de anticorpo e uma carbonila.

[00353] Em ainda um outro aspecto, a unidade de anticorpo tem um ou mais resíduos de lisina que podem ser quimicamente modificados para introduzir um ou mais grupos sulfidril. Os reagentes que podem ser usados para modificar as lisinas incluem, porém não se limitam a, S-acetiltioacetato de N-succinimidila (SATA) e cloridrato de 2-iminotiolano (Reagente de Traut).

[00354] Em uma outra modalidade, a unidade de anticorpo pode ter um ou mais grupos de carboidrato que podem ser quimicamente modificados para ter um ou mais grupos sulfidril.

[00355] Em ainda uma outra modalidade, a unidade de anticorpo pode ter um ou mais grupos de carboidrato que podem ser oxidados para prover um grupo aldeído (veja, por exemplo, Laguzza, e outros, 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). O aldeído correspondente pode formar uma ligação com um sítio reativo tal como, por exemplo, hidrazina e hidroxilamina. Outros protocolos para a modificação de proteínas para a ligação ou associação de fármacos são descritos em Coligan e outros, Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley

& Sons (2002) (incorporado no presente documento a título de referência).

[00356] Quando os conjugados compreendem proteína não imunorreativa, polipeptídeo ou unidades de peptídeo em vez de um anticorpo, a proteína não imunorreativa útil, polipeptídeo ou unidades de peptídeo incluem, porém não se limitam a, transferrina, fatores de crescimento epidérmico ("EGF"), bombesina, gastrina, peptídeo de liberação de gastrina, fator de crescimento derivado de plaqueta, IL-2, IL-6, fatores de crescimento de transformação ("TOP"), tais como TGF- α e TGF- β , fator de crescimento vaccinia ("VGF"), insulina e fatores de crescimento do tipo insulina I e II, somatostatina, lectinas e apoproteína da lipoproteína de baixa densidade.

[00357] Os anticorpos policlonais úteis são populações heterogêneas de moléculas de anticorpo derivadas do soro de animais imunizados. Os anticorpos monoclonais úteis são populações homogêneas de anticorpos para um determinante antigênico particular (por exemplo, um antígeno de célula cancerígena, um antígeno viral, um antígeno microbiano, uma proteína, um peptídeo, um carboidrato, um produto químico, um ácido nucleico ou fragmentos dos mesmos). Um anticorpo monoclonal (mAb) para um antígeno de interesse pode ser preparado ao se usar qualquer técnica conhecida na técnica a qual prove a produção de moléculas de anticorpo através de linhagens celulares contínuas na cultura.

[00358] Os anticorpos monoclonais úteis incluem, porém não se limitam a, anticorpos monoclonais humanos, anticorpos monoclonais humanizados, fragmentos de anticorpo ou anticorpos monoclonais quiméricos. Os anticorpos monoclonais humanos podem ser produzidos a partir de qualquer uma das numerosas técnicas conhecidas na técnica (por exemplo, Teng e outros, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312; Kozbor e outros, 1983, Immunology Today 4:72-79; e

Olsson e outros, 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

[00359] O anticorpo também pode ser um anticorpo biespecífico. Métodos para produzir anticorpos biespecíficos são conhecidos na técnica e discutidos a seguir.

[00360] O anticorpo pode ser um fragmento funcionalmente ativo, derivado ou análogo de um anticorpo que se liga de forma imuno-específica às células-alvo (por exemplo, antígenos de células cancerígenas, antígenos virais ou antígenos microbianos) ou outros anticorpos que se ligam a células tumorais ou células matriz. Neste sentido, "funcionalmente ativo" significa que o fragmento, derivado ou análogo é capaz de elicitar anticorpos anti-anti-idiotipo que reconhecem o mesmo antígeno que o anticorpo a partir do qual o fragmento, derivado ou análogo é derivado. Especificamente, em uma modalidade exemplificadora a antigenicidade do idiotipo da molécula de imunoglobulina pode ser aperfeiçoada pela deleção das sequências de CDR e estruturais que são C-terminais à Sequência de CDR que reconhece especificamente o antígeno. Para determinar quais sequências de CDR se ligam ao antígeno, os peptídeos sintéticos contendo as sequências de CDR podem ser usados nos ensaios de ligação com o antígeno através de qualquer método de ligação conhecido na técnica (por exemplo, o ensaio de núcleo BIA) (para a localização das sequências de CDR, veja, por exemplo, Kabat e outros, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md.; Kabat E e outros, 1980, J. Immunology 125(3):961-969).

[00361] Outros anticorpos úteis incluem fragmentos de anticorpos tais como, porém sem se limitar a fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos Fab, Fvs, anticorpos de cadeia única, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, scFv, scFv-FV ou qualquer outra molécula com a mesma especificidade como o anticorpo.

[00362] De forma adicional, os anticorpos recombinantes, tais como anticorpos monoclonais quiméricos e humanizados, compreendendo ambas as porções humanas e não humanas, que podem ser produzidas usando técnicas de DNA recombinante padronizadas, são anticorpos úteis. Um anticorpo quimérico é uma molécula, na qual diferentes porções são derivadas de diferentes espécies animais, tais como por exemplo, aquelas que têm uma região variável derivada de uma região constante humana de um murino monoclonal e de imunoglobulina humana. (Veja, por exemplo, Patente Norte-americana No. 4,816,567; e Patente Norte-americana No. 4,816,397, as quais são incorporadas no presente documento a título de referência em sua totalidade). Os anticorpos humanizados são moléculas de anticorpo de espécies não humanas que têm uma ou mais regiões determinantes de complementariedade (CDRs) a partir de espécies não humanas e uma região estrutural de uma molécula de imunoglobulina humana. (Veja, por exemplo, Patente Norte-americana No. 5,585,089, a qual é incorporada no presente documento a título de referência em sua totalidade). Tais anticorpos monoclonais quiméricos e humanizados podem ser produzidos por técnicas de DNA recombinante conhecidas na técnica, por exemplo, usando métodos descritos na publicação Internacional No. WO 87/02671; Publicação de Patente Europeia No. 0 184 187; Publicação de Patente Europeia No. 0 171 496; Publicação de Patente Europeia No. 0 173 494; Publicação Internacional No. WO 86/01533; Patente Norte-americana No. 4,816,567; Publicação de Patente Europeia No. 012 023; Berter e outros, 1988, Science 240:1041-1043; Liu e outros, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443; Liu e outros, 1987, J. Immunol. 139:3521-3526; Sun e outros, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218; Nishimura e outros, 1987, Cancer. Res. 47:999-1005; Wood e outros, 1985, Nature 314:446-449; e Shaw e outros, 1988, J. Natl. Cancer Inst.

80:1553-1559; Morrison, 1985, Science 229:1202-1207; Oi e outros, 1986, BioTechniques 4:214; Patente Norte-americana No. 5,225,539; Jones e outros, 1986, Nature 321:552-525; Verhoeyan e outros, 1988, Science 239:1534; e Beidler e outros, 1988, J. Immunol. 141:4053-4060; cada uma das quais é incorporada no presente documento a título de referência em sua totalidade.

[00363] Os anticorpos completamente humanos são particularmente desejáveis e podem ser produzidos usando camundongos transgênicos que são incapazes de expressar genes de cadeia pesada e leva de imunoglobulina endógena, porém expressam os genes de cadeia pesada e leve humanos. Os camundongos transgênicos são imunizados da forma normal com um antígeno selecionado, por exemplo, toda ou uma porção de um polipeptídeo da invenção. Os anticorpos monoclonais direcionados contra o antígeno podem ser obtidos usando a tecnologia de hibridoma convencional. Os transgenes da imunoglobulina humana hospedados pelos camundongos transgênicos se reorganizam durante a diferenciação de células B e subsequentemente se submetem a troca de classe e mutação somática. Sendo assim, ao usar tal técnica, é possível produzir anticorpos IgG, IgA, IgM e IgE terapêuticamente úteis. Para uma revisão desta tecnologia para a produção de anticorpos humanos, veja Lonberg e Huszar, 1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93. Para uma discussão detalhada desta tecnologia para produção de anticorpos humanos e anticorpos monoclonais humanos e protocolos para a produção de tais anticorpos, veja, por exemplo, Patentes Norte-americanas Nos. 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; cada uma das quais é incorporada no presente documento a título de referência em sua totalidade. Outros anticorpos humanos podem ser obtidos comercialmente da, por exemplo, Abgenix, Inc. (agora Amgen, Freemont, Calif.) e Medarex (Princeton, N.J.).

[00364] Os anticorpos completamente humanos que reconhecem um epítopo selecionado podem ser gerados usando uma técnica referida como "seleção orientada". Nesta tentativa, um anticorpo monoclonal não humano selecionado, por exemplo, um anticorpo de camundongo, é usado para orientar a seleção de um anticorpo completamente humano que reconhece o mesmo epítopo. (Veja, por exemplo, Jespers e outros, 1994, *Biotechnology* 12:899-903). Os anticorpos humanos também podem ser produzidos usando várias técnicas conhecidas na técnica, incluindo as bibliotecas de fagos (veja, por exemplo, Hoo-genboom e Winter, 1991, *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks e outros, 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581; Quan e Carter, 2002, *The rise of anticorpos monoclonais as therapeutics*, In *Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu and Fick, eds., Marcel Dekker, New York, N.Y., Chapter 20, pp. 427-469).

[00365] Em outras modalidades, o anticorpo é uma proteína de fusão de um anticorpo ou um fragmento funcionalmente ativo do mesmo, por exemplo, no qual o anticorpo é fundido através de uma ligação covalente (por exemplo, uma ligação de peptídeo), seja no N-terminal ou C-terminal em uma sequência de aminoácido de uma outra proteína (ou porção da mesma, preferencialmente pelo menos 10, 20 ou 50 aminoácidos na porção da proteína) que não sejam de um anticorpo. Preferencialmente, o anticorpo ou fragmento do mesmo é covalentemente ligado à outra proteína no N-terminal do domínio constante.

[00366] Os anticorpos incluem análogos e derivados que tanto são modificados, isto é, pela ligação covalente de qualquer tipo de molécula a medida que tal ligação covalente permita ao anticorpo reter sua imunoespecificidade de ligação ao antígeno. Por exemplo, porém não por meio de limitação, os derivados e análogos dos anticorpos incluem aqueles que foram adicionalmente modificados, por exemplo, através de glicosilação, acetilação, fosforilação, amidação, derivação por gru-

pos de proteção/bloqueio conhecidos, clivagem proteolítica, ligação a uma unidade de anticorpo celular ou outra proteína, etc. qualquer uma das numerosas modificações químicas podem ser realizadas por técnicas conhecidas incluindo, porém sem se limitar a, clivagem química específica, acetilação, formilação, síntese metabólica na presença de tunicamicina, etc. Adicionalmente, o análogo ou derivado pode conter um ou mais aminoácidos não naturais.

[00367] Os anticorpos podem ter modificações (por exemplo, substituições, deleções ou adições) nos resíduos de aminoácido que interagem com os receptores de Fc. Em particular, os anticorpos podem ter modificações nos resíduos de aminoácido identificados conforme envolvidos na interação entre o domínio anti-Fc e o receptor FcRn (veja, por exemplo, a Publicação Internacional No. WO 97/34631, o qual é incorporado no presente documento a título de referência em sua totalidade).

[00368] Os anticorpos imuno-específicos para um antígeno de célula cancerígena podem ser obtidos comercialmente ou produzidos por qualquer método conhecido a um versado na técnica tal como, por exemplo, técnicas de síntese química ou expressão recombinante. A sequência de nucleotídeos que codifica anticorpos imuno-específicos para um antígeno de célula cancerígena podem ser obtidos, por exemplo, a partir da base de dados GenBank ou uma base de dados como esta, publicações da literatura ou por clonagem e sequenciamento de rotina.

[00369] Em uma modalidade específica, os anticorpos conhecidos para o tratamento de cancer podem ser usados. Os anticorpos imuno-específicos para um antígeno de célula cancerígena podem ser obtidos comercialmente ou produzidos por qualquer método conhecido a um versado na técnica tal como, por exemplo, as técnicas de expressão recombinante. A sequência de nucleotídeos que codifica anticor-

pos imuno-específicos para um antígeno de célula cancerígena pode ser obtida, por exemplo, a partir da base de dados GenBank ou uma base de dados como esta, as publicações da literatura, ou por clonagem e sequenciamento de rotina. Exemplos de anticorpos disponíveis para o tratamento de câncer incluem, porém não se limitam a, OVARIX o qual é um anticorpo de murino para o tratamento de câncer de ovários; PANOREX (Glaxo Wellcome, NC) o qual é um anticorpo de murino IgG_{2a} para o tratamento de câncer colorretal; Cetuximab ERBITUX (Imclone Systems Inc., NY) o qual é um anticorpo quimérico anti-EGFR IgG para o tratamento de cânceres com fator de crescimento positivo epidérmico, tal como câncer de cabeça e pescoço; Vitaxin (MedImmune, Inc., MD) o qual é um anticorpo humanizado para o tratamento de sarcoma; CAMPATH 1H (Leukosite, MA) o qual é um anticorpo IgG₁ humanizado para o tratamento de leucemia linfocítica crônica (CLL); SMART ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA) o qual é um anticorpo humanizado anti-HLA-DR para o tratamento de linfoma não Hodgkin; ONCOLYM (Techniclone, Inc., CA) o qual é um anticorpo de murino radiomarcado anti-HLA-Dr10 para o tratamento de linfoma não Hodgkin; ALLOMUNE (BioTransplant, CA) o qual é um mAb humanizado anti-CD2 para o tratamento de doença de Hodgkin ou linfoma não Hodgkin; e CEACIDE (Immunomedics, NJ) o qual é um anticorpo humanizado anti-CEA para o tratamento de câncer colorrectal.

[00370] De modo a encontrar alvos celulares eficazes para o diagnóstico e terapia de câncer, os pesquisadores quiseram identificar a transmembrana ou de outra forma os polipeptídeos associados ao tumor que são especificamente expressados na superfície de um ou mais tipo(s) particular(es) de célula cancerígena conforme comparado a uma ou mais das célula(s) não cancerosa(s) normais. Frequentemente, tais polipeptídeos associados ao tumor são mais abundantemente expressados na superfície das células de câncer conforme

comparado nas células não cancerosas. A identificação de tais polipeptídeos de antígeno de superfície celular associados ao tumor aumentou a capacidade de direcionar especificamente as células de câncer para a destruição através de terapias com base em anticorpo.

A Unidade de ligação (L)

[00371] Um ligante (algumas vezes referido como "[ligante]" no presente documento) é um composto bifuncional que pode ser usado para ligar um fármaco e um anticorpo para formar um conjugado anticorpo fármaco (ADC). Tais conjugados são úteis, por exemplo, na formação de imunokonjugados que agem contra os antígenos associados ao tumor. Tais conjugados permitem a liberação seletiva de fármacos citotóxicos em células tumorais.

[00372] Em um ADC, o ligante serve para ligar a carga ao anticorpo.

[00373] Em um aspecto, uma segunda seção da unidade de ligação é introduzida a qual tem um segundo sítio reativo, por exemplo, um grupo eletrofílico que é reativo a um grupo nucleofílico presente em uma unidade de anticorpo (por exemplo, um anticorpo). Os grupos nucleofílicos úteis em um anticorpo incluem, porém não se limitam a, grupos sulfidril, hidroxila e amino. O heteroátomo do grupo nucleofílico de um anticorpo é reativo a um grupo eletrofílico em uma unidade de ligação e forma uma ligação covalente a uma unidade de ligação. Os grupos eletrofílicos úteis incluem, porém não se limitam a, grupos maleimida e haloacetamida. O grupo eletrofílico provê um sítio conveniente para a ligação ao anticorpo.

[00374] Em uma outra modalidade, a unidade de ligação tem um sítio reativo que tem um grupo nucleofílico que é reativo a um grupo eletrofílico presente em um anticorpo. Os grupos eletrofílicos úteis em um anticorpo incluem, porém não se limitam a, grupos aldeído e cetona carbonila. O heteroátomo de um grupo nucleofílico de uma unidade

de ligação pode reagir com um grupo eletrofílico em um anticorpo e forma uma ligação covalente ao anticorpo. Os grupos nucleofílicos úteis em uma unidade de ligação incluem, porém não se limitam a, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiossemicarbazona, carboxilato de hidrazina e arilhidrazida. O grupo eletrofílico em um anticorpo provê um sítio conveniente para ligação a uma unidade de ligação.

[00375] Os grupos aminofuncionais também são sítios reativos úteis para uma unidade de ligação porque eles podem reagir com ácido carboxílico ou ésteres ativados de um composto para formar uma ligação amida. Tipicamente, os compostos com base em peptídeo da invenção podem ser preparados através da formação de uma ligação de peptídeo entre dois ou mais aminoácidos e/ou fragmentos de peptídeo. Tal ligação de peptídeos pode ser preparada, por exemplo, de acordo com o método de síntese de fase líquida (veja, por exemplo, Schroder e Lubke, "The Peptides", volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press) que é bem conhecido no campo da química peptídica.

[00376] No contexto da invenção, particularmente, porém não limitado a componentes ligantes tais como L_1 , L_2 (incluindo L_2^A , L_2^B e L_2^C) e L_3 , a linguagem "selecionados a partir de um ou mais de" ou "um ou mais de" indica que múltiplos componentes, que podem ser os mesmos ou diferentes, estão ou podem ser dispostos de forma sequencial. Sendo assim, por exemplo, L_3 pode ser $-C_{1-6}\text{alquil-}$, $-NR-$ ou outros componentes individualmente listados, porém também $-C_{1-6}\text{alquil-NR-}$, ou qualquer outra combinação de 2 ou mais componentes listados.

[00377] Em uma outra modalidade, a unidade de ligação tem um sítio reativo que pode reagir com os nucleófilos de anticorpo, como as cisteínas. O sítio reativo é compreendido de um heterociclo que é substituído com uma sulfona. A sulfona também é substituída pelo nucleófilo do anticorpo (isto é, cisteína) e a ligação recém-formada entre o anticorpo e o heterociclo conecta o anticorpo ao ligante. Veja, WO

2014/144878.

Síntese de Compostos e Conjugados de fármaco de anticorpo dos mesmos

[00378] Os compostos e conjugados da invenção podem ser preparados usando os procedimentos sintéticos detalhados abaixo na Exemplificação. Conforme descrito em maiores detalhes abaixo, os compostos e conjugados da invenção podem ser preparados usando uma seção de uma unidade de ligação tendo um sítio reativo para a ligação ao composto. Em um aspecto, uma segunda seção da unidade de ligação é introduzida a qual tem um segundo sítio reativo por exemplo, um grupo eletrofílico que é reativo a um grupo nucleofílico presente em uma unidade de anticorpo (por exemplo, um anticorpo). Os grupos nucleofílicos úteis em um anticorpo incluem, porém não se limitam a, grupos sulfidril, hidroxila e amino. O heteroátomo do grupo nucleofílico de um anticorpo é reativo a um grupo eletrofílico em uma unidade de ligação e forma uma ligação covalente a uma unidade de ligação. Os grupos eletrofílicos úteis incluem, porém não se limitam a, grupos maleimida e haloacetamida. O grupo eletrofílico provê um sítio conveniente para a ligação ao anticorpo.

[00379] Em uma outra modalidade, a unidade de ligação tem um sítio reativo o qual tem um grupo nucleofílico que é reativo a um grupo eletrofílico presente em um anticorpo. Os grupos eletrofílicos úteis em um anticorpo incluem, porém não se limitam a, grupos aldeído e cetona carbonila. O heteroátomo de um grupo nucleofílico de uma unidade de ligação pode reagir com um grupo eletrofílico em um anticorpo e forma uma ligação covalente ao anticorpo. Os grupos nucleofílicos úteis em uma unidade de ligação incluem, porém não se limitam a, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiossemicarbazona, carboxilato de hidrazina e arilidrazida. O grupo eletrofílico em um anticorpo provê um sítio conveniente para a ligação a uma unidade de ligação.

[00380] Os grupos aminofuncionais também são sítios reativos úteis para uma unidade de ligação porque eles podem reagir com ácido carboxílico ou ésteres ativados de um composto para formar uma ligação amida. Tipicamente, os compostos com base em peptídeo da invenção podem ser preparados através da formação da ligação de peptídeo entre dois ou mais aminoácidos e/ou fragmentos de peptídeo. Tal ligação de peptídeos pode ser preparada, por exemplo, de acordo com o método de síntese de fase líquida (veja, por exemplo, Schroder e Lubke, "The Peptides", volume 1, pp. 76-136, 1965, Academic Press) que é bem conhecido no campo da química peptídica.

[00381] Conforme descrito em maiores detalhes abaixo, os conjugados podem ser preparados usando uma seção do ligante tendo um sítio reativo para a ligação a um composto da invenção e introduzindo uma outra seção da unidade de ligação tendo um sítio reativo para um anticorpo. Em um aspecto, a unidade de ligação tem um sítio reativo que tem um grupo eletrofílico que é reativo com um grupo nucleofílico presente em uma unidade de anticorpo, tal como um anticorpo. O grupo eletrofílico provê um sítio conveniente para a ligação ao anticorpo. Os grupos nucleofílicos úteis em um anticorpo incluem, porém não se limitam a, grupos sulfidril, hidroxila e amino. O heteroátomo do grupo nucleofílico de um anticorpo é reativo a um grupo eletrofílico em uma unidade de ligação e forma uma ligação covalente a uma unidade de ligação. Os grupos eletrofílicos úteis incluem, porém não se limitam a, grupos maleimida e haloacetamida.

[00382] Em uma outra modalidade, a unidade de ligação tem um sítio reativo o qual tem um grupo nucleofílico que é reativo com um grupo eletrofílico presente em uma unidade de anticorpo. O grupo eletrofílico em um anticorpo provê um sítio conveniente para a ligação a uma unidade de ligação. Os grupos eletrofílicos úteis em um anticorpo incluem, porém não se limitam a, grupos aldeído e cetona carbonila. O

heteroátomo de um grupo nucleofílico de uma unidade de ligação pode reagir com um grupo eletrofílico em um anticorpo e formar uma ligação covalente ao anticorpo. Os grupos nucleofílicos úteis em uma unidade de ligação incluem, porém não se limitam a, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiossemicarbazona, carboxilato de hidrazina e arilidrazida.

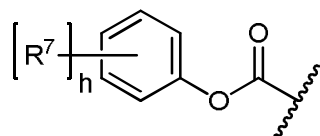
Conjugação com Transglutaminase

[00383] Em certas modalidades, um composto da invenção pode ser covalentemente reticulado a um polipeptídeo contendo Fc ou contendo Fab engenheirado com um marcador contendo glutamina do doador acila (por exemplo, marcadores de peptídeo contendo Gln ou marcadores Q) ou uma glutamina endógena tornada reativa (isto é, a capacidade de se formar uma ligação covalente como um doador de acila na presença de uma amina e uma transglutaminase) através da engenharia dos polipeptídeos (por exemplo, através de deleção, inserção, substituição, mutação de aminoácido ou qualquer combinação do mesmo no polipeptídeo), na presença de transglutaminase, contanto que o composto da invenção compreenda um agente doador de amina (por exemplo, pequena molécula compreendendo ou ligado a uma amina reativa), com isso formando uma população estável e homogênea de um conjugado de polipeptídeo contendo Fc engenheirado com o agente doador de amina sendo conjugado especificamente no sítio para o polipeptídeo contendo Fc ou contendo Fab através do marcador contendo glutamina do doador de acila ou a glutamina endógena exposta/acessível/reativa. Por exemplo, os compostos da invenção podem ser conjugados conforme descritos no Pedido de Patente Internacional No. de série PCT/IB2011/054899, cujos conteúdos totais são incorporados no presente documento a título de referência. Em certas modalidades, para facilitar a conjugação do composto da invenção a um polipeptídeo engenheirado contendo Fc ou contendo Fab com um marcador contendo glutamina de doador de acila ou uma glutamina en-

dógena tornada reativa pela engenharia de polipeptídeos na presença de transglutaminase, Z é NH_2 .

Conjugação na Região Constante de Domínio Kappa de Cadeia Leve Humana

[00384] Em certas modalidades, um composto da invenção pode ser covalentemente ligado à cadeia lateral de K^{188} da região constante de domínio kappa de cadeia leve humana (CLk) (numeração de cadeia leve completa de acordo com Kabat). Por exemplo, os compostos da invenção podem ser conjugados conforme descritos no Pedido de Patente Norte-Americano número de série 13/180,204, cujos conteúdos totais estão incorporados no presente documento a título de referência. Em certas modalidades, para facilitar a



conjugação ao K^{188} CLk, Z é ; R^7 é independentemente selecionado para cada ocorrência a partir do grupo consistindo em F, Cl, I, Br, NO_2 , CN e CF_3 ; e h é 1, 2, 3, 4 ou 5.

[00385] Em certas modalidades, a invenção provê uma composição compreendendo um composto da invenção covalentemente conjugado a um anticorpo (ou porção de ligação ao antígeno do mesmo), em que pelo menos cerca de 50%, ou pelo menos cerca de 60%, ou pelo menos cerca de 70%, ou pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90% do composto da invenção na composição é conjugado no anticorpo ou porção de ligação ao antígeno do mesmo em K^{188} CLk.

[00386] Em certas modalidades, os compostos da invenção podem ser conjugados no sítio de combinação de um anticorpo catalítico, tais como anticorpos de aldolase ou porção de ligação ao antígeno do mesmo. Os anticorpos de aldolase contêm porções do sítio de combinação que, quando desembaraçados (por exemplo através de conjugação), catalisam uma reação de adição de aldol entre um doador de cetona alifática e um acceptor de aldeído. Os conteúdos da Publicação

do Pedido de Patente Norte-Americano No. US 2006/205670 são incorporados no presente documento a título de referência, em páginas particulares 78-118 descrevendo ligantes e parágrafos [0153]-[0233] descrevendo os anticorpos, fragmentos úteis, variantes e modificações das mesmas, h38C2, sítios de combinação e regiões determinantes complementares (CDRs) e a tecnologia de anticorpo relacionada. O termo "sítio de combinação" inclui os CDRs e resíduos estruturais adjacentes que estão envolvidos na ligação de antígeno.

Composições e Métodos de Administração

[00387] Em outras modalidades, um outro aspecto da invenção se refere a composições farmacêuticas incluindo uma quantidade eficaz de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo e um veículo ou veículo farmaceuticamente aceitável. Em certas modalidades, as composições são adequadas para a administração veterinária ou humana.

[00388] As presentes composições farmacêuticas podem estar em qualquer forma que permite a composição a ser administrada a um paciente. Por exemplo, a composição pode estar na forma de um sólido ou líquido. As formas típicas de administração incluem, sem limitação, parenteral, ocular e intratumoral. A administração parenteral inclui injeções subcutâneas, técnicas de injeção ou infusão intravenosa, intramuscular ou intraesternal. Em um aspecto, as composições são administradas de forma parenteral. Em uma modalidade específica, as composições são administradas de forma intravenosa.

[00389] As composições farmacêuticas podem ser formuladas de modo a permitir um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo a estar biodisponível após a administração da composição a um paciente. As composições podem tomar a forma de uma ou mais unidades de dosagem, onde por exemplo, um comprimido pode ser uma unidade de dosagem única e um recipiente de um

composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo em forma líquida pode manter uma pluralidade de unidades de dosagem.

[00390] Os materiais usados na preparação das composições farmacêuticas podem ser não tóxicos nas quantidades usadas. Ficará evidente àqueles versados na técnica que a dosagem optimal do(s) ingrediente(s) ativo(s) em uma composição farmacêutica dependerá de uma variedade de fatores. Os fatores relevantes incluem, sem limitação, o tipo de animal (por exemplo, ser humano), a forma particular de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo, o modo de administração e a composição empregada.

[00391] O veículo ou veículo farmaceuticamente aceitável pode ser sólido ou particulado de modo que as composições estejam, por exemplo, na forma de comprimido ou pó. O(s) veículo(s) podem ser líquidos. Além disso, o(s) veículo(s) podem ser particulados.

[00392] A composição pode estar na forma de um líquido, por exemplo, uma solução, emulsão ou suspensão. Na composição para administração por injeção, um ou mais dos tensoativos, conservantes, agentes umectantes, agentes dispersantes, agentes de suspensão, tampão, estabilizador e agente isotônico também podem ser incluídos.

[00393] As composições líquidas, sendo elas soluções ou outra forma similar, também podem incluir um ou mais dos que seguem: diluentes estéreis tais como água para injeção, solução fisiológica, preferencialmente solução fisiológica, solução de Ringer, cloreto de sódio isotônico, óleos fixados tais como mono- ou diglicerídeos sintéticos os quais servem como o solvente ou meio de suspensão, polietileno glicóis, glicerina, ciclodextrina, propileno glicol ou outros solventes; agentes antibacterianos tais como benzil álcool ou metil parabeno; antioxidantes tais como ácido ascórbico ou bissulfito de sódio; agentes quelantes tais como ácido etilenodiaminatetraacético; tampões tais como

acetatos, citratos, fosfatos ou aminoácidos e agentes para o ajuste da tonicidade tal como cloreto de sódio ou dextrose. Uma composição parenteral pode ser incluída em uma ampola, uma seringa descartável ou frasco de múltiplas doses feito de vidro, plástico ou outro material. A solução fisiológica é um adjuvante exemplificador. Uma composição injetável é preferencialmente estéril.

[00394] A quantidade de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo que é eficaz no tratamento de um distúrbio ou condição particular dependerá da natureza do distúrbio ou condição e pode ser determinado por técnicas clínicas padronizadas. Além disso, nos ensaios in vitro ou in vivo podem ser opcionalmente empregados para ajudar a identificar as faixas de dosagem críticas. A dose precisa a ser empregada nas composições também dependerá na forma de administração e na seriedade da doença ou distúrbio e deve ser decidida de acordo com o julgamento do médico e cada circunstância do paciente.

[00395] As composições compreendem uma quantidade eficaz de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo de modo que a dosagem adequada será obtida. Tipicamente, esta quantidade é de pelo menos cerca de 0.01% de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo em peso da composição. Em uma modalidade exemplificadora, as composições farmacêuticas são preparadas de modo que uma unidade de dosagem parenteral contenha de cerca de 0.01% a cerca de 2% em peso da quantidade de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo.

[00396] Para a administração intravenosa, a composição pode compreender de cerca de 0.01 a cerca de 100 mg de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo por kg do peso corporal do paciente. Em um aspecto, a composição pode incluir de

cerca de 1 a cerca de 100 mg de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo por kg do peso corporal do paciente. Em um outro aspecto, a quantidade administrada estará na faixa de cerca de 0.1 a cerca de 25 mg/kg de peso corporal de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo.

[00397] Em geral, a dosagem de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo administrada a um paciente é tipicamente de cerca de 0.01 mg/kg a cerca de 20 mg/kg do peso corporal do paciente. Em um aspecto, a dosagem administrada a um paciente está entre cerca de 0.01 mg/kg a cerca de 10 mg/kg do peso corporal do paciente. Em um outro aspecto, a dosagem administrada a um paciente está entre cerca de 0.1 mg/kg e de cerca de 10 mg/kg do peso corporal do paciente. Em ainda um outro aspecto, a dosagem administrada a um paciente está entre cerca de 0.1 mg/kg e cerca de 5 mg/kg do peso corporal do paciente. Em ainda um outro aspecto, a dosagem administrada a um paciente está entre cerca de 0.1 mg/kg a cerca de 3 mg/kg do peso corporal do paciente. Em ainda um outro aspecto, a dosagem administrada a um paciente está entre cerca de 1 mg/kg a cerca de 3 mg/kg do peso corporal do paciente.

[00398] Um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo pode ser administrado por qualquer forma conveniente, por exemplo por infusão ou injeção em bolus. A administração pode ser sistêmica ou local. Vários sistemas de liberação são conhecidos, por exemplo, encapsulação em lipossomos, mioropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc., e podem ser usados para administrar um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo. Em certas modalidades, mais de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo é administrado a um paciente.

[00399] Em modalidades específicas, pode ser desejável administrar um ou mais compostos da invenção e/ou conjugados de fármaco

de anticorpo dos mesmos localmente na área que precisa do tratamento. Isto pode ser alcançado, por exemplo, e não por meio de limitação, através da infusão local durante cirurgia; aplicação tópica, por exemplo, em conjunto com um curativo após a cirurgia; através de injeção; por meio de um catéter; ou por meio de um implante, o implante sendo um material poroso, não poroso ou gelatinoso, incluindo membranas, tais como membranas sialásticas ou fibras. Em uma modalidade, a administração pode ser através de injeção direta no sítio (ou sítio anterior) de um câncer, tumor ou tecido neoplásico ou pré-neoplásico. Em uma outra modalidade, a administração pode ser através de injeção direta no sítio (ou sítio anterior) de uma manifestação de uma doença autoimune.

[00400] Em ainda uma outra modalidade, o composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo pode ser liberado em um sistema de liberação controlada, tal como, porém, não limitada a uma bomba ou vários materiais poliméricos podem ser usados. Em ainda uma outra modalidade, um sistema de liberação controlada pode ser colocado em proximidade do alvo do composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo, por exemplo, o fígado, assim necessitando apenas de uma fração da dose sistêmica (veja, por exemplo, Goodson, em *Medical Applications of Controlled Release*, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)). Outros sistemas de liberação controlada discutidos na revisão por Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)) podem ser usados.

[00401] O termo "veículo" se refere a um diluente, adjuvante ou excipiente, com o qual um composto ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo é administrado. Tais veículos farmacêuticos podem ser líquidos, tais como água e óleos, incluindo aqueles do petróleo, de origem animal, vegetal ou sintética. Os veículos podem ser fisiológicos e similares. Além disso, os agentes auxiliares, estabilizadores e outros agen-

tes podem ser usados. Em uma modalidade, quando administrado a um paciente, o composto ou conjugado e veículos farmacologicamente aceitáveis são estéreis. A água é um veículo exemplificador quando o composto ou conjugado são administrados de forma intravenosa. As soluções fisiológicas e as soluções aquosas de dextrose e glicerol podem ser empregadas como veículos líquidos, particularmente para as soluções injetáveis. As presentes composições, caso desejado, também podem conter quantidades menores de agentes umectantes ou emulsificantes ou agentes de tampão de pH.

[00402] As presentes composições podem tomar a forma de soluções, péletes, pós, formulações de liberação prolongada ou qualquer outra forma adequada para uso. Outros exemplos de veículos farmacologicamente aceitáveis são descritos em "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin.

[00403] Em uma modalidade, o composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo são formulados de acordo com os procedimentos de rotina como a composição farmacêutica adaptada para a administração intravenosa aos animais, particularmente seres humanos. Tipicamente, os veículos ou veículos para a administração intravenosa são soluções tampão aquosas isotônicas estéreis. Quando necessário, as composições também podem incluir um agente de solubilização. As composições para a administração intravenosa podem compreender opcionalmente um anestésico local tal como lignocaína para diminuir a dor no local da injeção. Em geral, os ingredientes são fornecidos tanto separadamente ou misturados em conjunto em forma de dosagem unitária, por exemplo, como um pó seco liofilizado ou concentrado livre de água em um recipiente hermeticamente vedado tal como ampola ou saqueta indicando a quantidade de agente ativo. Quando um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo é administrado por infusão, ele pode ser dispensado, por

exemplo, com uma garrafa de infusão contendo água ou solução fisiológica estéril de grau farmacêutico. Quando o composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo é administrado por injeção, uma ampola de água estéril para a injeção ou solução fisiológica pode ser provida de modo que os ingredientes sejam misturados antes da administração.

[00404] A composição pode incluir vários materiais que modificam a forma física de uma unidade de dosagem sólida ou líquida. Por exemplo, a composição pode incluir os materiais que formam uma cobertura de revestimento em torno dos ingredientes ativos. Os materiais que formam a cobertura de revestimento são tipicamente inertes e podem ser selecionados a partir de, por exemplo, açúcar, shellac e outros agentes de revestimento entérico. De forma alternada, os ingredientes ativos podem ser encapsulados em uma cápsula de gelatina.

[00405] Quando em forma sólida ou líquida, as presentes composições podem incluir um agente farmacológico usado no tratamento de câncer.

Usos Terapêuticos de Compostos e Conjugados de Fármaco de Anticorpo dos mesmos

[00406] Um outro aspecto da invenção se refere a um método de usar os compostos da invenção e conjugados de fármaco de anticorpo dos mesmos para tratar o câncer.

[00407] Os compostos da invenção e/ou conjugados de fármaco de anticorpo dos mesmos são úteis para inibir a multiplicação de uma célula tumoral ou célula cancerígena, causando a apoptose em um tumor ou célula cancerígena ou para tratar o câncer em um paciente. Os compostos da invenção e/ou conjugados de fármaco de anticorpo dos mesmos podem ser usados consequentemente em uma variedade de ajustes para o tratamento de cânceres animais. Tais conjugados podem ser usados para liberar um composto da invenção a uma célula

tumoral ou célula cancerígena. Sem se ater à teoria, em uma modalidade, o anticorpo do conjugado se liga ou se associa com um antígeno associado com uma célula tumoral ou célula cancerígena e o conjugado pode ser tomado (internalizado) dentro de uma célula tumoral ou célula cancerígena através da endocitose mediada por receptor ou outro mecanismo de internalização. O antígeno pode ser ligado a uma célula tumoral ou célula cancerígena ou pode ser uma proteína matriz extracelular associada com a célula tumoral ou célula cancerígena. Em certas modalidades, uma vez dentro da célula, uma ou mais sequências de peptídeo específicas são clivadas de forma enzimática ou hidrolítica por uma ou mais proteases associadas à célula tumoral ou célula cancerígena, resultando na liberação de um composto da invenção a partir do conjugado. O composto liberado da invenção fica então livre para migrar dentro da célula e induzir as atividades citotóxicas ou citostáticas. O conjugado também pode ser clivado por uma protease intracelular para liberar um composto da invenção. Em uma modalidade alternativa, o composto da invenção é clivado a partir do conjugado fora da célula tumoral ou célula cancerígena e o composto da invenção subsequentemente penetra na célula.

[00408] Em certas modalidades, os conjugados provêm direcionamento do fármaco para o câncer ou tumor específico da conjugação, assim reduzindo a toxicidade geral dos compostos da invenção.

[00409] Em uma outra modalidade, a unidade de anticorpo se liga à célula tumoral ou célula cancerígena.

[00410] Em uma outra modalidade, a unidade de anticorpo se liga a um antígeno de célula tumoral ou célula cancerígena o qual está na superfície da célula tumoral ou célula cancerígena.

[00411] Em uma outra modalidade, a unidade de anticorpo se liga a um antígeno de célula tumoral ou célula cancerígena o qual é uma proteína de matriz extracelular associada com a célula tumoral ou cé-

lula cancerígena.

[00412] A especificidade da unidade de anticorpo para uma célula tumoral ou célula cancerígena particular pode ser importante para determinar aqueles tumores ou cânceres que são os mais eficazmente tratados.

[00413] Os tipos particulares de cânceres que podem ser tratados com um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo, incluem, porém não se limitam a, carcinomas da bexiga, mama, cervix, cólon, endométrio, rins, pulmão, esôfago, ovário, próstata, pâncreas, pele, estômago; e cânceres sanguíneos incluindo porém sem se limitar às leucemias e linfomas.

[00414] *A Terapia Multimodalidade para o Câncer.* Cânceres, incluindo, porém sem se limitar ao tumor, metastase ou outra doença ou distúrbio caracterizado pelo crescimento celular não controlado, podem ser tratados ou inibidos pela administração de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo.

[00415] Em outras modalidades, os métodos para tratar câncer são providos, incluindo administrar a um paciente que precisa do mesmo de uma quantidade eficaz de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo e um agente quimioterápico. Em uma modalidade, o agente quimioterápico é aquele com o qual o tratamento do câncer se mostrou não ser refratário. Em uma outra modalidade, o agente quimioterápico é aquele com o qual o tratamento do câncer se mostrou ser refratário. Um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo pode ser administrado a um paciente que também passou por uma cirurgia como tratamento para o câncer.

[00416] Em algumas modalidades, o paciente também recebe um tratamento adicional, como a terapia de radiação. Em uma modalidade específica, o composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo é administrado de forma concorrente com o agente quimio-

terápico ou terapia de radiação. Em uma outra modalidade específica, o agente quimioterápico ou terapia de radiação é administrado antes ou subsequente à administração de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo.

[00417] Um agente quimioterápico pode ser administrado durante uma série de sessões. Qualquer um ou uma combinação dos agentes quimioterápicos, tal como agente(s) quimioterápico(s) padrão de tratamento, pode ser administrado.

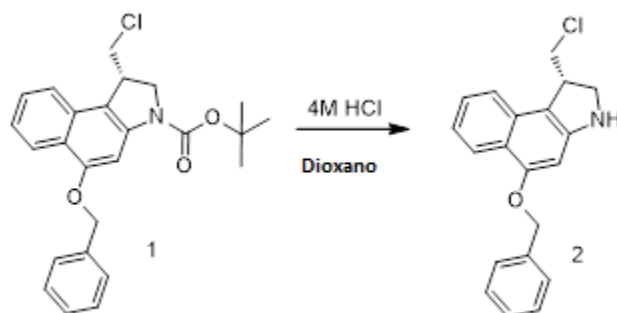
[00418] Adicionalmente, os métodos de tratamento do câncer com um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo são providos como uma alternativa à quimioterapia ou terapia de radiação onde a quimioterapia ou a terapia de radiação provaram ser muito tóxicas, por exemplo, causar efeitos colaterais inaceitáveis ou insuportáveis, para o indivíduo que está sendo tratado. O paciente sendo tratado, pode opcionalmente ser tratado com um outro tratamento para o câncer tal como cirurgia, terapia de radiação ou quimioterapia, dependendo de qual tratamento é aceitável ou suportável.

[00419] Os compostos da invenção e/ou conjugados de fármaco de anticorpo dos mesmos também podem ser usados de um modo in vitro ou ex vivo, tal como para o tratamento de certos cânceres, incluindo, porém sem se limitar a leucemias e linfomas, tal tratamento envolvendo os transplantes de células-tronco autólogas. Isto pode envolver um processo multietapas no qual as células-tronco hematopoiéticas autólogas são coletadas e purificadas de todas as células de câncer, a população celular de medula óssea restante do animal é então erradicada através da administração de uma alta dose de um composto da invenção e/ou conjugado anticorpo fármaco do mesmo com ou sem terapia de radiação de alta dose de acompanhamento e o enxerto de célula tronco é infundido de volta no animal. Os cuidados de suporte são então providos enquanto a função da medulla óssea é restaurada e paci-

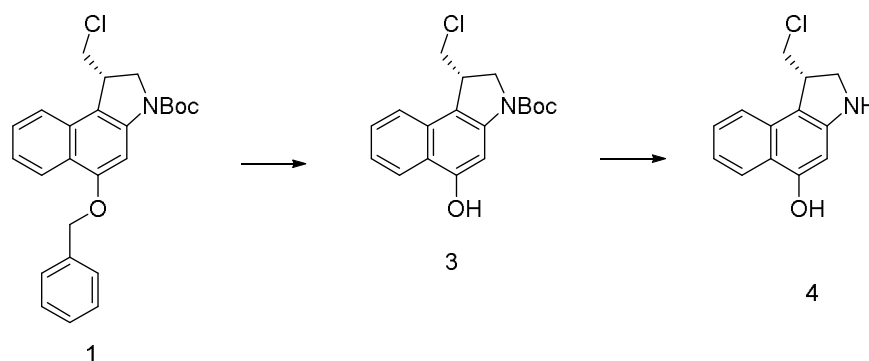
ente se recupera.

[00420] A invenção também é descrita nos exemplos que seguem, os quais não pretendem limitar o escopo da invenção.

[00421] Exemplificação de Cargas e Cargas ligantes



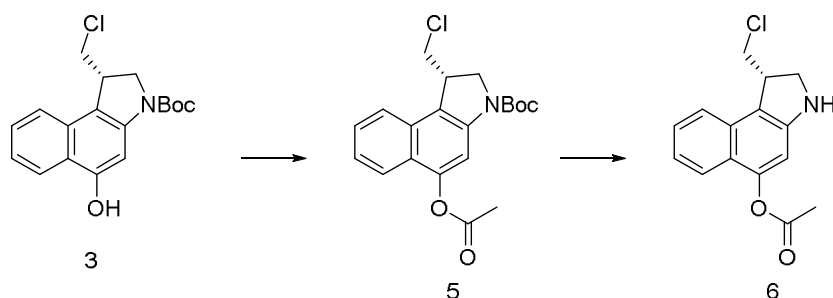
[00422] O composto 2 é um composto comercialmente conhecido, veja no Pedido de Patente PCT 2005112919 de 01 de dezembro de 2005



[00423] Preparação de (S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila (**3**): Uma solução de (S)-5-(benzilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila (4 g, 9 mmol) em THF (250 mL) foi adicionado Pd-C (0,7g) a 40°C. Depois o HCOONH₄ aquoso (9,5 mL, 25%) foi adicionado em porções e a mistura de reação foi agitada a 40 °C por 1 hora. A mistura de reação foi filtrada e o filtrado foi concentrado até a secura. O resíduo resultante foi dissolvido em acetato de etila (250 mL) e lavado com H₂O (20 mL), seco sobre Na₂SO₄, concentrado até a secura para dar **3** como um sólido cinza (2,9g, 90%).

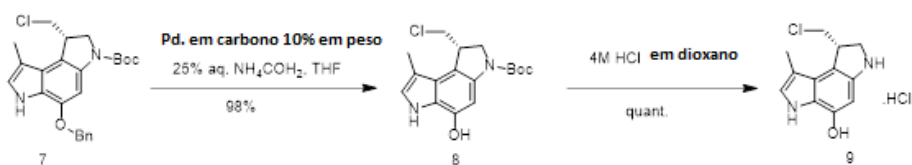
[00424] Preparação de (S)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-

benzo[e]indol-5-ol (**4**): A um frasco de fundo redondo contendo **3** (820 mg, 2,46 mmol), 4 M HCl em dioxano (36 mL, 140 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente. A reação foi reduzida e depois colocada por baixo do vácuo (bomba de cinto) provendo **4** (684 mg, 100%) como um sólido cinzento.



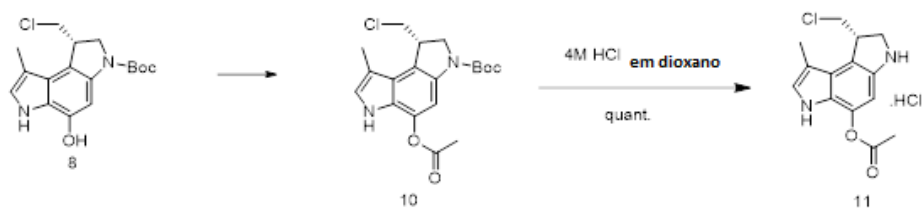
[00426] Preparação de (S)-5-acetóxi-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila (**5**): Cloreto de acetila (0.1 mmol) foi adicionado a uma solução de 1-(clorometil)- 5- hi-benzo[e]indol 3(2H) carboxilato de (S)-terc-butila [**3**] (230 mg, 0.7 mmol) em CH₂Cl₂ (6 mL) a 0°C, seguido pela piridina (0.11 mL, 1.4 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 2 min e depois em temperatura ambiente por 1 h. A mistura foi concentrada e o resíduo foi tratado com EtOAc e água, extraída com EtOAc. As fases orgânicas combinadas foram lavadas com água e salmoura, secas sobre MgSO₄. O solvente foi removido sob vácuo para dar **5** como um sólido amarelo claro (235 mg, 91%). LC MS (Protocolo B): m/z 398.3 [M + H].

[00427] Preparação de acetato de (S)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila (**6**): A um frasco de fundo redondo contendo 5-acetoxi -1 (clorometil) -1H benzo[e]indol -3(2H) -carboxilato de (S)-terc-butila (375 mg, 0.998 mM), 10 mL de 4M HCl em dioxano (40 mM) foram adicionados. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente e depois o solvente removido em vácuo provendo **6** (312 mg, 100%).



[00428] Preparação de terc-butil-(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-carboxilato (**8**). A uma solução em agitação de **7** (veja *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 6837-6838) (12.2 g, 28.6 mmol) em 200 mL de THF a 0°C, Paládio em carbono 10% em peso (4 g) foi adicionado seguido pela adição lenta em gotas de 30 mL de 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por ~90 min. A reação foi diluída com éter seguida pela adição de sulfato de sódio. A reação foi filtrada através de uma fina almofada de celite, a qual foi então lavada duas vezes com éter. Os produtos orgânicos foram combinados e depois reduzidos antes de serem colocados por baixo do vácuo rendendo **7** (9.65 g, quantitativo) como um sólido cinzento-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 337.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tempo de retenção = 1.81 min.

[00429] Preparação de (S)-8-(clorometil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-ol



[00430] *Etap* 1: Síntese de (1S)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-carboxilato de terc-butila (**188**). A uma solução em agitação de **43** (1.99 g, 5.91 mmol) em 30 mL de diclorometano a 0°C, cloreto de acetila (0.462 mL, 6.50 mmol) foi adicionado

seguido imediatamente por piridina (0.714 mL, 8.86 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~10 min. A reação foi reduzida sobre a sílica. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (gradiente: 0%-15% de acetona em heptanos). Os tubos de teste adequados foram concentrados e colocados debaixo de alto vácuo para produzir **10** (2.13 g, 95%) como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 401.1 $[M+Na]^+$, tempo de retenção = 1.93 min.

[00431] *Etapa 2: Síntese de sal de ácido clorídrico de acetato de (8S)-8-(clorometil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrol[3,2-e]indol-4-ila* (189). A um frasco de fundo redondo contendo **10** (606 mg, 1.60 mmol), 4M HCl em dioxano (24 mL, 96 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por 90 min. A reação foi reduzida e depois colocada debaixo de alto vácuo produzindo **11** (589 mg, quantitativo) como um sólido verde claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 279.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 0.72 min.

[00432] *Procedimento geral A:* A uma solução em agitação do mono ou diácido, em THF, o diclorometano ou uma mistura de ambos a 0°C, o cloreto de oxalila (1-2.5 eq.) foi adicionado seguido por uma quantidade catalítica de DMF. A reação foi deixada agitar a 0°C por vários minutos antes de ser deixado aquecer até a temperatura ambiente, e depois agitar em temperatura ambiente por 30 min a várias horas. A reação foi depois concentrada *in vacuo*. Em alguns casos, o material bruto foi então azeotropado uma a várias vezes com heptano ou outro solvente ou solventes relevantes. O material bruto foi então seco sobre alto vácuo antes de ser usado na próxima etapa.

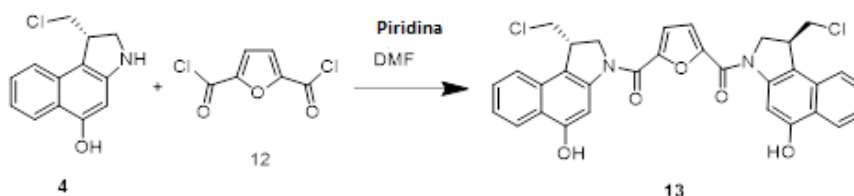
[00433] *Procedimento geral B:* A uma solução em agitação da amina (2-2.5 eq.) em THF, diclorometano, ou uma mistura de ambos a 0°C (ou em alguns casos, outro solvente ou solventes relevantes), o cloreto ácido ou o cloreto diácido foi adicionado seguido pela piridina (3-6 eq.), trietilamina (3-6 eq.) ou outra base relevante (3-6 eq.). A reação foi

deixada agitar a 0°C por alguns segundos a vários min antes de ser deixado aquecer até a temperatura ambiente, e depois agitar em temperatura ambiente por 10 min a várias horas. A reação foi depois concentrada *in vacuo*. Em alguns casos, o material bruto foi então azeotropado uma a várias vezes com heptano ou outro solvente ou solventes relevantes. Na maioria dos casos, o material bruto foi então purificado por um método descrito tal como cromatografia em coluna de sílica ou cromatografia C18 de fase reversa em média pressão.

[00434] Preparação

de

(S)-furan-2,5-diilbis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**13**)



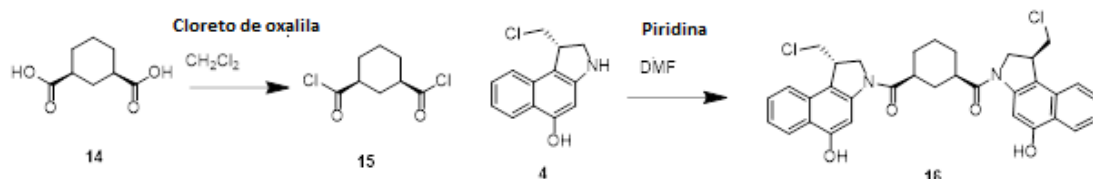
[00435] **4** foi dissolvido em DMF (0.75 mL), foi adicionada piridina (13 µL) e uma solução de **12** (8 mg) em DMF (0.2 mL, 0.168 mmol), e a solução resultante foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi diluída com DCM, e lavada com água e salmoura, e seca sobre MgSO₄. O produto bruto foi purificado por cromatografia rápida em sílica-gel (DCM/MOH = 0 – 10%) para dar o produto **13** como um sólido verde (8 mg, 30%). LC-MS: *m/z* 587.4 [M + H], tempo de retenção = 1.0 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 10.50 (s), 8.14 (d), 7.95 (s), 7.88 (d), 7.55 (t), 7.50 (s), 7.40 (t), 4.78 (m), 4.58 (d), 4.25 (s), 4.02 (d), 3.92 (m).

[00436] Preparação

de

(S)-((1R,3S)-ciclo-

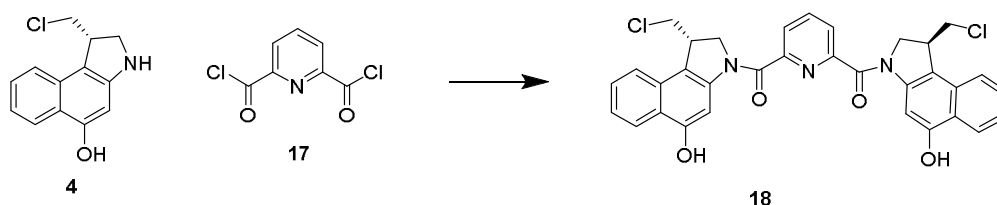
hexano-1,3-diil)bis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**16**)



[00437] *Etapa 1:* Ácido cis-ciclo-hexano-1,3-dicarboxílico (**14**, 10 mg, 0.058 mmol) foi dissolvido em THF (2 mL), adicionado o cloreto de oxalila (2M em CH₂Cl₂, 0.09 mL, 0.17 mmol) e DMF (2 gotas) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois em temperatura ambiente por 1 h, concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente **15** como um sólido esbranquiçado, o qual foi usado na próxima etapa sem purificação adicional.

[00438] *Etapa 2:* O composto acima **15** foi dissolvido em DMF (2 ml) a 0°C, adicionado sal de cloridrato de (S)-1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ol (**4**, 25 mg, 0.093 mmol), seguido por piridina (0.029 mL, 0.36 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. DMF foi removida sob pressão reduzida, e o resíduo foi purificado por ISCO usando MeOH/DCM (0-20%) para dar o produto **16** como um sólido azul escuro (8.5 mg, 31%). LC-MS: *m/z* 603.4 [M + H], tempo de retenção = 1.03 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 10.36 (s), 8.09 (d), 8.03 (s), 7.80 (t), 7.53 (t), 7.33 (t), 4.44 (m), 4.33 (d), 4.18 (s), 4.02 (m), 3.85 (m), 2.88 (m), 2.04 – 1.90 (m), 1.74 (q), 1.52 – 1.45 (m).

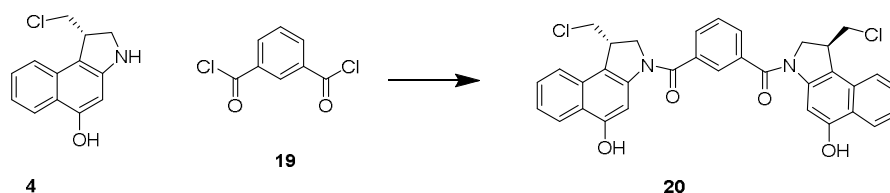
[00439] *Preparação* de
(S)-piridina-2,6-diilbis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**18**)



[00440] (S)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ol (4)

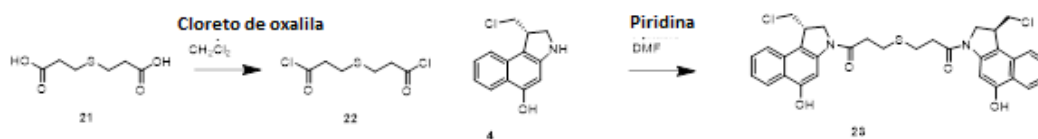
(13.5 mg, sal de HCl, 0.05 mmol) foi dissolvido em DMF (2 mL) e a piridina (8 mg, 0.10 mmol) foi adicionada, seguida por dicloreto de 2,6-piridinadicarbonila (8, 5 mg, 0.025 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. O produto bruto foi purificado por ISCO usando MeOH/DCM (0-10%) para dar o produto como um sólido verde, o qual foi lavado com MeOH para dar o produto **18** como um sólido cinza (10 mg, 67%). LC-MS: m/z 598.1 [M + H], tempo de retenção = 1.0 min. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 10.51 (s), 8.29 (t), 8.13 (d), 8.02 (s), 7.82 (d), 7.52 (t), 7.38 (t), 4.63 (s), 4.19 -4.10 (m), 3.96 (m), 3.84 (m).

[00441] Preparação de de (S)-1,3-fenilenobis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) [20]



[00442] (S)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ol (**4**) (27 mg, HCl sal, 0.1 mmol) foi dissolvido em DMF (2 mL), e a piridina (0.024 mL, 0.29 mmol) foi adicionada seguida por cloreto de ácido isoftálico (**19**, 10 mg, 0.05 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi removido e o resíduo foi purificado por ISCO usando MeOH/DCM (0-10%) para dar o produto **20** como um sólido cinza (20 mg, 68%). LC-MS (Protocolo B): m/z 597.2 [M + H], tempo de retenção = 0.99 min. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 10.47 (s), 8.13 (d), 7.96 (s), 7.84 (d), 7.72 (t), 7.52 (t), 7.37 (t), 4.44 (s), 4.08 (s), 3.97 (s), 3.86 (s).

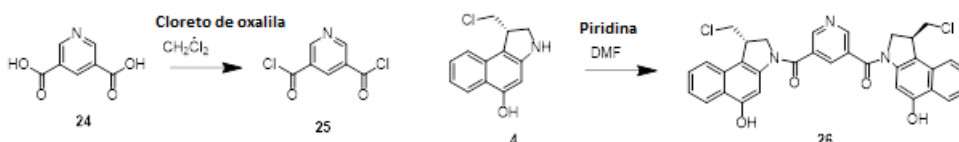
[00443] Preparação de (S)-3,3'-tiobis(1-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)propan-1-ona) (**23**)



[00444] *Etapa 1:* o ácido 3,3'-tiodipropanoico (**21**, 8 mg, 0.04 mmol) foi dissolvido em THF (2 mL), adicionado o cloreto de oxalila (2M em CH₂Cl₂, 0.4 mL, 0.2 mmol) e DMF (2 gotas) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois em temperatura ambiente por 1 h. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente **22** que foi usado na próxima etapa sem purificação adicional.

[00445] *Etapa 2:* O composto acima **22** foi dissolvido em DMF (2 ml) a 0°C, adicionado sal de HCl de (S)-1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ol (**6**) (25 mg, 0.09 mmol), seguido por piridina (0.022 mL, 0.27 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. DMF foi removida sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por ISCO usando MeOH/DCM (0-10%) para dar o produto **23** como um sólido esbranquiçado (15 mg, 50%). LC-MS (Protocolo B): *m/z* 609.1 [M + H], tempo de retenção = 1.0 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 10.36 (s), 8.09 (d), 7.99 (s), 7.79 (d), 7.50 (t), 7.33 (t), 4.37 (m), 4.19 (m), 3.99 (d), 3.82 (m), 2.90 -2.82 (m).

[00446] Preparação de (S)-piridina-3,5-diilbis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**26**)

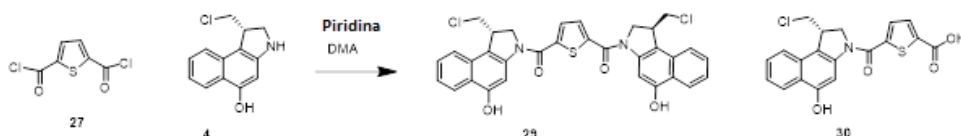


[00447] *Etapa 1;* ácido piridina-3,5-dicarboxílico (**24**, 7 mg, 0.04 mmol) foi adicionado 2 mL de DCM, seguido por cloreto de oxalila 2M (0.2 mL, 0.4 mmol) e DMF (2 gotas). A solução clara foi agitada em

temperatura ambiente por 2 h e concentrada para dar o cloreto ácido correspondente **25** como um sólido amarelo.

[00448] *Etapa 2;* O sólido acima **25** foi dissolvido em DMF (0.2 mL), e a solução foi adicionada a uma solução de sal de HCl de (S)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ol (**4**) (25 mg, 0.09 mmol) em DMF (1 mL), seguido por piridina (0.02 mL, 0.25 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo foi purificado usando ISCO (MeOH/DCM = 0-10%) para dar o produto **26** como um sólido cinza (20 mg, 80%). LC-MS (Protocolo B): m/z 598.1 [M + H], tempo de retenção = 0.95 min. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 10.55 (s), 9.00 (s), 8.2 (s), 7.97 (s), 7.84 (d), 7.53 (t), 7.36 (t), 4.50 (s), 4.10 (s), 3.98 (s), 3.86 (s).

[00449] Preparação de (S)-tiofeno-2,5-diilbis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**29**) e ácido (S)-5-(1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carboxílico (**30**)



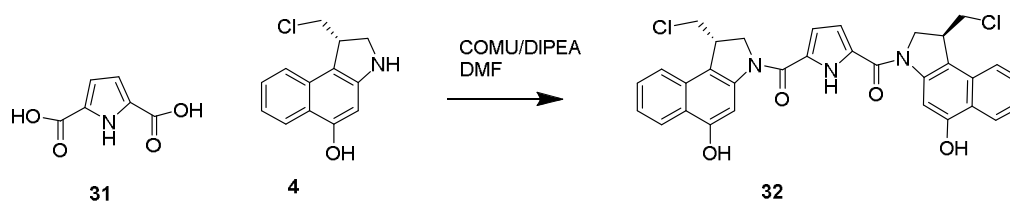
[00450] Sal de HCl de (S)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ol [**4**] (102 mg, 0.38 mmol) foi dissolvido em DMA (2 mL) e piridina (0.061 mL, 0.76 mmol) foi adicionado, seguido por dicloreto de tiofeno-2,5-dicarbonila (**27**, 40 mg, 0.19 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (0.02% TFA) para dar dois produtos:

[00451] (S)-tiofeno-2,5-diilbis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**29**) como um sólido amarelo (60 mg, 52%). LC-MS (Protocolo B): m/z 603.0 [M + H], tempo de retenção

= 1.99 min. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ 10.48 (s), 8.14 (d), 7.86 (m), 7.55 (t), 7.40 (t), 4.78 (t), 4.44 (d), 4.23 (s), 4.03 (d), 3.91 (m).

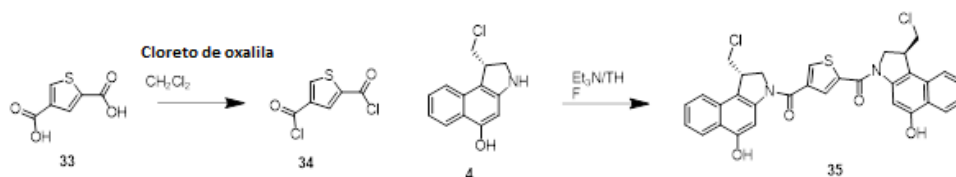
[00452] Ácido (S)-5-(1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carboxílico (**30**) como um sólido verde (23 mg, 31%). LC-MS (Protocolo B): m/z 388.1 $[\text{M} + \text{H}]$, tempo de retenção = 0.82 min. ^1H RMN (400 MHz, $\text{MeOD-}d_4$), δ 8.23 (d), 7.82 (m), 7.71 (s), 7.55 (t), 7.40 (t), 4.64 (m), 4.53 (d), 4.15 (t), 4.01 (dd), 3.74 (m).

[00453] Preparação de de (S)-(1H-pirrol-2,5-diil)bis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**32**)



[00454] DIPEA (33 mg, 0.25 mmol) foi adicionado a uma solução de ácido 1H-pirrole-2,5-dicarboxílico (**31**, 10 mg, 0.064 mmol) em DMF (1.5 mL), seguido por (S)-1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ol [**4**] (38 mg, sal de HCl, 0.14 mmol) e COMU (82 mg, 0.19 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (ACN/água, 0.02% TFA) para dar o produto **32** como um sólido amarelo (5 mg, 10%). LC-MS (Protocolo B): m/z 586.3 $[\text{M} + \text{H}]$, tempo de retenção = 2.04 min. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ 11.66 (s), 10.44 (s), 8.13 (d), 7.92 (s), 7.86 (d), 7.55 (t), 7.38 (t), 5.76 (s), 4.71 (t), 4.44 (d), 4.22 (s), 4.03 (d), 3.88 (m).

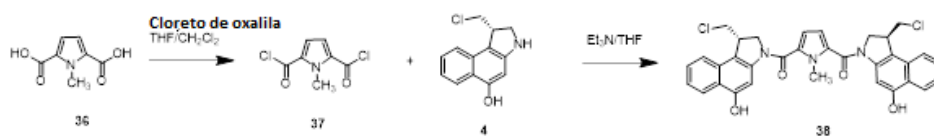
[00455] Preparação de de (S)-tiofeno-2,4-diilbis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**35**)



[00456] *Etapa 1:* Ácido 2,4-tiofenodicarboxílico (**33**, 100 mg, 0.58 mmol) foi dissolvido em THF (5 mL), resfriado até 0°C com banho de gelo. Cloreto de oxalila (0.75 mL, 2M em CH₂Cl₂, 1.5 mmol) foi adicionado, seguido por 2 gotas de DMF. A mistura resultante foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e agitada por 1 h. Alguns precipitados brancos podem ser observados durante este período. A mistura foi concentrada em vácuo para dar diclorero de tiofeno-2,4-dicarbonila (**34**) como um sólido esbranquiçado (122 mg, 100%).

[00457] *Etapa 2:* (S)-1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ol [**4**] (81 mg, sal de HCl, 0.3 mmol) foi dissolvido em THF (3 mL) e adicionado Et₃N (0.125 mL, 0.9 mmol) a 0°C, seguido por uma solução de dicloreto de tiofeno-2,4-dicarbonila (24, 31.4 mg, 0.15 mmol) em CH₂Cl₂ (1 mL). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois agitada em temperatura ambiente por 2 h. A mistura de reação foi reduzida e o resíduo foi tratado com MeOH, e o sólido amarelo resultante foi coletado por filtração para dar o produto bruto. O produto bruto foi purificado por HPLC Gilson (ACN/água, 0.02%TFA) para dar o produto **35** como um sólido amarelo (40 mg, 44%). LC-MS (Protocolo B): *m/z* 603.3 [M + H], tempo de retenção = 1.96 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 10.46 (d), 8.41 (s), 8.13 (d), 8.05 (s), 7.87 (t), 7.54 (t), 7.39 (m), 4.81 (t), 4.61 (s), 4.46(d), 4.21 (m), 4.18 (m), 4.00 (m), 3.98 – 3.86 (m).

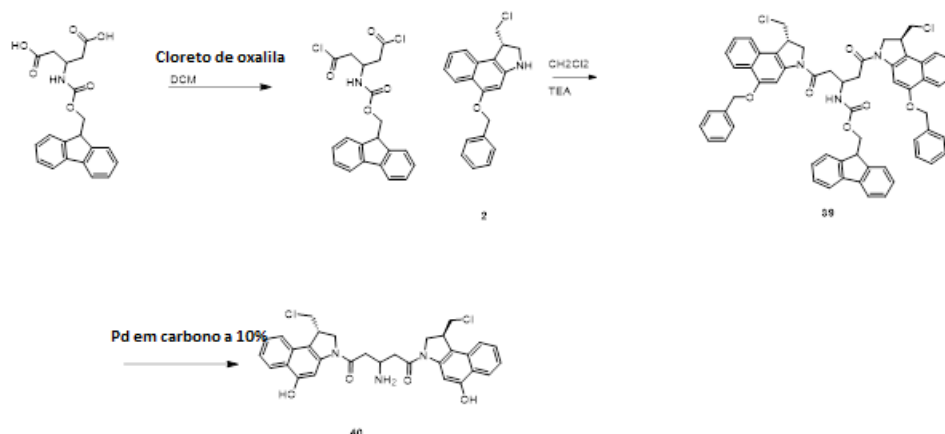
[00458] *Preparação* de (S)-((1-metil-1H-pirrol-2,5-diil)bis(((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1H-benzo[e]indol-3(2H)-il)metanona) (**38**)



[00459] *Etapa 1:* Ácido 1-metil-1H-pirrol-2,5-dicarboxílico (**36**, 20 mg, 0.12 mmol) foi dissolvido em THF (2 mL), adicionado cloreto de oxalila (2M em CH₂Cl₂, 0.18 mL, 0.35 mmol) e DMF (2 gotas) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois em temperatura ambiente por 1 h. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente **37** como um sólido esbranquiçado, o qual foi usado na próxima etapa sem purificação adicional.

[00460] *Etapa 2:* O composto acima **37** foi dissolvido em THF (2 ml) a 0°C, adicionado sal de HCL de (S)-1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ol [**4**] (65 mg, 0.24 mmol), seguido por Et₃N (0.1 mL, 0.71 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois em temperatura ambiente por 1 h. A mistura foi concentrada em vácuo e o resíduo foi purificado por HPLC Gilson (0.02% TFA) para dar o produto **38** como um sólido esbranquiçado (31 mg, 44%). LC-MS: *m/z* 600.5 [M + H], tempo de retenção = 1.04 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 10.44 (s), 8.13 (d), 7.84 (d), 7.75 (s), 7.53 (t), 7.38 (t), 6.78 (s), 4.60 (t), 4.30 (d), 4.08 (s), 4.02 (d), 3.9 (s), 3.87 (d).

[00461] Preparação de 3-Amino-1,5-bis-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-di-hidro-enzo[e]indol-3-il)-pentano-1,5-diona (**40**).



[00462] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N₂, contendo ácido 3-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-pentanodioico (918 mg, 2.48 mmol) em 20 mL de diclorometano anidro foi adicionado cloreto de oxalila (5.22 mmol, 0.469 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo até um resíduo bruto. O resíduo foi tomado em diclorometano (10 mL) e adicionado em gotas a um frasco de fundo redondo contendo (**2**) (1610 mg, 4.97 mmol) em 25 mL de diclorometano e trietilamina (2.08 mL). A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% de acetato de etila em heptanos) produzindo (**39**) (2.103g, 86%) como um sólido branco pálido. LC-MS (Protocolo B): *m/z* 982 [M+H⁺], tempo de retenção = 2.81 min.

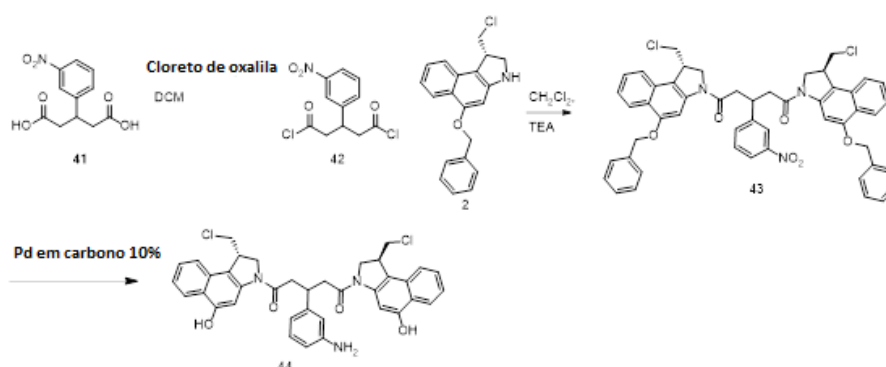
[00463] *Etapa 2:* Uma solução em agitação de **39**, 9H-fluoren-9-ilametil éster de ácido {3-((S)-5-Benzilóxi-1-clorometil-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-il)-1-[2-((S)-5-benzilóxi-1-clorometil-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-il)-2-oxo-etil]-3-oxo-propil}-carbâmico, (92 mg, 0.104 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada

até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10 % em peso (16 mg, 0.15mmol) foi então adicionado seguido pela adição lenta em gotas de 1 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e lavado com água. A camada de diclorometano foi concentrada e 2 mL de 1 M HCl (aq) foi adicionado e concentrado. O resíduo foi tomado em acetato de etila e os sólidos foram filtrados para render **40** como um sólido branco (52 mg, 51%). LC-MS (Protocolo B): m/z 578 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.42 min.

[00464] Preparação

de

3-(3-Amino-fenil)-1,5-bis-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-il)-pentano-1,5-diona (**44**)



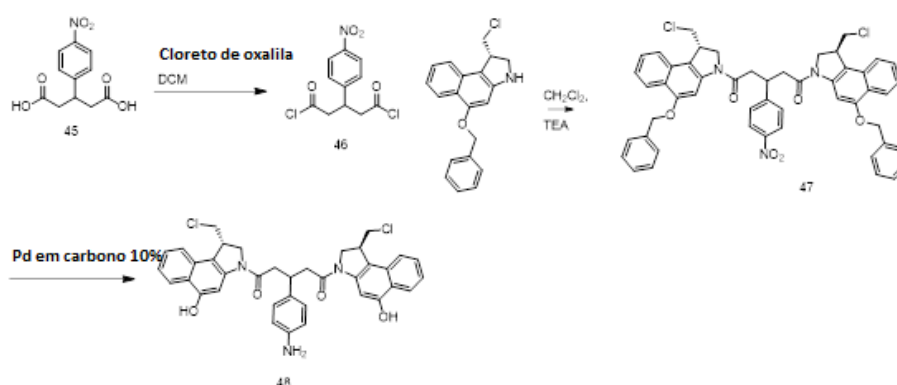
[00465] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N_2 , contendo ácido 3-(3-Nitro-fenil)-pentanodioico (**3**, 330 mg, 1.30 mmol) em 15 mL de diclorometano anidro foi adicionado cloreto de oxalila (2.6 mmol, 0.24 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo para render **42** como um sólido branco (378 mg, 1.30 mmol, quantitativo).

[00466] *Etapa 2:* Em um frasco de fundo redondo contendo **2** (124

mg, 0.344 mmol) em 15 mL de diclorometano foi adicionado dicloreto de 3-(3-nitro-fenil)-pentanodioíla (**42**) (42 mg, 0.172 mmol). A trietilamina (0.08 mL) foi então adicionada e o sistema foi agitado por 1 hora em temperatura ambiente. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. O sólido bruto foi tomado em 10% de MeOH em EtOAc e os sólidos brancos foram filtrados para dar o produto desejado **43** (120 mg, 0.172 mmol, 80%). LC-MS (Protocolo B): m/z 864 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.75 min.

[00467] *Etapa 3:* Uma solução em agitação de **43** (85 mg, 0.098 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (16 mg, 0.15mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 2 mL of 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e lavado com água. A camada de diclorometano foi concentrada e 2 mL de 1 M HCl (aq) foram adicionados e concentrados. O resíduo foi tomado em acetato de etila e os sólidos foram filtrados para render (**44**) como um sólido branco. (35 mg, 52%). LC-MS: m/z 654 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 1.93 min.

[00468] Preparação de
 3-(4-Amino-fenil)-1,5-bis-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-di-
 hidro-benzo[e]indol-3-il)-pentano-1,5-diona **48**

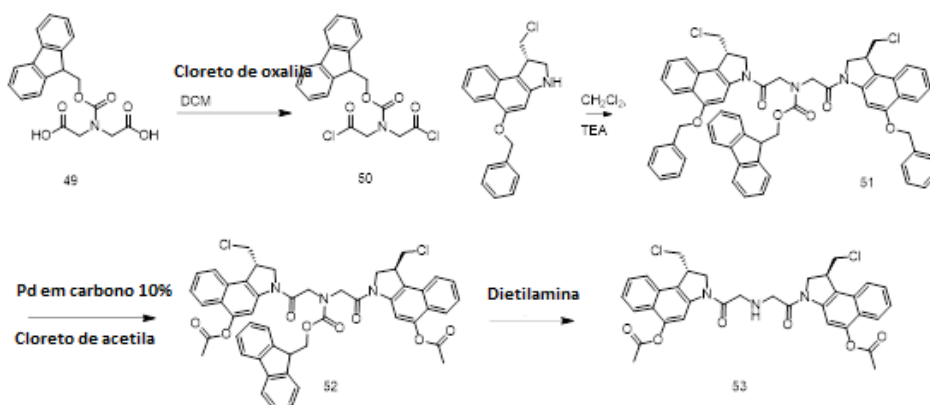


[00469] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N_2 , contendo ácido 3-(4-nitro-fenil)-pentanodioico (45, 110 mg, 0.434 mmol) em 5 mL de DCM anidro foi adicionado cloreto de oxalila (0.911 mmol, 0.082 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo para render (46) como um sólido branco (125 mg, 0.434 mmol, quantitativo). LCMS, tomado em metanol: m/z 282. 0 $[\text{M}+\text{H}^+]$, para o produto de bis metanólise]. tempo de retenção = 1.38 min. (7) (Commercial and Literature Known : Tetrahedron, 63(39), 9741-9745; 2007

[00470] *Etapa 2:* Em um frasco de fundo redondo contendo 2 (111 mg, 0.344 mmol) in 15 mL de diclorometano foi adicionado dicloreto de 3-(4-nitro-fenil)-pentanodioíla (46) (50 mg, 0.172 mmol). A trietilamina (0.144 mL) foi então adicionada e o sistema foi agitado por 1 hora em temperatura ambiente. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. O sólido bruto foi tomado em 10% de MeOH em EtOAc e os sólidos brancos foram filtrados para dar o produto desejado (47) (101 mg, 0.115 mmol, 68%). LC-MS: m/z 864 $[\text{M}+\text{H}^+]$, tempo de retenção = 2.72 min.

[00471] *Etapa 3:* (10). Uma solução em agitação de (47), 3-(4-nitro-fenil)-1,5-bis-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-di-hidro-benzo[e]indol-3-il)-pentano-1,5-diona (90 mg, 0.1 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (17 mg, 0.16 mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 1 mL de 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e lavado com água. A camada de diclorometano foi concentrada e 2 mL de HCl 1M (aq) foi adicionado e concentrado. O resíduo foi tomado em acetato de etila e os sólidos foram filtrados para render 48 como um sólido branco. (44 mg, 61%). LC-MS: m/z 654 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 1.73 min.

[00472] Preparação de éster de ácido (S)-3-{2-[2-((S)-5-acetóxi-1-clorometil-1,2-di-hidro-benzo[e]indol-3-il)-2-oxo-etilamino]-acetil}-1-clorometil-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il acético (53).



[00473] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N₂, contendo 3 ácido [carboximetil-(9H-fluoren-9-ilametoxicarbonil)-amino]-acético (49, 300 mg, 0.844 mmol) em 5 mL de DCM anidro adicionado cloreto de oxalila (1.94 mmol, 0.175 mL). A

esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo para render (50) como um sólido branco (330 mg, 0.844 mmol, quantitativo). LCMS, tomado em metanol: m/z 384. 0 $[M+H^+]$, para produto de bis metanólise]. Tempo de retenção = 1.91 min.

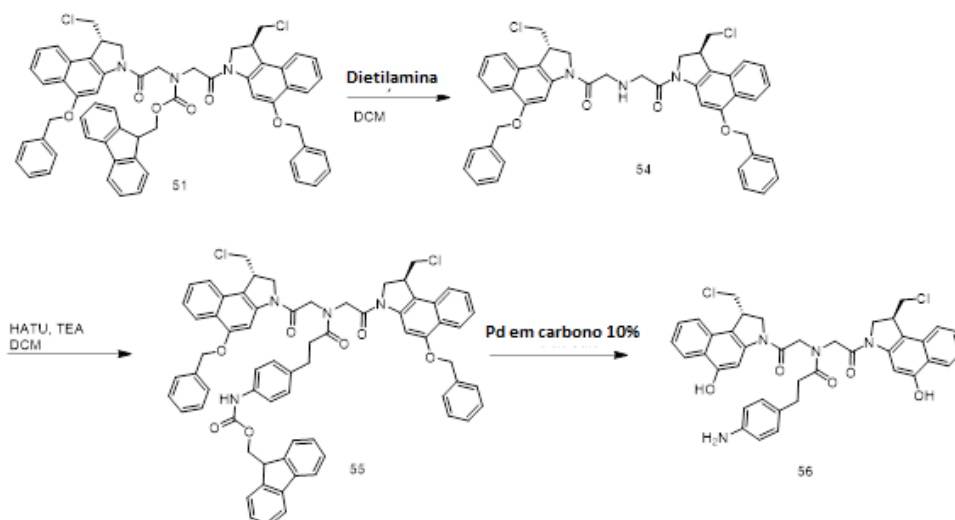
[00474] *Etapa 2:* Em um frasco de fundo redondo contendo 2 (76 mg, 0.21 mmol) em 5 mL de diclorometano, foi adicionado **50** (41 mg, 0.105 mmol). Trietilamina (0.088 mL) foi então adicionada e o sistema foi agitado por 1 hora em temperatura ambiente. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-75% Acetato de etila em heptanos) produzindo (51) (91 mg, 90%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 966 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.91 min.

[00475] *Etapa 3:* Uma solução em agitação de 51 (40 mg, 0.041 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (10 mg, 0.09 mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 1 mL de 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e cloreto de acetila (1 mL) foi adicionado e a reação foi depois concentrada em vácuo. O resíduo foi tomado de volta em 15 mL de diclorometano e transferido a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido

bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% Acetato de etila em Heptanos) produzindo (52) (27 mg, 76%) como um sólido branco. LC-MS: m/z 870 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.51 min.

[00476] *Etapa 4:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo 52 (25 mg, 0.29 mmol) foram adicionados 5 mL de diclorometano e 5 mL de dietilamina. A solução foi agitada por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada em vácuo e tomada em 50% de diclorometano e heptano e concentrada em vácuo novamente. Isto foi repetido por 3 vezes. O sólido bruto foi tomado em 50% de tetra-hidrofurano e HCl 1M (aq). Os sólidos brancos foram tomados em éter e filtrados para render (15) como um sólido branco (14 mg, 70%). LC-MS: m/z 648 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.78 min.

[00477] *Preparação* de 3-(4-Amino-fenil)-N,N-bis-[2-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-di-hidro-benzo[e]indol-3-il)-2-oxo-etil]-propionamida (56)



[00478] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo 51 (300 mg, 0.310 mmol) foram adicionados 5 mL de diclorometano e 5 mL de dietilamina. A solução foi agitada por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada em vácuo e tomada em 50% de diclorometano e heptano e concentrada em vácuo

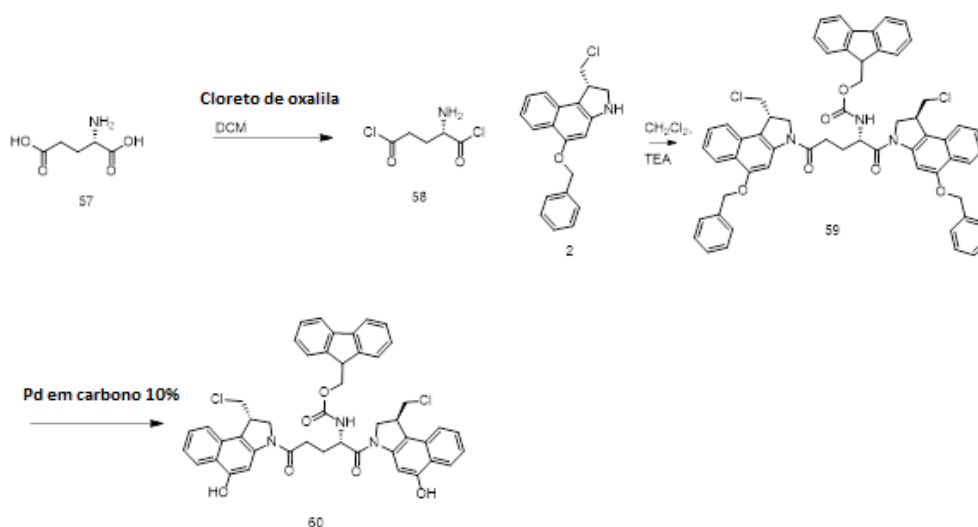
novamente. Isto foi repetido 3 vezes para render (54) como um sólido branco. (216 mg, 93%). LC-MS: m/z 744 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.26 min.

[00479] *Etapa 2:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N_2 , contendo 54 (100 mg, 0.134 mmol) em 5 mL de diclorometano anidro foi adicionado ácido 3-[4-(9H-fluoren-9-ilametoxicarbonilamino)-fenil]-propiónico (52 mg, 0.134 mmol). A esta solução foi adicionado hexafluorofosfato de (dimetilamino)-*N,N*-dimetil(3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridina-3-ilaóxi)metanimínio (52 mg, 0.134 mmol) e trietilamina (0.05 mL). A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo até um resíduo bruto. O resíduo foi tomado de volta em 25 mL de diclorometano e transferido a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo (55) (130 mg, 87%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 1113 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.771 min.

[00480] *Etapa 3:* Uma solução em agitação de 55 (115 mg, 0.103 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (10 mg, 0.1 mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 1 mL de 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e lavado com água. A camada de diclorometano foi concentrada e 2 mL de HCl 1M (aq) foram adicionados e concentrados. O resíduo foi tomado em acetato de etila e os sólidos foram filtrados para render (56) como um sólido bran-

co. (26 mg, 34%). LC-MS: m/z 711 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.6 min.

[00481] Preparação de 9H-fluoren-9-ilmetil éster de ácido [(S)-1-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-di-hidro-benzo[e]indol-3-carbonil)-4-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-di-hidro-benzo[e]indol-3-il)-4-oxo-butil]-carbâmico **60**

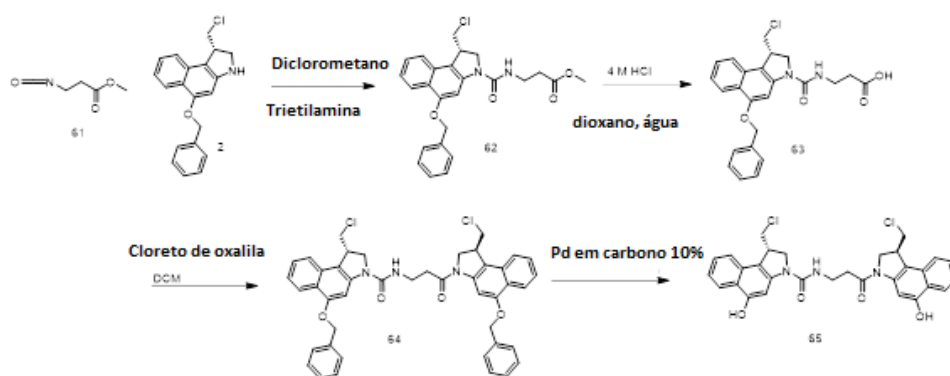


[00482] *Etapas:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N_2 , contendo ácido (S)-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-pentanodioico **57** (400 mg, 1.08 mmol) em 15 mL de diclorometano anidro foi adicionado cloreto de oxalila (2.27 mmol, 0.205 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo até um resíduo bruto **58**. O resíduo foi tomado em diclorometano (10 mL) e adicionado em gotas a um frasco de fundo redondo contendo **2** (700 mg, 2.17 mmol) em 10 mL de diclorometano e trietilamina (0.905 mL). A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente:

0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo (59) (260 mg, 24%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 980 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.84 min.

[00483] *Etapa 2:* Uma solução em agitação de (59), (250 mg, 0.255 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (64 mg, 12.8 mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 2.1 mL de 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 30 min. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e lavado com água. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo (60) (121 mg, 59%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 800 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.25 min.

[00484] Preparação de [3-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-il)-3-oxo-propil]-amida de ácido (S)-1-clorometil-5-hidróxi-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-carboxílico (31). Uma solução em agitação de (65)



[00485] *Etapa 1:* A um frasco de fundo redondo contendo (2) (200 mg, 0.555 mmol) em diclorometano (10 mL) foi adicionado em gotas, metil éster de ácido 3-isocianato-propiónico 61 (79 mg, 0.555 mmol) e trietilamina (0.5 mL). A reação foi agitada por 3 horas. A mistura de

reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo (62) (0.231 mg, 89%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 467 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.11 min. RMN sim

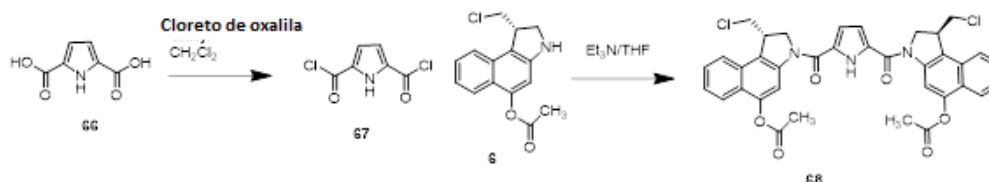
[00486] *Etapa 2:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo 62 (230 mg, 0.493 mmol) foram adicionados 5 mL de HCl 1M (aq) em 5 mL de tetra-hidrofurano. A solução foi agitada por 3 horas a 70°C. A mistura de reação foi concentrada em vácuo e tomada em 50% de diclorometano em heptano e concentrada em vácuo. Isto foi repetido 3 vezes para render (63) (180 mg, 83 %) como um sólido branco após a concentração. LC-MS: m/z 439 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 1.83 min.

[00487] *Etapa 3:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N₂, contendo (63) (110 mg, 0.250 mmol) em 5 mL de DCM anidro foi adicionado cloreto de oxalila (0.250 mmol, 0.02 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo até um resíduo bruto. O resíduo foi tomado em diclorometano (10 mL) e adicionado em gotas a um frasco de fundo redondo contendo **2** (90 mg, 250 mmol) em 10 mL de diclorometano e trietilamina (0.5 mL). A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 15 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo (64) (80g,

43%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 744 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.60 min.

[00488] *Etapa 4:* **64** (75 mg, 0.100 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (25 mg, 0.24 mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 1 mL de 25% de formiato de amônio em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. O resíduo bruto foi tomado em diclorometano e lavado com água. A camada de diclorometano foi concentrada e 2 mL de HCl 1M (aq) foram adicionados e concentrados. O resíduo foi tomado em acetato de etila e os sólidos foram filtrados para render (**65** como um sólido branco (15 mg, 26%). LC-MS: m/z 564 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.88 min.

[00489] *Preparação* de
(1S,1'S)-3,3'-(1H-pirrol-2,5-dicarbonil)bis(1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5,3-diil) diacetato [**68**]

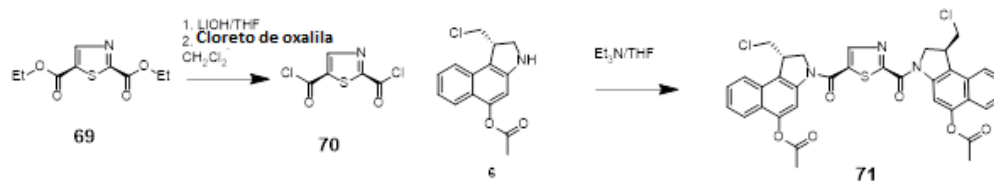


[00490] *Etapa 1:* Ácido 1H-pirrol-2,5-dicarboxílico (32, 50 mg, 0.3 mmol) foi dissolvido em THF (5 mL) a 0°C, o cloreto de oxalila (0.4 mL, 2M em CH_2Cl_2 , 0.8 mmol) foi adicionado, seguido por 2 gotas de DMF. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois em temperatura ambiente por 2 h. Concentrada em vácuo para dar dicloreto de 1H-pirrol-2,5-dicarbonila (33) como um sólido amarelo, o qual foi usado na próxima etapa sem purificação adicional.

[00491] *Etapa 2:* ele foi dissolvido em THF (12 mL) a 0°C, o dicloreto de 1H-pirrol-2,5-dicarbonila (33, from step 2) foi adicionado, seguido

por Et₃N (0.28 mL). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, em temperatura ambiente por 3 h. A mistura foi concentrada em vácuo e o resíduo foi tratado com MeOH para dar um sólido cinza. O sólido foi coletado por filtração para dar o produto bruto como um sólido cinza. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (ACN/água, 0.02% TFA) para dar o produto puro (1S,1'S)-3,3'-(1H-pirrol-2,5-dicarbonil)bis(1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5,3-diil) diacetato como um sólido esbranquiçado (34, 60 mg, 30%). LC-MS: *m/z* 670.4 [M + H], tempo de retenção = 2.20 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 11.77 (s), 8.17 (s), 8.06 (d), 7.92 (d), 7.65 (t), 7.52 (t), 4.80 (t), 4.5 (d), 4.41 (s), 4.10 (d), 4.02 (m), 2.10 (s).

[00492] Preparação de (1S,1'S)-3,3'-(tiazol-2,5-dicarbonil)bis(1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5,3-diil) diacetato [71]

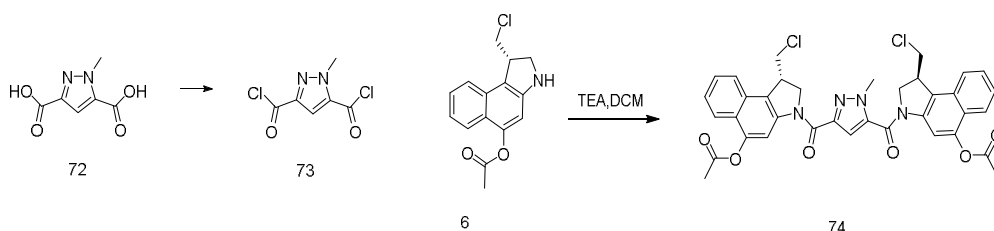


[00493] *Etapa 1:* Tiazol-2,5-dicarboxilato de dietila (35, 348 mg, 1.5 mmol) foi dissolvido em THF (10 mL), adicionada uma solução de LiOH·H₂O (383 mg, 9.0 mmol) em água (5 mL) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 30 min, depois em temperatura ambiente por 4 h. Concentrada em vácuo para remover THF e o resíduo foi acidificado pela adição de HCL 1M de solução aquosa até pH em torno de 4-5. O sólido resultante foi coletado por filtração para dar o ácido tiazol-2,5-dicarboxílico como um sólido branco (63 mg, 24%). O ácido tiazol-2,5-dicarboxílico (20 mg, 0.12 mmol) foi dissolvido em THF (2 mL), adicionado cloreto de oxalila (0.18 mL, 2M in DCM) a 0°C, seguido por 2 gotas de DMF. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois

em temperatura ambiente por 1 h. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente 70°C como um sólido branco.

[00494] *Etapa 2:* O sólido amarelo 5 foi suspenso em THF (3 mL), adicionado o cloreto ácido da etapa 2, seguido por Et₃N (0.05 mL, 0.4 mmol) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois em temperatura ambiente por 1 h. A mistura de reação foi concentrada em vácuo e o resíduo foi purificado por HPLC Gilson para dar o composto desejado 71 como um sólido amarelo (3.6 mg, 3.9%). LC-MS: *m/z* 688.5 [M + H], tempo de retenção = 2.27 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8.81 (s), 8.41 (s), 8.27 (s), 8.16 (m), 8.04 (m), 7.74 (m), 7.64 (m), 5.25 (d), 4.94 (q), 4.53 (m), 4.21 – 4.08 (m), 2.63 (s).

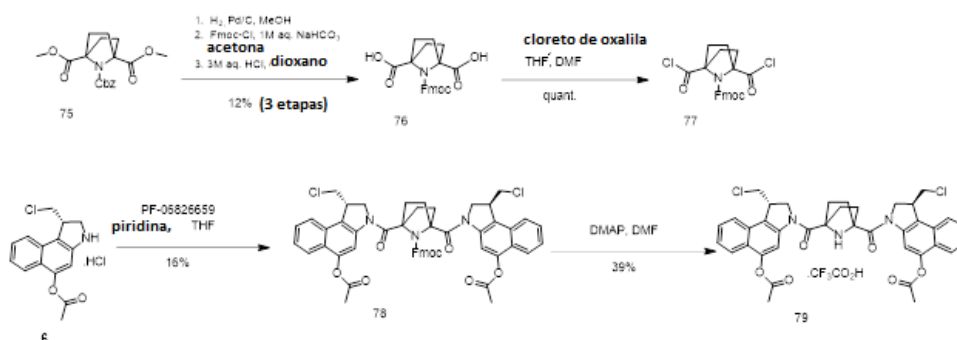
[00495] Preparação de éster de ácido (S)-3-[5-((S)-5-acetóxi-1-clorometil-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-carbonil)-1-metil-1H-pirazol-3-carbonil]-1-clorometil-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-il acético (74).



[00496] Em um frasco de fundo redondo purificado com N₂, contendo ácido 1-metil-1H-pirazol-3,5-dicarboxílico 38 (20 mg, 0.12 mmol) em 5 mL de diclorometano anidro foi adicionado cloreto de oxalila (0.248 mmol, 0.022 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada em vácuo até um resíduo bruto 73. 73 foi tomado em diclorometano (10 mL) e adicionado em gotas a um frasco de fundo redondo contendo éster de ácido (S)-1-clorometil-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-il acético (5, 73 mg, 0.236 mmol) em 5 mL de diclorometano e trietilamina (2.08 mL). A mistura de reação bruta foi

concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo (74) (12 mg, 15%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 6852 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.21 min.

[00497] Preparação de 7-azabicyclo[2.2.1]heptano-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato **79**



[00498] *Etapa 1:* Uma mistura de 7-azabicyclo[2.2.1]heptano-1,4,7-tricarboxilato de 7-benzil 1,4-dimetila (3.20 g, 9.21 mmol) [preparado conforme descrito em Chem. Eur. J. 2012, 18, 1127-1141] na presença de Pd/C (10%, 1000 mg) foi hidrogenada na pressão de um balão em temperatura ambiente por ~2 horas. A reação foi filtrada através de uma almofada de celite e a torta foi lavada com uma solução de 40 mL de metanol e 40 mL de diclorometano. Os produtos orgânicos foram combinados e concentrados *in vacuo* para render um sólido amarelo claro. A uma solução em agitação deste sólido bruto em 40 mL de acetona a 0°C, $NaHCO_3$ aq. (1 M, 65 mL, 64.6 mmol) foi adicionado seguido pela adição em gotas de Fmoc-Cl (3.34 g, 12.9 mmol) como uma solução em 40 mL de acetona. A reação foi diluída com 100 mL de

água e extraída com acetato de etila (100 mL, 3x). Os produtos orgânicos foram combinados com água, salmoura, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *in vacuo*. A cromatografia em coluna de sílica-gel foi então realizada (Gradiente: 12.5% to 17% acetato de etila em éter de petróleo). Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* rendendo um sólido branco. O material bruto foi então suspenso em HCl aq. (3 M, 60 mL) e 80 mL de dioxano. A reação foi aquecida até refluxo e depois deixada agitar em refluxo por ~16 horas. A reação foi depois concentrada *in vacuo* para remover a maior parte do dioxano. A fase aquosa foi então extraída com acetato de etila (100 mL, 2x). Os produtos orgânicos foram combinados, lavados com salmoura, secos sobre sulfato de sódio e concentrados *in vacuo*. A cromatografia em coluna de sílica-gel foi então realizada (Gradiente: 8.3% to 25% metanol em diclorometano). Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* e depois purificados novamente por HPLC preparativa (método M, usando gradiente 50% B até 80% B ao longo de 30 min, depois 95% ao longo de 5 min) para prover 76 (400 mg, 12%, 3 etapas) como um sólido branco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.81-7.79 (d, 2H), 7.72-7.71 (d, 2H), 7.42-7.38 (m, 2H), 7.34-7.31 (m, 2H), 4.35-4.33-7.33 (d, 2H), 4.22-4.19 (m, 1H), 2.28-2.26 (d, 4H), 1.93-1.91 (d, 2H).

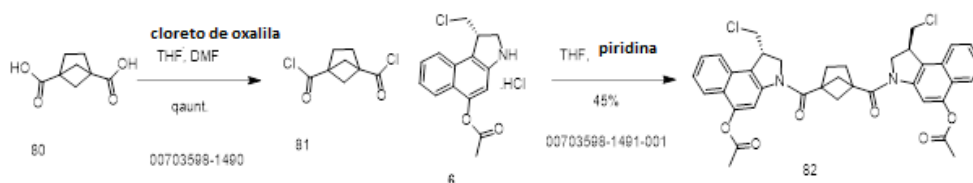
[00499] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral A usando 76 (90 mg, 0.40 mmol), cloreto de oxalila (0.033 mL, 0.39 mmol), THF (8 mL) e 1 gota de DMF, 77 foi preparado como um sólido esbranquiçado (79 mg, quant.). O produto bruto 77 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como está.

[00500] *Etapa 3:* Em seguida ao procedimento geral B usando 6 (103 mg, 0.331 mmol), o material bruto de 77 (70 mg, 0.16 mmol), piridina (0.051 mL, 0.63 mmol) e THF (12 mL) foi preparado. A reação concentrada *in vacuo* dissolvida em DMSO e injetada em uma pré-

coluna C19 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 30% a 95% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase). Os tubos de teste adequados foram concentrados usando um genevac produzindo 78 (23 mg, 16%) como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 922.0 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.59 min.

[00501] *Etapa 4:* A uma solução em agitação de 78 (17.9 mg, 0.019 mmol) em 1.0 mL de DMF, DMAP (47.4 mg, 0.388 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~60 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 30% a 95% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase). Os tubos de teste adequados foram concentrados usando um genevac produzindo 79 (6.1 mg, 39%) como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 700.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.47 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.26-10.17 (m, 2H), 8.28-8.24 (m, 2H), 8.11-8.06 (d, 2H), 8.00-7.95 (d, 2H), 7.71-7.64 (t, 2H), 7.60-7.53 (t, 2H), 4.56-4.37 (m, 6H), 4.18-4.05 (m, 4H), 2.83-2.59 (m, 8H), 2.49-2.37 (m, 6H).

[00502] Preparação de (1S,4S)-biciclo[2.1.1]hexano-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato 82.

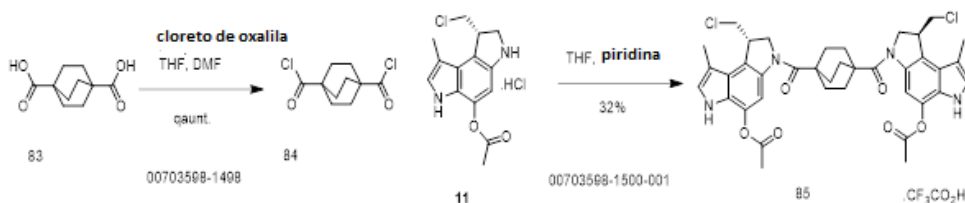


[00503] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido

biciclo[2.1.1]hexano-1,4-dicarboxílico 80 (30 mg, 0.18 mmol), cloreto de oxalila (0.0303 mL, 0.353 mmol), THF (4 mL) e 1 gota de DMF, 81 foi preparado como um sólido esbranquiçado (39 mg, quant.). O produto bruto 81 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00504] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando 6 (106 mg, 0.338 mmol), 81 (35 mg, 0.17 mmol), piridina (0.0545 mL, 0.676 mmol) e THF (8 mL) e a purificação usando a cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 75% de acetoni-trila em água com 0.02% de TFA em cada fase), 82 (52 mg, 45%) foi produzido como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 685.2 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.16 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.23 (s, 2H), 8.03-7.99 (d, 2H), 7.92-7.87 (d, 2H), 7.63-7.57 (t, 2H), 7.51-7.44 (t, 2H), 4.47-4.25 (m, 6H), 4.13-3.98 (m, 4H), 2.47 (s, 6H), 2.27-2.07 (m, 8H).

[00505] Preparação de biciclo[2.2.2]octano-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrólo[3,2-e]indol-3,5(2H)-diil] diaceta-to 85.

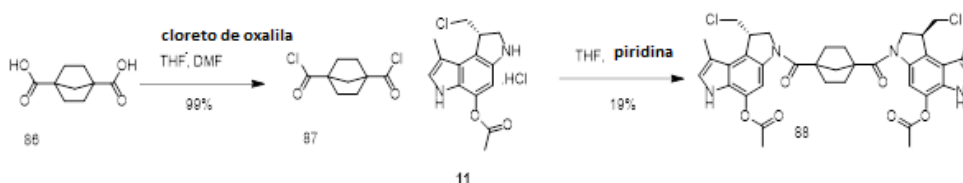


[00506] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido biciclo[2.2.2]octano-1,4-dicarboxílico 83 (16 mg, 0.081 mmol), cloreto de oxalila (0.015 mL, 0.17 mmol), THF (5 mL) e 1 gota de DMF, 84 foi preparado como um sólido esbranquiçado (19 mg, quant.). O produto bruto 84 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00507] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando 189 (50.9 mg, 0.145 mmol), 84 (17.0 mg, 0.0723 mmol), piridina (0.0233

mL, 0.289 mmol) e THF (4 mL) e a purificação usando a cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 75% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase), 85 (21.6 mg, 32%) foi produzido como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 719.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.27 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.00 (s, 2H), 7.79 (s, 2H), 7.19 (s, 2H), 4.68-4.62 (m, 2H), 4.27-4.19 (m, 2H), 4.06-3.94 (m, 4H), 3.65-3.57 (m, 2H), 2.42-2.32 (m, 12H), 2.12-1.96 (m, 12H).

[00508] Preparação de biciclo[2.2.1]heptano-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrólo[3,2-e]indol-3,5(2H)-diil] diacetato 88.

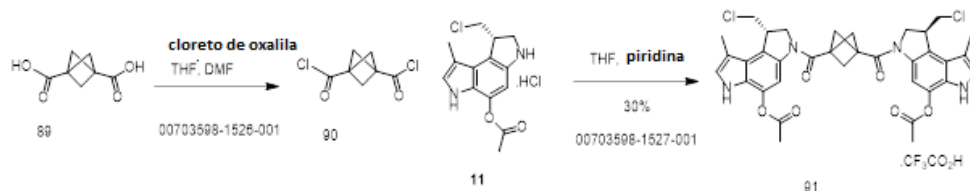


[00509] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido biciclo[2.2.1]heptano-1,4-dicarboxílico 86 (16 mg, 0.087 mmol), cloreto de oxalila (0.016 mL, 0.18 mmol), THF (5 mL) e 1 gota de DMF, 87 foi preparado como um sólido esbranquiçado (19 mg, 99%). O produto bruto 87 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00510] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando 189 (54.1 mg, 0.154 mmol), 87 (17.0 mg, 0.0769 mmol), piridina (0.0248 mL, 0.308 mmol) e THF (4 mL) e a purificação usando a cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 75% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase), 88 (13.6 mg, 19%) foi produzido como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 705.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.32 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.02 (s, 2H), 7.82 (s, 2H), 7.19 (s, 2H), 4.50-4.45 (d, 2H), 4.26-4.16 (m, 2H), 4.10-4.02 (m, 2H), 3.98-3.92 (m, 2H), 3.65-

3.58 (m, 2H), 2.41-2.33 (m, 12H), 2.22-2.03 (m, 10H).

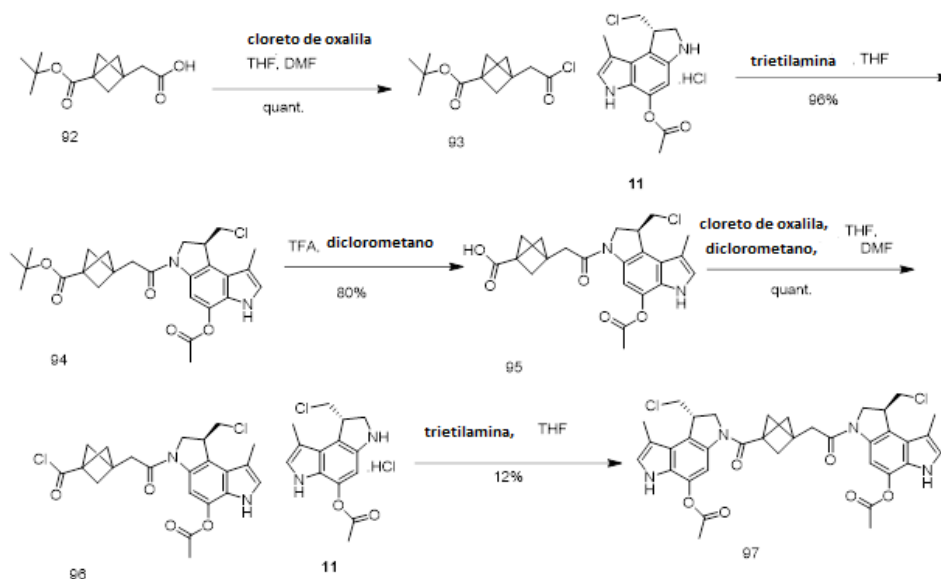
[00511] Preparação de biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrólo[3,2-e]indol-3,5(2H)-diil] diacetato 91.



[00512] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido biciclo[1.1.1]pentano-1,3-dicarboxílico 89 (31 mg, 0.20 mmol), cloreto de oxalila (0.025 mL, 0.40 mmol), THF (8 mL) e 1 gota de DMF, 90 foi preparado como um sólido esbranquiçado (40 mg, quant.). O produto bruto 90 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00513] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando 189 (142 mg, 0.404 mmol), 90 (39 mg, 0.20 mmol), piridina (0.065 mL, 0.81 mmol) e THF (12 mL) e a purificação usando a cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 75% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase), 91 (45.5 mg, 30%) foi produzido como um sólido cinzento-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 677.2 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.89 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.04 (s, 2H), 7.78 (s, 2H), 7.20 (s, 2H), 4.47-4.39 (m, 2H), 4.36-4.26 (m, 2H), 4.18-4.08 (m, 2H), 4.03-3.94 (m, 2H), 3.77-3.66 (m, 2H), 2.56 (s, 6H), 2.41-2.31 (m, 12H).

[00514] Preparação de acetato de (8S)-6-[(3-[(1S)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrólo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)acetil]-8-(clorometil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrólo[3,2-e]indol-4-ila 97.



[00515] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido 3-(2-terc-butóxi-2-oxoetil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carboxílico 92 [preparado conforme descrito em *Bioorg. Med. Chem.* 2009, 17, 242-250.] (90 mg, 0.40 mmol), cloreto de oxalila (0.041 mL, 0.477 mmol), THF (8 mL) e 1 gota de DMF, 93 foi preparado como um sólido esbranquiçado (103 mg, quant.). O produto bruto 93 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

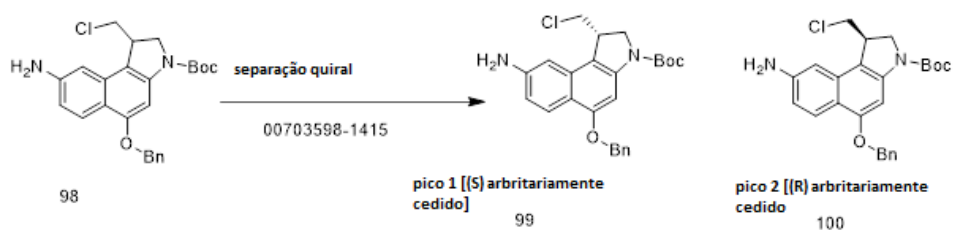
[00516] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando 11 (141 mg, 0.40 mmol), 93 (98 mg, 0.40 mmol), trietilamina (0.168 mL, 1.20 mmol) e THF (30 mL) e a purificação usando cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 35% de acetona em heptano), 94 (188 mg, 96%) foi produzido como um sólido esbranquiçado. LC-MS (Protocolo B): m/z 487.2 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.04 min.

[00517] *Etapa 3:* A uma solução em agitação de 94 (184 mg, 0.378 mmol), em 8 mL de diclorometano, TFA (4.0 mL, 52 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~45 min. A reação foi concentrada *in vacuo* e colocada debaixo de alto vácuo produzindo 95 (164 mg, 80%) como um sólido cinzento-claro, o qual foi usado na próxima etapa sem purificação. LC-MS (Protocolo B): m/z 431.7 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.39 min.

[00518] *Etapa 4:* Em seguida ao procedimento geral A usando 95 (55 mg, 0.101 mmol), cloreto de oxalila (0.0104 mL, 0.121 mmol), THF (3 mL), diclorometano (1 mL) e 1 gota de DMF, 96 foi preparado como um sólido esbranquiçado (46 mg, quant.). O produto bruto 96 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00519] *Etapa 5:* Em seguida ao procedimento geral B usando 11 (31.3 mg, 0.089 mmol), 96 (40 mg, 0.089 mmol), piridina (0.0215 mL, 0.267 mmol) e THF (8.0 mL) e a purificação usando a cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 70% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase), 97 (10.1 mg, 12%) foi produzido como um sólido cinzento-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 691.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.93 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.02 (s, 2H), 7.86-7.72 (d, 2H), 7.19 (s, 2H), 4.43-4.36 (m, 1H), 4.28-4.14 (m, 3H), 4.13-4.05 (m, 2H), 3.96-3.89 (m, 2H), 3.68-3.60 (m, 2H), 2.89-2.82 (m, 2H), 2.73-2.66 (m, 2H), 2.40-2.30 (m, 12H), 2.24-2.15 (m, 6H).

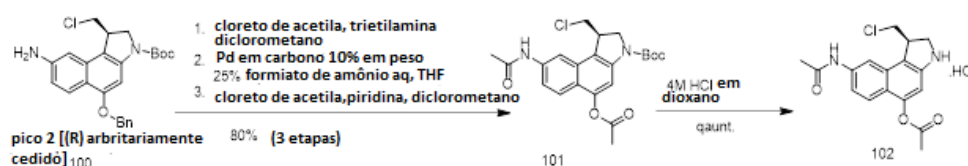
[00520] Preparação de (1S)-8-amino-5-(benzilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila **99** e (1R)-8-amino-5-(benzilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila **98**.



[00521] **98** 8-amino-5-(benzilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila [preparado usando a química descrita em J. Med. Chem. 2012, 55, 5878-5886] foi separado usando cromatografia em fluido supercrítico (método L1). O pico 1 foi concentrado *in vacuo* rendendo **99** (385 mg) foi arbitrariamente designado

como (S). LC-MS (Protocolo B): m/z 439.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.34 min. O pico 2 foi concentrado *in vacuo* rendendo **100** (401 mg) foi arbitrariamente designado como (R). LC-MS (Protocolo B): m/z 439.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.34 min.

[00522] Preparação de (1R)-8-(acetilamino)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila **102**

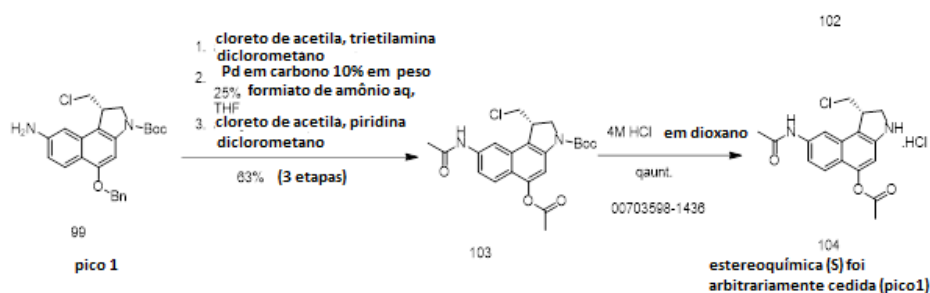


[00523] Etapa 1: A uma solução em agitação de **99** (60 mg, 0.14 mmol) em 6 mL de diclorometano a 0°C, cloreto de acetila (0.015 mL, 0.206 mmol) foi adicionado seguido por trietilamina (0.029 mL, 0.206 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~25 min. A reação foi diluída com diclorometano e depois transferida a um funil de separação. A camada orgânica foi separada e depois lavada com HCl 1N, e depois água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e depois concentrada *in vacuo* produzindo um sólido laranja. A uma solução em agitação de material bruto em 4 mL de THF a 0°C, Pd. Em carbono 10% em peso (45 mg) foi adicionado seguido por uma solução de formiato de amônio aq. a 25% (0.3 mL). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~4 horas. A reação foi diluída com THF e éter. O sulfato de sódio foi adicionado e a reação foi filtrada através de uma fina almofada de celite. Os orgânicos foram concentrados *in vacuo* e colocados debaixo de alto vácuo produzindo um sólido marrom-claro. A uma solução em agitação de material bruto em 6 mL de diclorometano a 0°C, cloreto de acetila (0.015

mL, 0.211 mmol) foi adicionado seguido por piridina (0.017 mL, 0.211 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~25 min. A reação foi concentrada *in vacuo*. A cromatografia em coluna de sílica-gel foi então realizada (Gradiente: 0% a 45% acetona em heptano). Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* rendendo **101** (49 mg, 80%, 3 etapas) como um sólido esbranquiçado. LC-MS (Protocolo B): m/z 455.9 $[M+Na]^{+23}$, tempo de retenção = 2.05 min.

[00524] *Etapa 2:* A um frasco de fundo redondo contendo **101** (45 mg, 0.10 mmol), HCl 4M em dioxano (6.0 mL, 24 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~2 horas. A reação foi concentrada *in vacuo* e colocada debaixo de alto vácuo produzindo **102** (42 mg, quant.) como um sólido marrom-escuro. LC-MS (Protocolo B): m/z 333.0 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.65 min.

[00525] Preparação de (1S)-8-(acetilamino)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila **103**



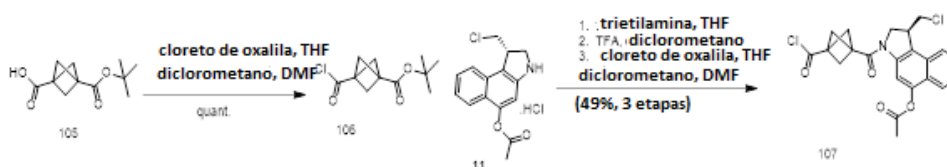
[00526] *Etapa 1:* A uma solução em agitação de **99** (65 mg, 0.15 mmol) em 6 mL de diclorometano a 0°C, o cloreto de acetila (0.016 mL, 0.22 mmol) foi adicionado seguido por trietilamina (0.031 mL, 0.22 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~25 min. A reação foi diluída com diclorometano e depois transferida a um funil de separação. A camada orgânica

foi separada e depois lavada com HCl 1N e depois água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e depois concentrada *in vacuo* produzindo um sólido laranja. A uma solução em agitação de material bruto em 4 mL de THF a 0°C, Pd. em carbono 10% em peso (45 mg) foi adicionado seguido por uma solução de formiato de amônio aq. a 25% (0.5 mL). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~4 horas. A reação foi diluída com THF e éter. O sulfato de sódio foi adicionado e a reação foi filtrada através de uma fina almofada de celite. Os orgânicos foram concentrados *in vacuo* e colocados debaixo de alto vácuo produzindo um sólido marrom-claro. A uma solução em agitação de material bruto em 8 mL de diclorometano a 0°C, o cloreto de acetila (0.015 mL, 0.21 mmol) foi adicionado seguido por piridina (0.017 mL, 0.21 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~25 min. A reação foi concentrada *in vacuo*. A cromatografia em coluna de sílica-gel foi então realizada (Gradiente: 0% a 25% de acetona em heptano).

[00527] Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* rendendo **103** (39.1 mg, 63%, 3 etapas) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 455.0 $[M+Na]^{+23}$, tempo de retenção = 2.00 min.

[00528] *Etapa 2:* A um frasco de fundo redondo contendo 103 (37 mg, 0.085 mmol), HCl 4M em dioxano (4.0 mL, 16 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~2 horas. A reação foi concentrada *in vacuo* e colocada debaixo de alto vácuo produzindo 104 (34 mg, quant.) como um sólido verde. LC-MS (Protocolo B): m/z 333.0 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.41 min.

[00529] Preparação de (1S)-3-{[3-(clorocarbonil)biciclo[1.1.1]pent-1-ila]carbonil}-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **107**.

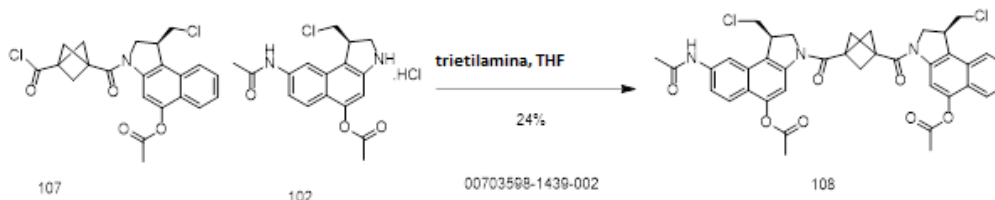


[00530] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido 3-(terc-butoxicarbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carboxílico **105** (212 mg, 1.0 mmol), cloreto de oxalila (0.094 mL, 1.10 mmol), THF (3 mL), diclorometano (6 mL) e 1 gota de DMF, 105 foi preparado como um sólido esbranquiçado (235 mg, quant.). O produto bruto 105 foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00531] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando **11** (311 mg, 0.997 mmol), **105** (230 mg, 0.997 mmol), trietilamina (0.292 mL, 2.09 mmol) e THF (20 mL) e a purificação usando cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 10% a 75% de acetona em heptano). Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* produzindo um sólido branco. A uma solução em agitação de material bruto em 10 mL de diclorometano, TFA (5.0 mL, 65 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~90 min. A reação foi concentrada *in vacuo*. O material foi dissolvido com diclorometano, transferido a um funil de separação e depois lavado com HCl aq. 1N, salmoura e água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e depois concentrada *in vacuo* antes de ser colocada debaixo de alto vácuo produzindo um sólido branco. Ao usar este material bruto e em seguida ao procedimento geral A com o cloreto de oxalila (0.010 mL, 0.121 mmol), THF (4 mL), diclorometano (2 mL) e 1 gota de DMF, **107** foi preparado como um sólido branco (52 mg, 49%, 3 etapas). O produto bruto **107** foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

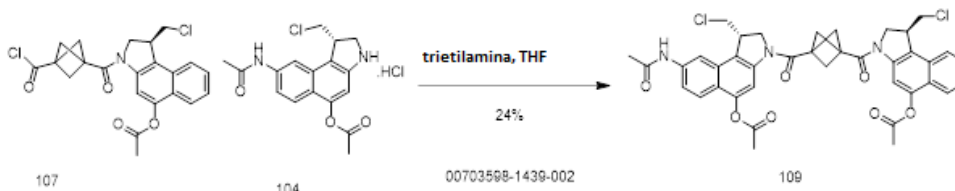
[00532] Preparação de acetato de (1R)-8-(acetilamino)-3-[(3-[(1S)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-

ila]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-
3H-benzo[e]indol-5-ila 108



[00533] Em seguida ao procedimento geral B usando 107 (21 mg, 0.057 mmol), 102 (24.6 mg, 0.057 mmol), trietilamina (0.024 mL, 0.171 mmol) e THF (6 mL) e purificação através de HPLC preparativa (método H1 **108** (5.8 mg, 14%) foi produzido como um sólido esbranquiçado. LC-MS (Protocolo B): m/z 728.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.12 min.

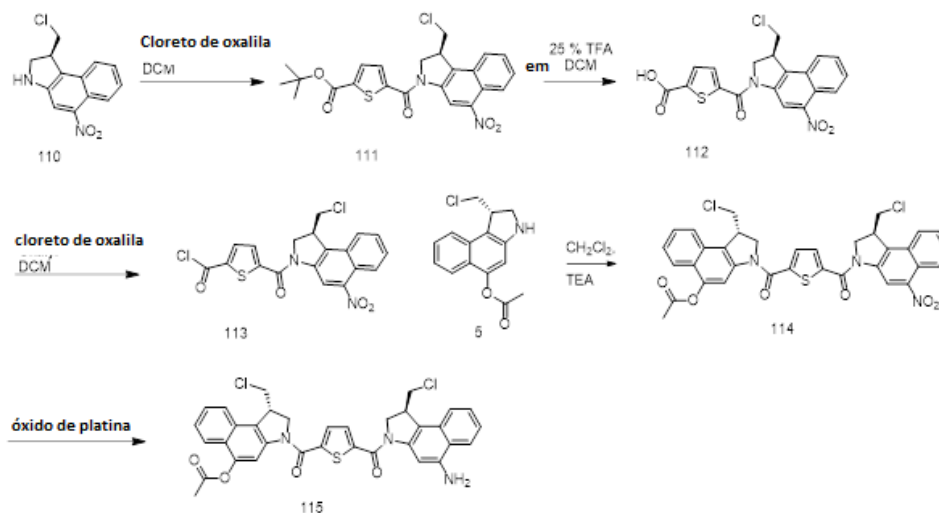
[00534] Preparação de acetato de (1S)-3-[(3-[(1S)-8-(acetilamino)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-ila]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **109**



[00535] Em seguida ao procedimento geral B usando 107 (29.4 mg, 0.068 mmol), 104 (25 mg, 0.068 mmol), trietilamina (0.028 mL, 0.028 mmol) e THF (8 mL) e a purificação usando a cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 75% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase), 109 (11.8 mg, 24%) foi produzido como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 728.0 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.13 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.25 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 8.04-7.98 (m, 1H), 7.92-7.80 (m, 2H), 7.63-7.55 (m, 2H), 7.50-7.45 (m, 1H), 4.56-4.33 (m, 5H), 4.29-4.17 (m, 1H), 4.16-3.94 (m, 4H), 2.62 (s, 6H), 2.48-2.43

(m, 6H), 2.11 (s, 3H).

[00536] Preparação de éster de ácido (S)-3-[5-((S)-5-amino-1-clorometil-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-carbonil)-tiofeno-2-carbonil]-1-clorometil-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-il acético **115**



[00537] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N₂, contendo mono-terc-butil éster de ácido tiofeno-2,5-dicarboxílico (152 mg, 0.66 mmol) em 5 mL de DCM anidro foi adicionado cloreto de oxalila (0.66 mmol, 0.066 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada in vacuo até um resíduo bruto. O resíduo foi então adicionado a um frasco de fundo redondo contendo 110 (200 mg, 0.66 mmol) em 15 mL de diclorometano anidro. A reação foi agitada por 2 horas. O resíduo foi diluído com 15 mL de diclorometano e transferido a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x) e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% de Acetato de etila em Heptanos) produzindo 111 (185 mg, 58%) como um sólido amarelo. LC-MS: *m/z* 473 [M+H⁺], tempo de retenção = 2.25 min.

[00538] *Etapa 2 :* 111 foram adicionados 10 mL de ácido trifluoroa-

cético a 25 % em diclorometano. A reação foi agitada por 30 min. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo para render **112** como um sólido amarelo. LC-MS: m/z 416 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 1.65 min.

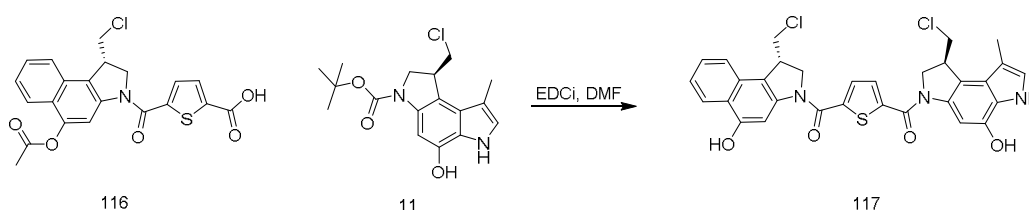
[00539] *Etapa 3:* Em um frasco de fundo redondo purificado com N_2 , contendo **112** (100 mg, 0.24 mmol) em 5 mL de DCM anidro foi adicionado cloreto de oxalila (0.24 mmol, 0.02 mL). A esta solução foi adicionada 1 gota de N, N-dimetilformamida. A mistura de reação foi agitada por 3 horas e concentrada in vacuo para render **113** como um sólido amarelo (100 mg, 0.24 mmol, quantitativo). LCMS, tomado em metanol: m/z 282. 0 $[M+H^+]$, para o produto de metanólise]. tempo de retenção = 1.95 min.

[00540] *Etapa 4:* Em um frasco de fundo redondo contendo **5**, 28mg, 0.092 mmol) em 5 mL de diclorometano foi adicionado **113** (40 mg, 0.092 mmol). A trietilamina (0.088 mL) foi então adicionada e o sistema foi agitado por 1 hora em temperatura ambiente. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada de volta em 25 mL de diclorometano e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% de acetato de etila em heptanos) produzindo **114** (40 mg, 64%) como um sólido amarelo. LC-MS: m/z 674 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.25 min.

[00541] *Etapa 5:* Em um frasco Parr contendo **114** (30 mg, .044 mmol) em 15 mL de tetra-hidrofurano anidro foi adicionado óxido de platina (5 mg, 0.02 mmol). O sistema foi capeado com um septo de borracha e a hidrogenação ocorreu sob H_2 a 50 Psi por 3 horas. Depois de 3 horas, o frasco Parr foi purificado com N_2 e a reação do produto bruto foi filtrada através de um plugue de celite usando acetato de

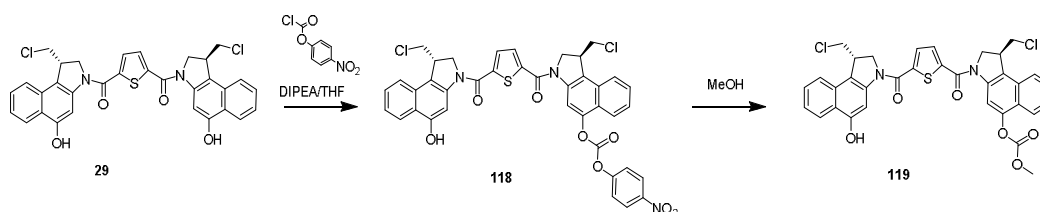
etila. O filtrado contendo o produto bruto desejado foi então concentrado. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% de acetato de etila em heptanos) produzindo **115** (15 mg, 50%) como um sólido amarelo. LC-MS: m/z 644 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.06 min.

[00542] Preparação de ((S)-1-Clorometil-5-hidróxi-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-il)-[5-((S)-1-clorometil-5-hidróxi-8-metil-1,6-dihidro-2H-pirrolo[3,2-e]indol-3-carbonil)-tiofen-2-il]-metanona **117**.



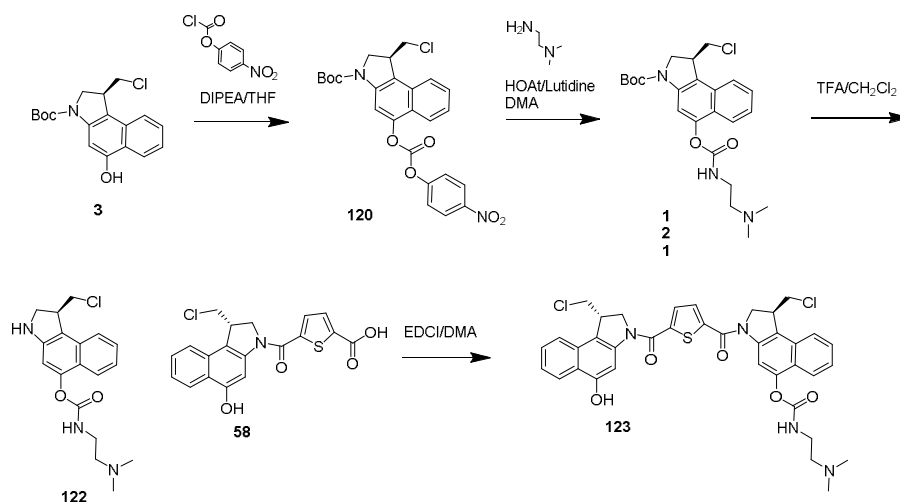
[00543] Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo **11** (34 mg, 0.1 mmol) foi tomado em *N,N*-dimetilformamida (5 mL) e adicionado em gotas a um frasco de fundo redondo contendo ácido 5-((S)-5-acetóxi-1-clorometil-1,2-dihidro-benzo[e]indol-3-carbonil)-tiofeno-2-carboxílico (42, 44 mg, 0.1 mmol), 3-(Etiliminometilenoamino)-*N,N*-dimetilpropan-1-amina (59 mg, 0.3 mmol) e bicarbonato de sódio (36 mg, 0.4 mmol) em 5 mL de *N,N*-dimetilformamida). A reação foi agitada por 30 min. 3 mL de HCl (aq) 1M foram adicionados e a mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo. A cromatografia em fase reversa foi então realizada (Gradiente: 0%-65% de acetonitrila em água) produzindo **117** (15 mg, 24%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 604 $[M-H^+]$, tempo de retenção = 1.93 min

[00544] Preparação de metil carbonato de (S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **119**



[00545] Uma solução de cloroformiato de 4-nitrofenila (11 mg, 0.054 mmol) em THF (1 mL) foi adicionada a uma solução de **29** (27 mg, 0.045 mmol) em THF (3 mL) e DIPEA (0.032 mL, 0.18 mmol) a 0°C. A mistura foi agitada a 0°C por 2 h e agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. LC-MS mostrou que o mono-PNP carbonato **118** foi formado. À mistura de reação, o metanol (1 mL) foi adicionado. Depois de ser agitada por 5 min, ela foi concentrada em vácuo e o resíduo foi purificado por HPLC Gilson (CAN/água, 0.02% TFA) para dar o produto **119** como um sólido esbranquiçado (5 mg, 20%). LC-MS: m/z 660.7 [M + H], tempo de retenção = 1.06 min. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3), δ 8.53 (d), 7.80 (m), 7.72 (d), 7.45 (m), 7.34 (m), 4.72 (m), 4.62 (d), 4.30 (m), 4.11 (t), 4.04 (s), 3.86 (d), 3.71 (d), 3.47 (t), 3.24 (m).

[00546] Preparação de (2-(dimetilamino)etil)carbamato de (S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **123**



[00547] *Etapa1:* Uma solução de cloroformiato de 4-nitrofenila (164 mg, 0.78 mmol) em THF (1 mL) foi adicionada a uma solução de **3**

(200 mg, 0.60 mmol) em THF (6 mL) e DIPEA (0.315 mL, 1.8 mmol) a 0°C e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h, concentrada e o resíduo foi tratado com EA e água, extraído com EA, lavado com água e salmoura. Seco sobre MgSO₄, o solvente foi removido em vácuo para dar o PNP carbonato **120** como uma espuma marrom (300 mg, 100%). LC-MS: *m/z* 399.0 [M + H], tempo de retenção = 2.37 min.

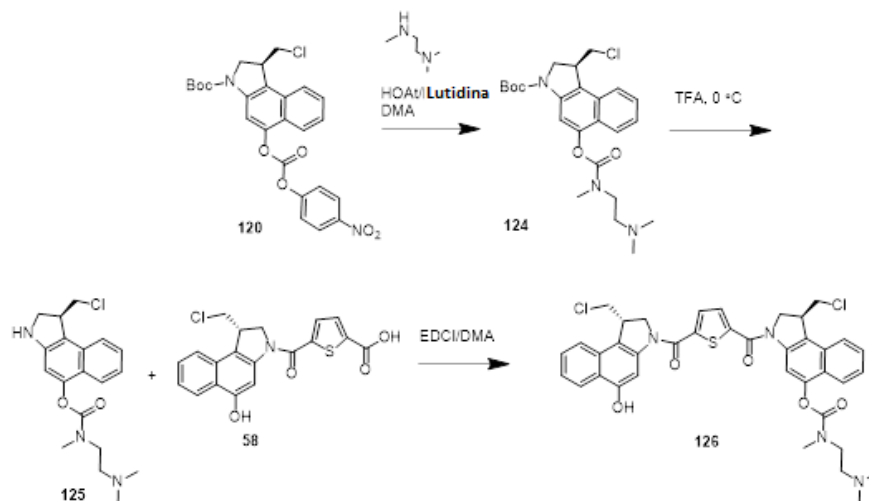
[00548] *Etapa 2:* N,N-dimetiletilenodiamina (35 mg, 0.4 mmol) foi adicionada a uma solução do PNP carbonato acima **120** (100 mg, 0.2 mmol) em DMA (3 mL), seguido por lutidina (0.07 mL, 0.6 mmol) e HOAt (14 mg, 0.1 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 4 h. A mistura foi submetida à purificação por HPLC Gilson (ACN/água, 0.02% TFA) para dar o carbamato de 1-(clorometil)-5-(((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)óxi)-1H-benzo[e]indol-3(2H)-carboxilato de (S)-terc-butila **121** como um vidro amarelo (86 mg, 77%). LC-MS: *m/z* 448.1 [M + H], tempo de retenção = 0.70 min.

[00549] *Etapa 3:* O composto acima **121** (38 mg, 0.067 mmol) foi tratado com TFA (0.5 mL) e CH₂Cl₂ (2 mL) por 2 h, depois concentrado em vácuo para dar a amina desprotegida correspondente **122** a qual foi dissolvida em DMA (3 mL). A esta solução, foi adicionado ácido (S)-5-(1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-

hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carboxílico [58] (26 mg, 0.067 mmol), seguido por EDCI (27 mg, 0.14 mmol) e a mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (ACN/água, 0.02% de TFA) para dar **123** (4.5 mg, 8%). LC-MS: *m/z* 717.4 [M + H], tempo de retenção = 1.38 min. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ 8.24 (d), 8.0 (d), 7.75 (d), 7.64 (s), 7.55 - 7.34 (m), 4.62 (m), 4.13 (t), 4.05 (t), 3.94 (t), 3.64 (t), 3.57 - 3.45 (m), 3.33 (s), 3.25 (s), 2.89 (s).

[00550] Preparação de metil(2-metilamino)etil)carbamato de (S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-

hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-
hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **126**

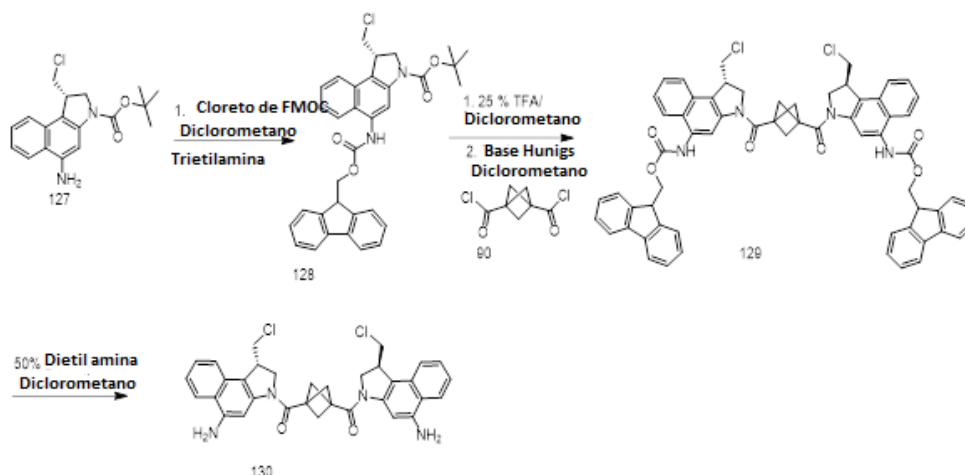


[00551] *Etapa 1:* À solução acima de **120**, N,N,N-trimetiletilenodiamina (222 mg, 0.28 mmol) foi adicionada, seguida por lutidina (0.37 mL, 3.2 mmol) e HOAt (29 mg, 0.2 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. A mistura foi concentrada e o resíduo foi diluído com acetato de etila, lavada com salmoura, seca sobre MgSO₄. O produto bruto da reação foi purificado por ISCO usando MeOH/DCM (0 - 20%) para dar o **124** como uma espuma branca (245 mg, 50%). LC-MS: *m/z* 462.2 [M + H], tempo de retenção = 1.45 min.

[00552] *Etapa 2:* O composto acima **124** (40 mg, 0.087 mmol) foi tratado com TFA pré-resfriado (1 mL) a 0 °C por 10 min. TFA foi removido sob vácuo para dar a amina desprotegida correspondente **125**, a qual foi dissolvida em DMF (3 mL). A esta solução, foi adicionado ácido (S)-5-(1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carboxílico [58] (34 mg, 0.087 mmol), seguido por EDCI (35 mg, 0.17 mmol) e a mistura foi agitada em temperatura ambiente de um dia para o outro. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (ACN/água, 0.02% TFA) para dar o produto **126** como um sólido esbranquiçado (25 mg, 39%). LC-MS: *m/z* 731.1 [M + H], tempo de retenção = 1.71 min. ¹H RMN (400 MHz,

DMSO- d_6), δ 10.49 (s), 8.26 (s), 8.14 (d), 7.98 (d), 7.88 (d), 7.66 (t), 7.77 (t), 7.40 (t), 4.89 (t), 4.78 (t), 4.55 (d), 4.43 (d), 4.23 (s), 4.08 – 3.91 (m), 3.73 (s), 3.50 (s), 3.40 (s), 3.26 (s), 2.89 (m).

[00553] Preparação de biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diilbis{[(1S)-5-amino-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-ila]metanona} **130**



[00554] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação, o cloreto de fluorenilmetiloxicarbonila (560 mg, 2,1 mmol) foi adicionado 5 mL de DCM anidro e o sistema purificado com o nitrogênio. **127** (800 mg, 2.1 mmol) foi adicionado seguido por TEA (0.3 mL, 2.1 mmol). O sistema foi deixado agitar por 5 horas. A mistura de reação bruta foi tomada em acetato de etila e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), Bicarbonato de sódio e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre Sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado até um resíduo bruto. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 100% Acetato de etila em Heptano) para dar **128** como um sólido amarelo (1.096 g, 91%). LC-MS (Protocolo B): m/z 455 $[M-Boc]^+$, tempo de retenção = 2.58 min.

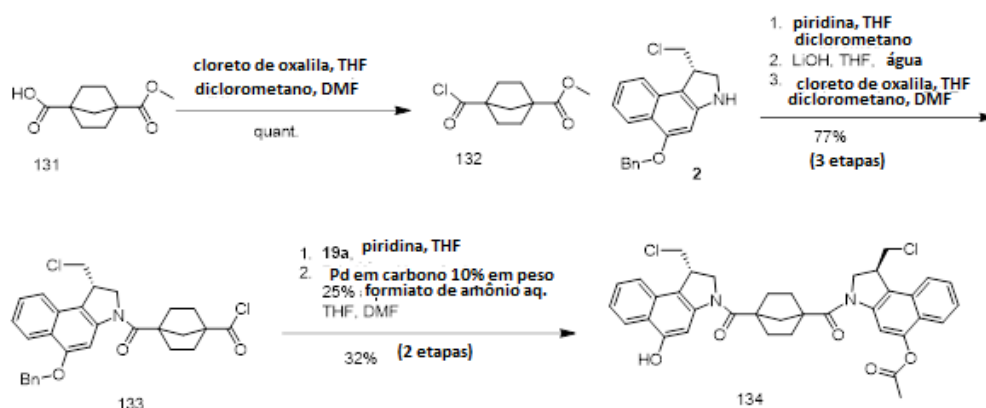
[00555] *Etapa 2:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo **128** (1000 mg, 1.96 mmol) foram adicionados 15 mL de TFA a 25% em DCM. A solução foi agitada por 30

mins. A mistura de reação foi concentrada sob vácuo e tomada em DCM a 50% e Heptano e concentrada sob vácuo. Isto foi repetido por 3 vezes (para remover o excesso de TFA) para dar um sólido branco após a concentração. Este sólido branco foi adicionado a uma solução em agitação de dicloreto de biciclo[1.1.1]pentano-1,3-dicarbonila **90** em 10 mL de DCM anidro. A reação foi agitada por 1 hora e concentrada em um vidro bruto. A mistura de reação bruta foi tomada em acetato de etila e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x), bicarbonato de sódio e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada no filtrado em um resíduo bruto. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 100% de acetato de etila em Heptano) em **129** como um sólido amarelo (250 mg, 12%). LC-MS (Protocolo B): m/z 1030.7 $[M-H]^-$, tempo de retenção = 2.29 min.

[00556] *Etapa 3:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo bis(9H-fluoren-9-ilmetil)(biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diilbis{carbonil[(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil]})biscarbamato **129** (20 mg, 0.19 mmol) foi adicionado 10 mL de 1:1 DCM em DEA. A solução foi agitada por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada sob vácuo e tomada em 50% de DCM em Heptano e concentrada sob vácuo. Isto foi repetido por 3 vezes (para remover o excesso de DEA) para dar um sólido branco após a concentração. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% Metanol em DCM) para dar **130** como um sólido amarelo (4 mg, 30%). LC-MS (Protocolo B): m/z 585.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.99 min.

[00557] Preparação de acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(4-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-ila]carbonil]biciclo[2.2.1]hept-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-

benzo[e]indol-5-ila **134**.



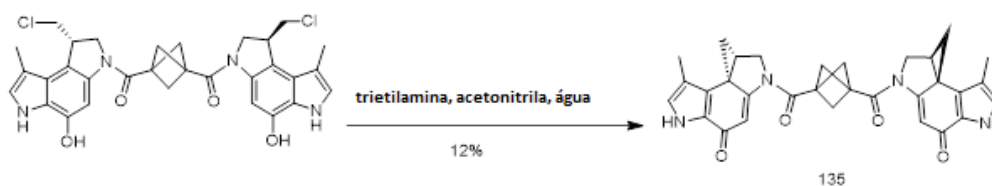
[00558] *Etapa 1:* Em seguida ao procedimento geral A usando ácido 4-(metoxicarbonil)biciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico **131** (75 mg, 0.38 mmol), cloreto de oxalila (0.032 mL, 0.378 mmol), THF (1.5 mL), diclorometano (1.5) e 1 gota de DMF, **132** foi preparado como um óleo branco e mistura sólida (85 mg, quant.). O produto bruto **132** foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

[00559] *Etapa 2:* Em seguida ao procedimento geral B usando **2** (125 mg, 0.346 mmol), **132** (75 mg, 0.35 mmol), piridina (0.112 mL, 1.38 mmol), diclorometano (2 mL) e THF (6 mL), e a purificação usando cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 25% de acetona em heptano) os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* para produzir um sólido branco. A uma solução em agitação de material bruto em 6 mL de THF, hidróxido de lítio (52.9 mg, 2.21 mmol) dissolvido em 1.5 mL de água foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~3.5 horas. A reação foi concentrada até um menor volume, transferida a um funil de separação e diluída com diclorometano. A reação foi lavada com HCl 1N. A camada aq. foi lavada uma vez com diclorometano. As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com salmoura, água, secas sobre sulfato de sódio, filtradas e depois concentradas *in vacuo* antes de

serem colocados debaixo de alto vácuo. Em seguida ao procedimento geral A usando material bruto, o cloreto de oxalila (0.024 mL, 0.281 mmol), THF (4.0 mL), diclorometano (4.0 mL) e 1 gota de DMF, **133** foi preparado como um óleo branco e mistura sólida (85 mg, quant.). O produto bruto **133** foi usado imediatamente na próxima etapa assim como ela está.

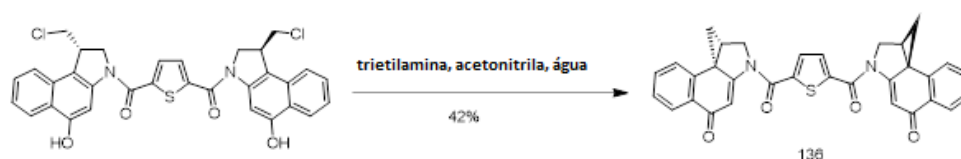
[00560] *Etapa 3:* Em seguida ao procedimento geral B usando 19a (79.9 mg, 0.256 mmol), **133** (130 mg, 0.256 mmol), piridina (0.103 mL, 1.28 mmol) e THF (6 mL) um sólido bruto rosa claro foi produzido depois de concentrar esta reação *in vacuo*. A uma solução em agitação de material bruto em 3 mL de DMF e 1 mL de THF a 0°C, Pd. em carbono 10 % em peso (100 mg) foi adicionado seguido por uma solução de formiato de amônio aq. a 25% (0.4 mL). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~90 min. A reação foi filtrada através de um plugue C18 a qual foi lavada com uma solução 70%/30% de acetonitrila e água com 0.02% de TFA em cada fase. O material foi reduzido usando um genevac produzindo **134** (54 mg, 32%, 2 etapas) como um sólido cinzento-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 657.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.10 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.32 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.11-8.07 (s, 1H), 8.02-7.96 (m, 2H), 7.91-7.86 (d, 1H), 7.83-7.78 (d, 1H), 7.63-7.57 (m, 1H), 7.52-7.45 (m, 2H), 7.36-7.30 (m, 1H), 4.54-4.38 (m, 3H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.16-4.05 (m, 2H), 4.02-3.90 (m, 2H), 3.80-3.73 (m, 1H), 2.47 (s, 3H), 2.26-2.03 (m, 10H).

[00561] Preparação de (3bR,4aS,3b'R,4a'S)-6,6'-(biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diildicarbonil)bis(3-metil-4,4a,5,6-tetra-hidro-ciclopropano[c]pirrolo[3,2-e]indol-8(1H)-ona).



[00562] A uma mistura de 109 (21 mg, 0.026 mmol) em 2 mL de acetonitrila, trietilamina (0.40 mL, 2.9 mmol) foi adicionado em seguida por 0.4 mL de água. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40 min. A reação foi concentrada *in vacuo*. A cromatografia em coluna de sílica-gel foi então realizada (Gradiente: 0% to 10% metanol in diclorometano). Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* rendendo 135 (1.6 mg, 12%) como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 521.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.28 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.47 (s, 2H), 6.85 (s, 4H), 4.29-4.22 (m, 2H), 4.17-4.10 (m, 2H), 3.19-3.09 (m, 2H), 1.97 (s, 6H), 1.93-1.87 (m, 2H), 1.27-1.22 (m, 2H).

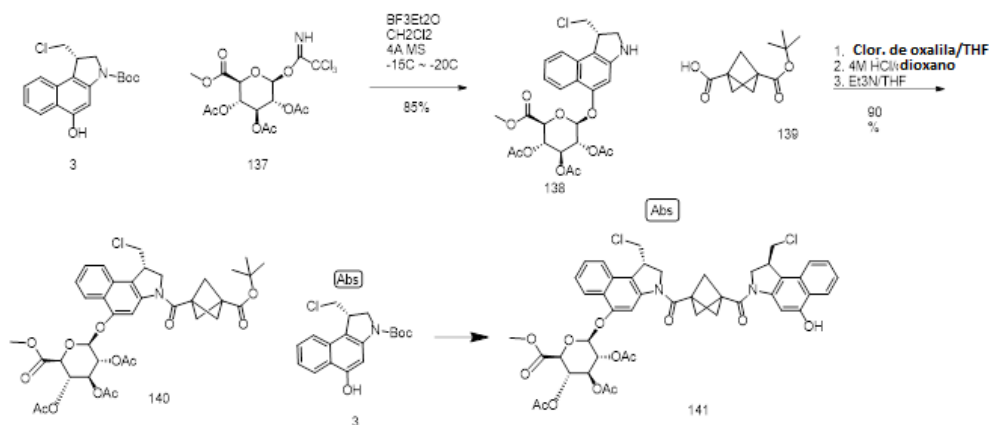
[00563] Preparação de (1aS,9bR,1a'S,9b'R)-3,3'-(tieno-2,5-diildicarbonil)bis(1,1a,2,3-tetra-hidro-5H-benzo[e]ciclopropa[c]indol-5-ona).



[00564] A uma mistura de 57 (44 mg, 0.073 mmol) em 3 mL de acetonitrila, a trietilamina (0.40 mL, 2.9 mmol) foi adicionada seguida por 0.4 mL de água. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40 min. A reação foi concentrada *in vacuo*. A cromatografia em coluna de sílica-gel foi então realizada (Gradiente: 0% a 5% de metanol em diclorometano). Os tubos de teste adequados foram combinados e concentrados *in vacuo* rendendo 136 (16.3 mg, 39%) como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 531.1 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.55 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.05-8.01 (d, 2H), 7.80 (s, 2H), 7.65-7.59 (t, 2H), 7.48-7.43 (t, 2H), 7.28-7.23 (d, 2H), 6.76 (s, 2H), 4.57-4.51 (m, 2H), 4.34-4.26 (m, 2H), 1.85-1.76 (m, 4H).

[00565] Preparação de 2,3,4-tri-O-acetil-beta-D-

glucopiranosiduronato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ilmetila **141**.



[00566] **140** (464 mg, 0.6 mmol) foi dissolvido em DCM (4 mL), TFA adicionado (2 mL) e a mistura foi vedada por 2 h. A mistura foi concentrada in vacuo para dar o ácido correspondente LC-MS (Protocolo B): 688.0 $[M+H]^+$, tempo de retenção 0.98 min. Ela foi dissolvida em THF (8 mL), resfriada até 0°C, cloreto de oxalila adicionado (0.9 mL, 2M em DCM), seguido por 2 gotas de DMF. A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois em rt por 50 min. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente.

[00567] LC-MS: 702.1 (1.05 min em Larry, o pico do éster de Me correspondente);

[00568] **4** foi dissolvido em THF (10 mL), resfriado até 0°C, adicionado o cloreto ácido acima, seguido por Et3N (0.5 mL, 4.0 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 30 min. A mistura foi diluída com EA, lavada com água e salmoura, seca sobre MgSO4. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi tratado com MeOH. O sólido resultante foi coletado por filtração para dar **141** como um sólido verde (414 mg, 73.5%). LC-MS (Protocolo B): 903.2 $[M+H]^+$, tempo de retenção 1.11 min.

Tabela 1 – Cargas adicionais			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S
142		68	759.5 [M+H] ⁺
143		68	747.4 [M+H] ⁺
144		68	689.4 [M+H] ⁺
145		141	765.1 [M+H] ⁺
146		60	659.2 [M+H] ⁺
147		60	593.2 [M+H] ⁺
148		141	893.2 [M+H] ⁺
149		68	893.2 [M+H] ⁺

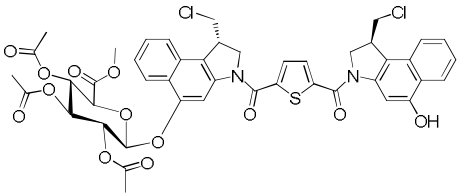
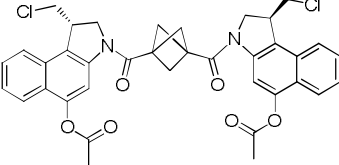
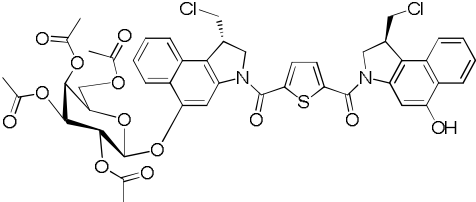
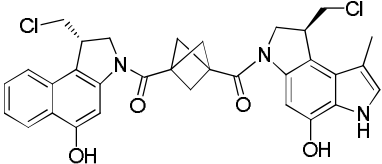
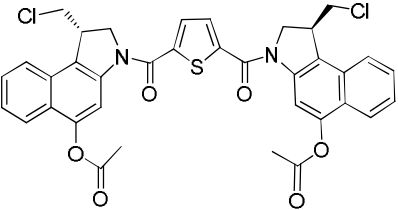
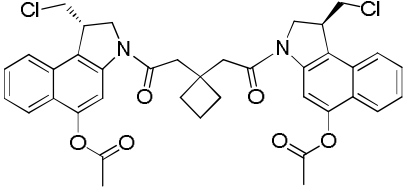
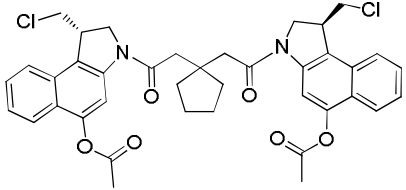
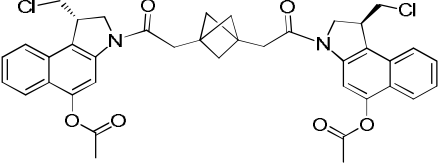
Tabela 1 – Cargas adicionais			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S
151		141	919.2 [M+H] ⁺
152		68	671.2 [M+H] ⁺
153		141	933.2 [M+H] ⁺
154		60	590.2 [M+H] ⁺
155		68	687.1 [M+H] ⁺
156		68	687.2 [M+H] ⁺
157		68	701.2 [M+H] ⁺
158		68	700.6 [M+H] ⁺

Tabela 1 – Cargas adicionais			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S
159		68	713.2 [M+H] ⁺
160		68	715.1 [M+H] ⁺
161		65	666.1 [M+H] ⁺
162		134	643.2 [M+H] ⁺
163		65	667.1 [M+H] ⁺
164		141	779.1 [M+H] ⁺
165		60	570.2 [M+H] ⁺

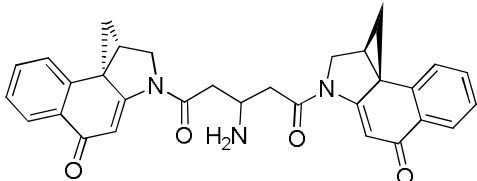
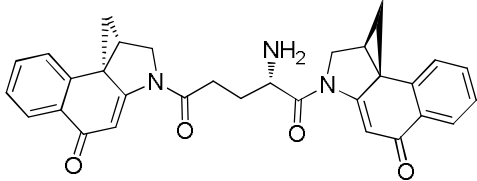
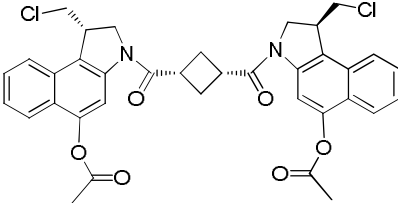
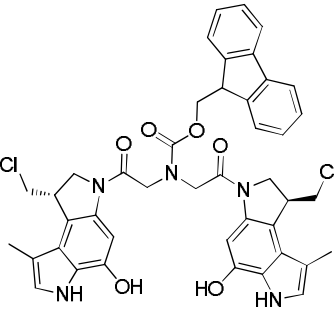
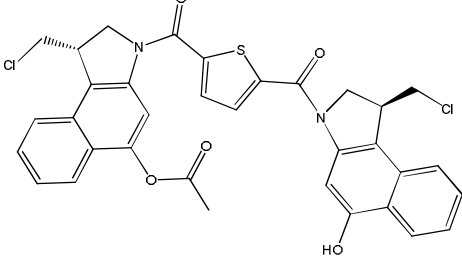
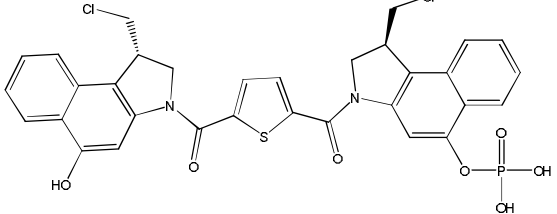
Tabela 1 – Cargas adicionais			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S
166		135	506.2 [M+H] ⁺
167		135	506.2 [M+H] ⁺
168		68	659.2 [M+H] ⁺
169		60	792.2 [M+H] ⁺
170		134	645.0 [M+H] ⁺
171		196	683.1 [M+H] ⁺

Tabela 1 – Cargas adicionais			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S
172		60	786.4 [M+H] ⁺
173		184	724.3 [M+H] ⁺
174		60	604.4 [M+H] ⁺
175		134	657.2 [M+H] ⁺
176		68	681.2 [M+H] ⁺

Tabela 1 – Cargas adicionais			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S
177		68	709.2 [M+H] ⁺
178		68	754.4 [M+H] ⁺
179		141	777.3 [M+H] ⁺
180		68	590.5 [M+H] ⁺
181		68	707.3 [M+H] ⁺

[00569] Nomes dos compostos da Tabela 1 são providos abaixo:

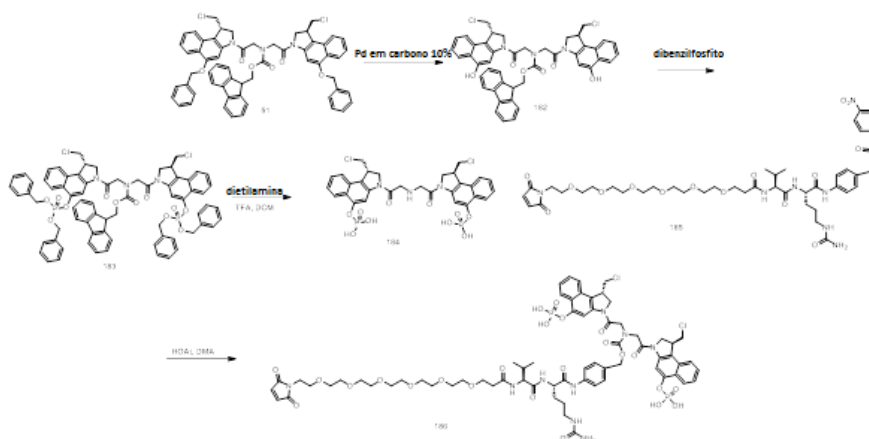
Tabela 2 - Cargas adicionais, Nomes IUPAC	
142	3,4-di-hidro-2H-tieno[3,4-b][1,4]dioxepina-6,8-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
143	(3,4-dimetoxitieno-2,5-diil)bis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
144	1,3,4-tiadiazol-2,5-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
145	((S)-1-(clorometil)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidróxi-6-(hidroximetil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)óxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il)(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofen-2-il)metanona
146	3,3'-tieno-2,5-diilbis{1-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-ila]propan-1-ona}
147	biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diilbis{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-ila]metanona}
148	Ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-((metil(2-(metilamino)etil)carbamoil)óxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)-3,4,5-trihidroxitetra-hidro-2H-piran-2-carboxílico
149	Acetato de (1S)-3-[(5-[(2-[(1S)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)-1H-indol-5-il)carbamoil]amino)-1H-indol-2-il)carbonil]-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-5-ila
150	tieno-2,5-diilbis{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-ila]metanona}
151	Triacetato de (2S,3R,4S,5S,6S)-2-(((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)-6-(metoxicarbonil)tetra-hidro-2H-piran-3,4,5-triila
152	biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
153	Triacetato de (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(acetoximetil)-6-(((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)tetra-hidro-2H-piran-3,4,5-triila

Tabela 2 - Cargas adicionais, Nomes IUPAC	
154	[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il](3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)metanona
155	tieno-2,5-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
156	ciclobutano-1,1-diilbis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
157	ciclopentano-1,1-diilbis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
158	biciclo[1.1.1]pentano-1,3-diilbis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
159	biciclo[2.2.2]octano-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
160	tieno-2,5-diilbis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
161	Di-hidrogenofosfato de (1S)-3-[(3-{[(1S)-5-amino-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
162	Acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]-2-oxoetil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
163	Di-hidrogenofosfato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il] carbonil} biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e] indol-5-ila
164	Ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)-3,4,5-triidroxitetra-hidro-2H-piran-2-carboxílico
165	2,2'-iminobis{1-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]etanona}
166	3-amino-1,5-bis[(1aS,9bR)-5-oxo-1a,2-di-hidro-1H-benzo[e]ciclopropa[c]indol-3(5H)-il]pentano-1,5-diona

Tabela 2 - Cargas adicionais, Nomes IUPAC	
167	(2S)-2-amino-1,5-bis[(1aS,9bR)-5-oxo-1a,2-di-hidro-1H-benzo[e]ciclopropa[c]indol-3(5H)-il]pentano-1,5-diona
168	cis-ciclobutano-1,3-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] diacetato
169	bis{2-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrólo[3,2-e]indol-3(2H)-il]-2-oxoetil}carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetila
170	Acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(5-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
171	Di-hidrogenofosfato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(5-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
172	bis{2-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]-2-oxoetil}carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetila
173	iminobis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diil] bis[di-hidrogeno (fosfato)]
174	(3R,5S)-piperidina-3,5-diilbis{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]metanona}
175	Acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-{[(1S,5S)-5-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[3.1.1]hept-1-il]carbonil}-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
176	diacetato de benzeno-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diila]
177	diacetato de benzeno-1,3-diilbis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diila]
178	diacetato de (5-nitrobenzeno-1,3-diil)bis[(1-oxoetano-2,1-diil)(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diila]
179	Ácido (1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)acetil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il beta-D-glucopiranosidurônico

Tabela 2 - Cargas adicionais, Nomes IUPAC	
180	[(1S)-5-amino-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il](3-[[[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrólo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)metanona
181	diacetato de pentaciclo[4.2.0.0~2,5~.0~3,8~.0~4,7~]octano-1,4-diilbis[carbonil(1S)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3,5-diila]

[00570] Preparação de bis(2((S) 1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1H-benzo[e]indol-3(2H)il)-2oxoetil)carbamato de 4-((23S,26S)-1-(2,5 dioxo- 2,5 di-hidro -1H -pirrol- 1-il)- 23- isopropil- 21,24 -dioxo-26- (3-ureidopropil) 3,6,9,12,15,18 hexaoxa-22,25-diaza-heptacosanamido)benzila (186)



[00571] *Etapa 1:* Uma solução em agitação de **51** (120 mg, 0.124 mmol) em 10 mL de tetra-hidrofurano sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (106 mg, 0.298 mmol) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 1 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 horas. A reação foi então filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado foi então concentrado em vácuo. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo **182**

(35 mg, 36%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 786 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.22 min.

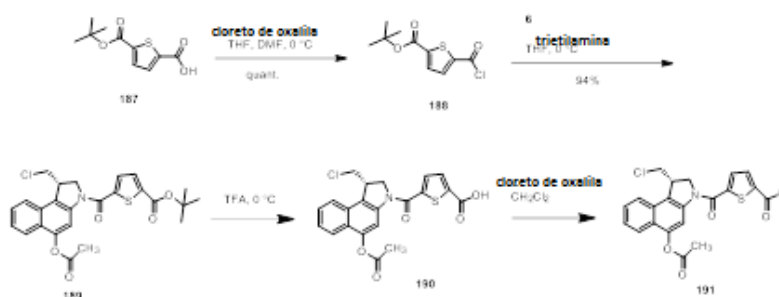
[00572] *Etapa 2:* A uma solução em agitação de **182** (274 mg, 0.348 mmol) em 10 mL de THF e 10 mL de acetonitrila, tetracloreto de carbono (2.04 mL, 21.0 mmol) e base Hunig (1.12 mL, 6.45 mmol) foram adicionados dibenzilfosfite (0.9 mL, 4.32 mmol) e DMAP (catalítico). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e a cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo **183** (239 mg, 52%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 1308 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 2.70 min.

[00573] *Etapa 3:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo **183** (200 mg, 0.153 mmol) foram adicionados 5 mL de diclorometano e 5 mL de dietilamina. A solução foi agitada por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada em vácuo e tomada em 50% de diclorometano e heptano e concentrada em vácuo novamente. Isto foi repetido por 3 vezes. O resíduo bruto foi tomado em 10 mL de ácido trifluoroacético a 25 % em diclorometano seguido por tiofenol (1 mL). A reação foi agitada em temperatura ambiente por dois dias. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e a cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (Gradiente: 0%-100% acetato de etila em heptanos) produzindo **184** (60 mg, 47%) como um sólido branco pálido. LC-MS: m/z 724 $[M+H^+]$, tempo de retenção = 1.02 min.

[00574] *Etapa 4:* A um frasco de fundo redondo contendo **184** (75 mg, 0.1 mmol) foram adicionados 10 mL de DMA e o sistema foi purificado com N_2 . A esta solução em agitação foi adicionado **185** (99 mg, 0.104 mmol) seguido por HOAt (416 mg, 0.104 mmol) e base Hunigs (1 gota). O sistema foi agitado a 45 °C por 3 horas. A mistura de rea-

ção bruta foi concentrada em vácuo e a cromatografia em fase reversa foi então realizada produzindo **186** (34 mg, 21%) como um sólido branco. LC-MS: m/z 1546 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.23 min.

[00575] Preparação de acetato de (S)-3-(5-(clorocarbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **191**



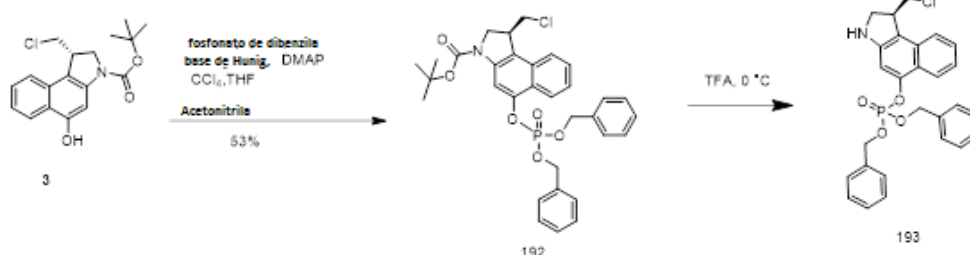
[00576] *Etapa 1:* A uma solução em agitação de ácido 5-(terc-butoxicarbonil)tiofeno-2-carboxílico (**187**) em 20 mL de THF a 0 °C, o cloreto de oxalila (0.677 mL, 7.88 mmol) foi adicionado seguido por 1 gota de DMF. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~90 min. A reação foi reduzida e colocada debaixo de alto vácuo para produzir **188** (1.67 g, quant.) como um sólido branco. O material bruto foi então usado imediatamente na próxima etapa.

[00577] *Etapa 2:* A uma mistura de solução em agitação **6** (1.54 g, 4.93 mmol) em 25 mL de THF a 0 °C, a trietilamina (1.38 mL, 9.87 mmol) foi adicionada seguida imediatamente pela adição de **188** (1.46 g, 5.92 mmol) dissolvido em 25 mL de THF. A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi então deixada agitar em temperatura ambiente por ~45 min. A reação foi reduzida sobre a sílica. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (gradiente:

0%-100% de acetona em heptanos). Os tubos de teste adequados foram concentrados e colocados debaixo de alto vácuo para produzir **189** (2.24 g, 94%) como um sólido marrom. LC-MS (Protocolo B): m/z 486.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.19 min.

[00578] *Etapa 3:* **189** (144 mg, 0.3 mmol) foi tratado com TFA pré-resfriado (3 mL) a 0°C por 30 min, depois concentrado em vácuo para dar o ácido correspondente **190**. LC-MS: m/z 430.3 $[M + H]$, tempo de retenção = 1.59 min. **190** foi dissolvido em THF (3 mL), o cloreto de oxalila (0.2 mL, 2M in CH_2Cl_2 , 0.4 mmol) foi adicionado a 0°C, seguido por 2 gotas de DMF (cat), a mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois temperatura ambiente por 2 h. Concentrada em vácuo para dar o **191** como um sólido amarelo.

[00579] Preparação de (1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)fosfato de (S)-dibenzila (**193**)

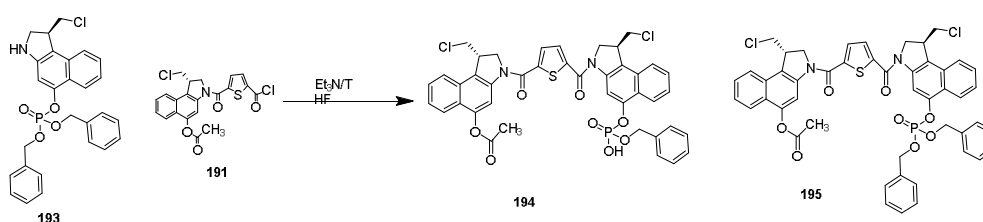


[00580] *Etapa 1:* A uma solução em agitação de **3** (889 mg, 2.66 mmol) em 20 mL de THF e 20 mL de acetonitrila, o tetracloreto de carbono (3.61 mL, 37.3 mmol) foi adicionado seguido por base Hunig (2.0 mL, 11.5 mmol), dibenzilfosfonato (3.65 mL, 16.5 mmol) e DMAP (65.1 mg, 0.533 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A reação foi concentrada até um menor volume, diluída com poucos mL de DMSO e depois injetados em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5%

a 85% acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **192** (839 mg, 53%) como uma mistura de óleo/sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 595.3 $[M+2H]^+$, tempo de retenção = 2.47 min.

[00581] *Etapa 2:* A uma solução em agitação de **192** (834 mg, 1.40 mmol) em 16 mL de diclorometano, TFA (16 mL, 210 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por 1 min e depois reduzido imediatamente antes de ser colocado debaixo de alto vácuo produzindo **193** (701 mg, quant.) como uma mistura de óleo/sólido verde. LC-MS (Protocolo B): m/z 494.2 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.17 min.

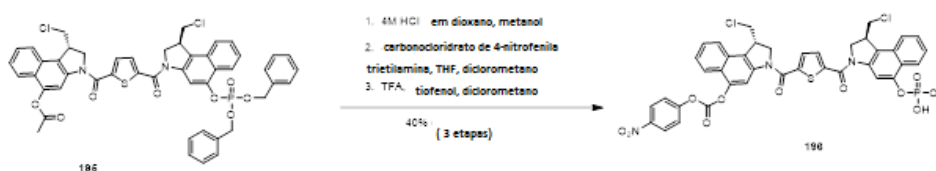
[00582] Preparação de acetato de (1S)-3-(5-((1S)-5-(((benzilóxi)(hidróxi)fosforil)óxi)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **[194]** e acetato de (S)-3-(5-((S)-5-((bis(benzilóxi)fosforil)óxi)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila **[195]**



[00583] **193** foi dissolvido em THF (3 ml) a 0°C, Et₃N (0.165 mL, 1.2 mmol) foi adicionado, seguido por uma solução de **191** em THF (2 mL). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e temperatura ambiente por 2 h. A mistura de reação foi concentrada em vácuo e o resíduo foi purificado por HPLC Gilson (ACN/água, 0.02% de TFA) para dar dois produtos **194** como um sólido amarelo (50 mg, 21%). LC-MS: m/z 815.4

[M + H], tempo de retenção = 0.96 min. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 8.42 (s), 8.16 (s), 8.07 (d), 8.02 (d), 7.94 (d), 7.90 (s), 7.64 (q), 7.54 (q), 7.10 – 7.29 (m), 5.14 (d), 4.86 (q), 4.52 (t), 4.42 (m), 4.11 – 4.00 (m) e **195** como um sólido verde (50 mg, 19%). LC-MS: m/z 905.4 [M + H], tempo de retenção = 2.43 min.

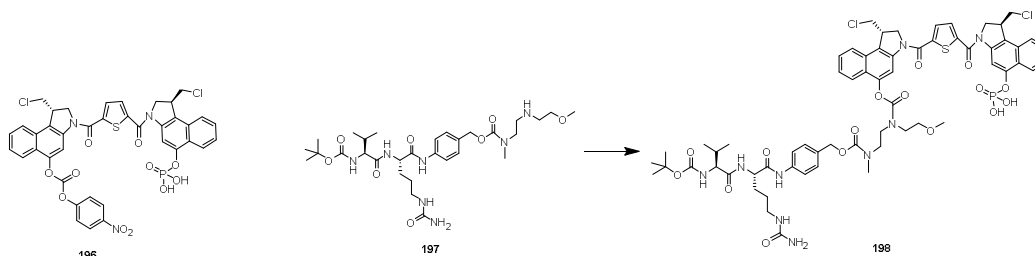
[00584] Preparação de carbonato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-dihidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil]tiofen-2-il)carbonil]-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-il 4-nitrofenila (**196**).



[00585] A uma mistura em agitação de **195** (200 mg, 0.221 mmol) em 8 mL de metanol, HCl 4M em dioxano (8.0 mL, 230 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A reação foi reduzida. O material bruto foi tomado em 8 mL de THF e 8 mL de diclorometano. A esta solução em agitação a 0°C, carbonocloridrato de 4-nitrofenila (86.3 mg, 0.428 mmol) foi adicionado seguido por trietilamina (0.179 mL, 1.28 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A reação foi reduzida e depois colocada debaixo de alto vácuo. A uma mistura em agitação de material bruto em 10 mL de diclorometano, uma solução de TFA (5 mL, 70 mmol) em 10 mL de diclorometano foi adicionada seguido por tiofenol (0.107 mL, 1.04 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~6-7 horas. A reação foi concentrada até um menor volume, diluída com poucos mL de DMSO e depois injetada em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e de-

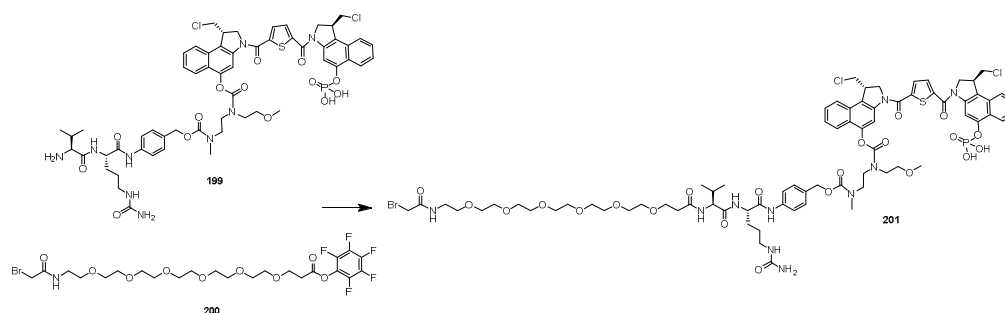
pois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 60% acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **196** (71 mg, 40%) como um sólido amarelo. LC-MS (Protocolo B): m/z 848.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.78 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.51 (br s), 8.35-8.41 (m), 8.09-8.15 (m), 8.00, 7.97-8.02 (d), 7.87-7.93 (m), 7.80-7.86 (m), 7.67-7.73 (m), 7.58-7.65 (m), 7.50-7.55 (m), 4.80-4.93 (m), 4.42-4.58 (m), 4.31-4.37 (m), 3.96-4.15 (m).

[00586] Preparação de 4-((S)-2-((S)-2-((terc-butoxicarbonil) amino)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzil (2-((((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil)(2-metoxietil)amino)etil)(metil) carbamato [**198**]



[00587] **196** (15 mg, 0.018 mmol) foi dissolvido em DMF (1 mL), adicionada uma solução de **197** (17 mg, 0.023 mmol) em DMF (1 mL), seguida por DIPEA (0.013 mL, 0.072 mmol) e lutidina (0.008 mL, 0.072 mmol), HOAt (2.6 mg). A mistura foi agitada em rt por 30 min. A reação foi completada em 30 min observados por LC-MS. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (0.02% TFA) para dar o produto **198** como um sólido amarelo claro (13 mg, 53%). LC-MS: m/z 1346.8 $[M + H]^+$, tempo de retenção = 1.77 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.39 (s), 8.15 (d), 8.01 (m), 7.89 (m), 7.63 (m), 7.53 (m), 7.45-7.23 (m), 6.73 (d), 5.98 (s), 5.07- 4.95 (m), 4.84 (t), 4.51 (m), 4.49 – 4.60 (m), 4.08 – 3.95 (m), 3.84 – 3.63 (m), 3.00 – 2.89 (m), 1.68 – 1.59 (m), 0.85 (m).

[00588] Preparação de 4-((26S,29S)-1-bromo-26-isopropil-2,24,27-trioxo-29-(3-ureidopropil)-6,9,12,15,18,21-hexaoxa-3,25,28-triazatetracontanamido)benzil(2-((((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil) tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil (2-metoxietil)amino)etil)(metil)carbamato **[201]**

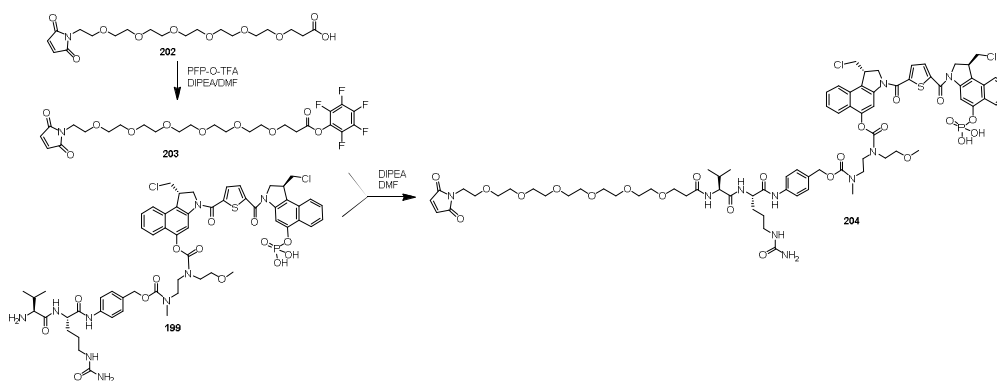


[00589] Etapa 1: **198** (13 mg, 0.01 mmol) foi tratado com TFA pré-resfriado (0°C, 2 mL) por 2 min e concentrado em vácuo para dar o produto **199** como um sólido amarelo (14 mg, sal de TFA, 100%). LC-MS: m/z 1247.9 [M + H], tempo de retenção = 1.57 min. ^1H RMN (400 MHz, DMF- d_7), δ 10.13 (s), 8.65 (d), 8.45 (s), 8.17 (d), 7.95 – 7.85 (m), 7.65 -7.22 (m), 5.04 – 4.97 (m), 4.81 (dd), 4.56 (s), 4.33 (d), 4.07 – 3.94 (m), 3.73 – 3.64 (m), 3.50 (s), 3.55 – 3.09 (m), 2.95 -2.85 (m), 2.21 (dd), 1.76 (m), 1.62 (m), 1.46 (s), 0.99 (m).

[00590] Etapa 2: **199** (5 mg, 0.004 mmol) foi adicionado a uma solução de 1-bromo-2-oxo-6,9,12,15,18,21-hexaoxa-3-azatetracosan-24-oato de perfluorofenila **200** (3.8 mg, 0.006 mmol) em DMF (0.5 mL), seguido por DIPEA (0.003 mL, 0.016 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison usando ACN/água (0.02% TFA) para dar o produto **201** como um sólido amarelo (3 mg, 40%). LC-MS: m/z 1704.0 [M + H], tempo de retenção = 1.61 min. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 9.88 (s), 8.30 (s), 8.24 (s), 8.06 (m), 7.91 (m), 7.81 (m), 7.54 (m), 7.47 (m), 7.43 – 7.13 (m), 5.91 (s), 4.98 – 4.85 (m), 4.76 (m), 4.43 (m), 4.30 (s), 4.14 (m), 4.00 – 3.90 (m), 3.52 (m), 3.16 (m), 2.92 – 2.86 (m), 2.31 –

2.25 (m), 1.90 (s), 1.52 (s), 1.34 (s), 1.32 (m), 0.78 (m).

[00591] Preparação de 4-((23S,26S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diaza-heptacosanamido) benzil(2-((((((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil)(2-metoxietil)amino)etil)(metil) carbamato **[206]**

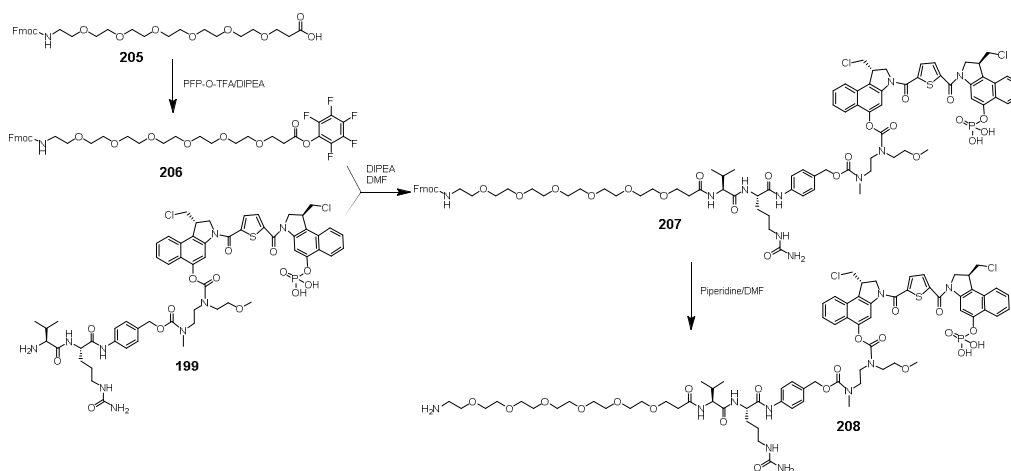


[00592] *Etapa 1:* **202** (227 mg, 0.52 mmol) foi dissolvido em CH₂Cl₂ (2 mL) e DMF (2 mL), adicionado PFP-O-TFA (0.19 mL, 1.05 mmol) e DIPEA (0.275 mL, 1.57 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. Concentrada em vácuo e o resíduo foi purificado por HPLC Gilson (0.02% TFA) para dar o PFP éster correspondente **203** como um óleo amarelo (34 mg, 11%). LC-MS: *m/z* 623.4 [M + Na], tempo de retenção = 0.92 min.

[00593] *Etapa 2:* **203** (3 mg, 0.005 mmol) foi adicionado a uma solução de **199** (7 mg, 0.005 mmol) em DMF (0.3 mL), seguido por DIPEA (0.005 mL, 0.03 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. A mistura de reação foi submetida à separação por HPLC Gilson (0.02% TFA) para dar o produto **204** como um sólido amarelo (4.6 mg, 60%). LC-MS: *m/z* 1664.1 [M + H], tempo de retenção = 1.63 min. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8.39 (s), 8.14 (m), 8.10 – 7.99 (m), 7.63 (m), 7.55 -7.5 (m), 7.48 (s), 7.02 (s), 6.52 (s), 5.99 (s), 5.07 – 4.95 (m), 4.84 (t), 4.52 (t), 4.38 (s), 4.24 (t), 4.08 – 3.99

(m), 3.61 – 3.48 (m), 3.00 – 2.89 (m), 2.68 (s), 2.34 (s), 0.86 (dd).

[00594] Preparação de
4-((23S,26S)-1-amino-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,
9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diaza-heptacosanamido) ben-
zil(2-((((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-2,3-di-
hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-
hidro-1H-benzo[e]indol-5-
il)óxi)carbonil)(2-metoxietil)amino)etil)(metil)carbamato [208]



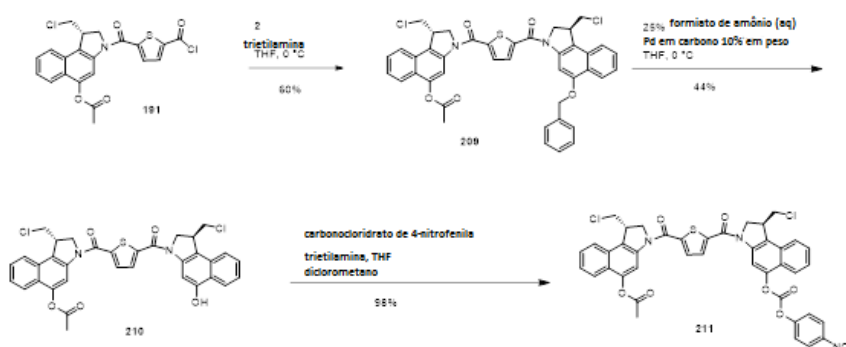
[00595] *Etapa 1:* **205** (43 mg, 0.07 mmol) foi dissolvido em DMF (2 mL), adicionado PFP-O-TFA (0.026 mL, 0.14 mmol), seguido por DIPEA (0.038 mL, 0.21 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (0.02% TFA) para dar o produto **206** como um óleo incolor (39 mg, 72%). LC-MS: m/z 742.2 [M + H], tempo de retenção = 2.17 min.

[00596] *Etapa 2:* **199** (7 mg, 0.005 mmol) foi dissolvido em DMF (0.6 mL), adicionada uma solução do PFP éster acima **206** (3.7 mg, 0.005 mmol) em DCM (0.1 mL), seguido por DIPEA (0.005 mL, 0.03 mmol). A mistura foi agitada em rt por 1 h. Produto bruto **207**: LC-MS: m/z 1805.3 [M + H], tempo de retenção = 1.97 min.

[00597] *Etapa 3:* À mistura de reação acima **207**, a piperidina (0.02 mL, 0.2 mmol) foi adicionada e a mistura foi agitada em rt por 30 min. Concentrada em vácuo e o produto bruto foi purificado pela HPLC Gli-

son (0.02% TFA) para dar o produto **208** como um sólido amarelo (4.2 mg, TFA sal, 50%). LC-MS: m/z 1584.0 [M + H], tempo de retenção = 1.54 min. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 9.98 (s), 8.38 (s), 8.14 (m), 7.98 (m), 7.88 (m), 7.70 (s), 7.62 (m), 7.54 (m), 7.47 (m), 7.27 (m), 6.01 (s), 5.06 – 5.00 (m), 4.84 (m), 4.51 (m), 4.37 (m), 4.25 (m), 4.08 (m), 4.02 (m), 3.59 (m), 3.25 (m), 2.98 (m), 2.37 (m), 1.97 (s), 1.69 (s), 1.59 9s), 1.39 (m), 0.86 (dd).

[00598] Preparação de acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-[(4-nitrofenóxi)carbonil]óxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil]tiofen-2-il]carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila (**211**).

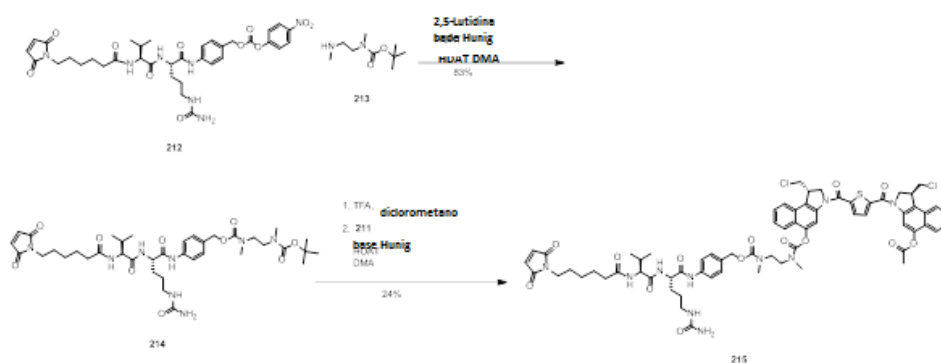


[00599] *Etapa 1:* A uma mistura em agitação de **2** (425 mg, 1.31 mmol) em 5 mL de THF sob nitrogênio a 0°C, a trietilamina (0.333 mL, 2.39 mmol) foi adicionada seguida imediatamente por **191** (535 mg, 1.19 mmol) dissolvida em 5 mL de THF. A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A reação foi então reduzida sobre a sílica. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (gradiente: 5%-80% de acetona em heptanos). Os tubos de teste adequados foram concentrados e colocados debaixo de alto vácuo para produzir **209** (530 mg, 60%) como um sólido amarelo. LC-MS (Protocolo B): m/z 735.1 [M+H] $^+$, tempo de retenção = 2.48 min.

[00600] *Etapa 6:* Uma solução em agitação de **209** (610 mg, 0.829 mmol) em 15 mL de THF sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (203 mg) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 2 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 12-24 horas. A reação foi diluída com éter seguida pela adição de sulfato de sódio. A reação foi filtrada através de celite e o celite foi lavado duas vezes com éter. Os produtos orgânicos foram combinados e depois reduzidos. O resíduo foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 80% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **210** (206 mg, 44%) como um sólido amarelo. LC-MS (Protocolo B): m/z 645.0 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.08 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO) δ 10.49 (br s), 8.13-8.18 (d), 8.05-8.10 (d), 7.93-7.97 (d), 7.83-7.91 (m), 7.63-7.69 (t), 7.53-7.58 (m), 7.38-7.43 (m), 4.83-4.92 (m), 4.74-4.82 (m), 4.50-4.55 (d), 4.39-4.47 (m), 4.20-4.27 (m), 4.01-4.15, 3.88-3.96 (m), 3.57-3.68 (m), 1.74-1.80, 1.36-1.39 (m).

[00601] *Etapa 7:* A uma solução em agitação de **210** (195 mg, 0.302 mmol) em 12 mL de diclorometano e 8 mL de THF a 0°C, o carbonocloridrato de 4-nitrofenila (122 mg, 0.604 mmol) foi adicionado seguido por trietilamina (0.168 mL, 1.21 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por 5 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A reação foi reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 85% acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **211** (240 mg, 98%) como um sólido amarelo. LC-MS (Protocolo B): m/z 810.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.35 min.

[00602] Preparação de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-({[2-({[(1S)-3-[(5-[(1S)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il]carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óóxi}carbonil)(metil)amino]etil)(metil)carbamoil]óóxi}metil)fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida (**215**)

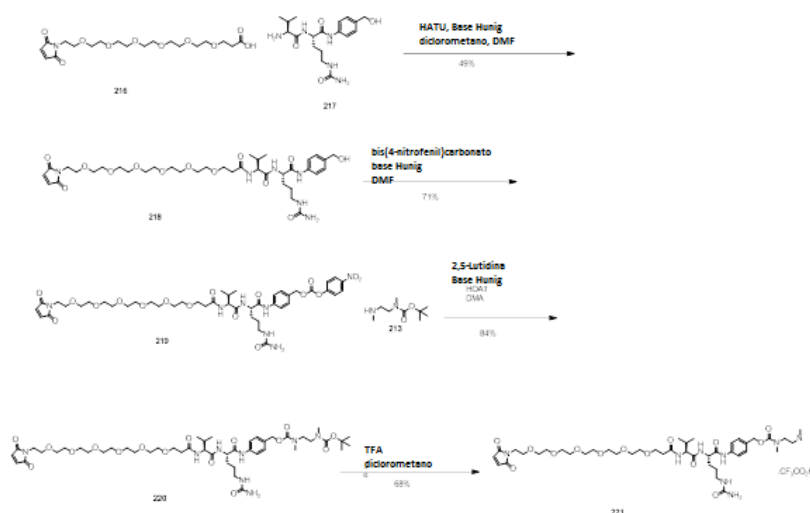


[00603] *Etapa 1:* A uma solução em agitação de **212** (750 mg, 1.02 mmol) e **213** metil[2-(metilamino)etil]carbamato de terc-butila (192 mg, 1.02 mmol) em 6 mL de DMA, 2,6-Lutidina (0.236 mL, 2.03 mmol) foi adicionada seguida por base Hunig (0.354 mL, 2.03 mmol) e HOAT (69.1 mg, 0.5 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40 min. A reação foi injetada em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase) e depois purificada por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 45% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **214** (663 mg, 83%) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 787.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.45 min.

[00604] *Etapa 2:* A uma mistura em agitação de **214** (40.9 mg, 0.052 mmol) em 2 mL de diclorometano, TFA (1 mL, 10 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40

min. A reação foi reduzida e depois colocada debaixo de alto vácuo. O material bruto foi tomado em 2 mL de DMA e a esta solução em agitação a base Hunig (0.03 mL, 0.17 mmol) foi adicionada seguida por 2,6-Lutidina (0.02 mL, 0.17 mmol), HOAT (5.9 mg, 0.043 mmol) e depois **211** (35 mg, 0.043 mmol) dissolvido em 1 mL de DMA. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40 min. A reação foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase) e depois purificada por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 60% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **215** (14.1 mg, 24%) como um sólido amarelo. LC-MS (Protocolo B): m/z 1359.3 $[M+3H]^+$, tempo de retenção = 2.01 min. HR-MS: m/z 1359.4549 $[M+3H]^+$.

[00605] Preparação de N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-{4-[(metil[2-(metilamino)etil]carbamoil}óxi metil]fenil}-L-ornitinamida (**215**).



[00606] *Etapa 1:* A um frasco de fundo redondo contendo ácido 1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-

il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-oico, **216** (628 mg, 1.45 mmol), 20 mL de diclorometano, 2 mL de DMF, HATU (501 mg, 1.32 mmol) e base Hunig (0.92 mL, 5.3 mmol) foram adicionados. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por 2 min antes da adição de L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(hidroximetil)fenil]-L-ornitinamida, **217** (500 mg, 1.32 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~90 min antes de ser temperada através da adição de TFA. A reação foi concentrada até um menor volume, diluída com poucos mLs de DMSO e depois injetada em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 40% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **218** (514 mg, 49%) como um sólido claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 795.5 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.01 min.

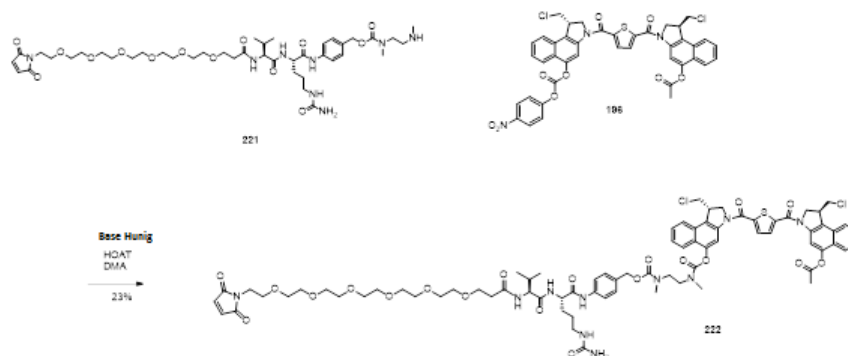
[00607] *Etapa 2:* A uma solução em agitação de **218** (210 mg, 0.264 mmol) e bis(4-nitrofenil)carbonato (161 mg, 0.528 mmol) em 4 mL de DMF, base Hunig (0.096 mL, 0.554 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~2 horas. A reação foi injetada em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 55% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **219** (180 mg, 71%) como um sólido. LC-MS (Protocolo B): m/z 960.5 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.48 min.

[00608] *Etapa 3:* A uma solução em agitação de **219** (640 mg, 0.667 mmol) e **213** [preparada conforme descrito em *J. Med. Chem.* 1992, 33, 559-567] (127 mg, 0.674 mmol) em 6 mL de DMA, 2,6-Lutidina

(0.154 mL, 1.33 mmol) foi adicionada seguida pela base Hunig (0.232 mL, 1.33 mmol) e HOAT (9.1 mg, 0.67 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~15 min. A reação foi injetada em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 40% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **220** (564 mg, 84%) como uma cera como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 1009.7 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.43 min.

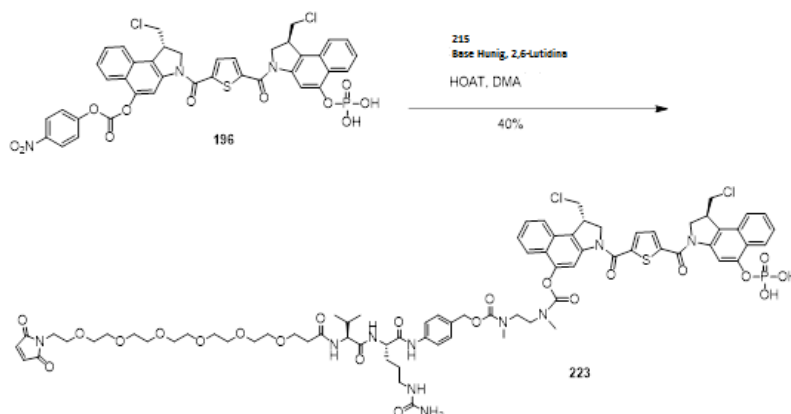
[00609] *Etapa 4:* A uma mistura em agitação de **220** (470 mg, 0.466 mmol) em 6 mL de diclorometano, TFA (3.0 mL, 40 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação foi reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 30% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **221** (326 mg, 68%) como uma mistura de óleo/sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 909.8 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 0.91 min.

[00610] Preparação de N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N-[4-({[2-({[(1S)-3-[(5-[(1S)-5-(acetilóxi)-1-(clorometil)-1,2-dihidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi}carbonil)(metil)amino]etil}{metil}carbamoil]óxi}metil)fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida (**222**).



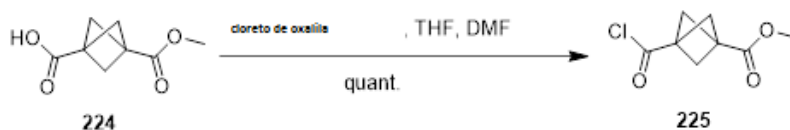
[00611] A uma mistura em agitação de **221** (50.1 mg, 0.05 mmol) em 1 mL de DMA e a esta solução em agitação, a base Hunig (0.03 mL, 0.172 mmol) foi adicionada seguida por 2,6-Lutidina (0.02 mL, 0.172 mmol), HOAT (5.9 mg, 0.043 mmol) e **211** (35 mg, 0.043 mmol) dissolvido em 1 mL de DMA. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40 min. A reação foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 60% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **222** (15.4 mg, 23%) como um sólido amarelo/branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 1580.4 $[M+2H]^+$, tempo de retenção = 1.95 min. HRMS: m/z 790.7923 $[M+2H]^+$.

[00612] Preparação de N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-({[(2-{{[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-{{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óóxi)metil)fenil]-L-ornitina (223)



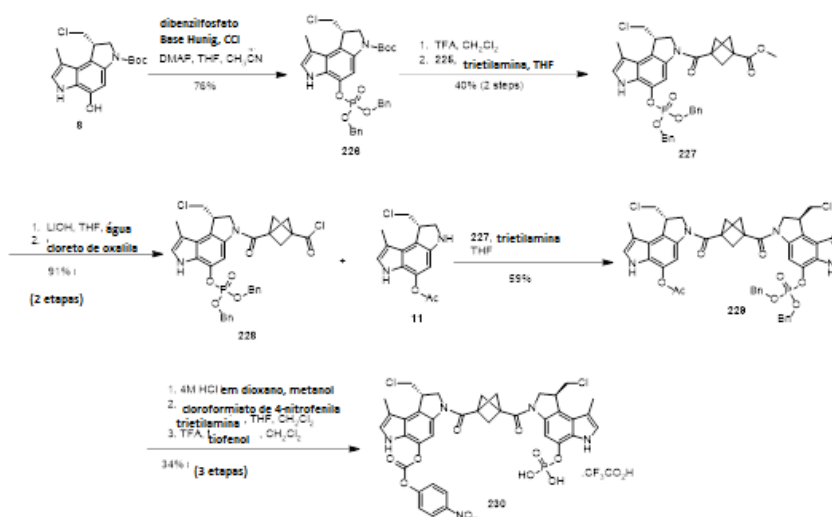
[00613] *Etapa 1:* A uma solução em agitação de **196** (29.8 mg, 0.035 mmol) em 0.5 mL de DMA, **221** (17.3 mg, 0.019 mmol) foi adicionado como uma solução em 1.5 mL de DMA seguida pela adição de base Hunig (0.024 mL, 0.14 mmol), 2,6-Lutidina (0.016 mL, 0.14 mmol) e HOAT (4.8 mg, 0.035 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A reação foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 75% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguido por purificação em HPLC preparativa (método B) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **222** (22.6 mg, 40%) como um sólido amarelo. LC-MS (Protocolo B): m/z 1619.9 $[M+3H]^+$, tempo de retenção = 1.62 min. HPLC (Protocolo D): tempo de retenção = 9.339 min.

[00614] *Preparação* de 3-(clorocarbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carboxilato de metila (**225**).



[00615] A uma solução em agitação de **224** em 12 mL de THF a 0°C, cloreto de oxalila (0.381 mL, 4.44 mmol) foi adicionado seguido por 1 gota de DMF. A reação foi deixada agitar a 0°C por ~1 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A reação foi reduzida e depois colocada sob alto vácuo produzindo **225** (701 mg, quantitativo) como um sólido branco.

[00616] Preparação de sal de carbonato de ácido (8S)-8-(clorometil)-6-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il 4-nitrofenil trifluoroacético **230**.



[00617] *Etapa 1:* A uma solução em agitação de **8** (4.5 g, 13.4 mmol) in 80 mL of THF and 80 mL of acetonitrila, tetracloreto de carbono (18.1 mL, 187 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (9.31 mL, 53.4 mmol), dibenzilfosfito (17.7 mL, 80.2 mmol) e DMAP (326 mg, 2.67 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação foi reduzida sobre a sílica. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (gradiente: 0%-20% de acetona em heptanos). Os tubos de teste adequados foram concentrados

e colocados debaixo de alto vácuo para produzir **226** (6.04 g, 76%) como um sólido amarelo claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 614.3 $[M+NH_4]^+$, tempo de retenção = 2.38 min.

[00618] *Etapa 2:* A uma solução em agitação de **226** (2.15 g, 3.60 mmol) em 24 mL de diclorometano, TFA (24 mL, 310 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~60 segundos, imediatamente reduzida e depois colocada debaixo do vácuo (bomba de cinto). A uma solução em agitação de material bruto (2.59 g, 3.57 mmol) em 15 mL de THF a 0°C, trietilamina (1.49 mL, 10.7 mmol) foi adicionado seguido imediatamente por **225** (674 mg, 3.57 mmol) dissolvida em 15 mL de THF foi adicionado. A reação foi deixada agitar a 0°C por ~5 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A reação foi reduzida sobre a sílica. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (gradiente: 0%-30% de acetona em heptanos). Os tubos de teste adequados foram concentrados e colocados debaixo de alto vácuo para produzir **227** (920 mg, 40%, 2 etapas) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 649.2 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.04 min.

[00619] *Etapa 3:* A uma solução em agitação de **227** (895 mg, 1.38 mmol) em 16 mL de THF, hidróxido de lítio (330 mg, 13.8 mmol) dissolvido em 4 mL de água foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~90 min. O diclorometano foi adicionado seguido por HCl 1N aquoso. O material foi transferido a um funil de separação. A camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi lavada duas vezes com diclorometano. As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas uma vez com salmoura, água, secas sobre sulfato de sódio, filtradas, e depois reduzidas antes de serem colocadas debaixo de alto vácuo. O material bruto foi tomado em 15 mL de THF e 5 mL de diclorometano depois resfriado até 0°C. A esta solução em

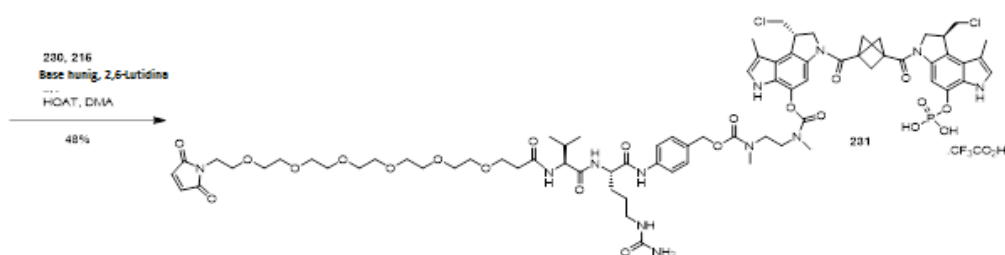
agitação a 0°C, o cloreto de oxalila (0.140 mL, 1.63 mmol) foi adicionado seguido por 1 gota de DMF. A reação foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e depois agitar em temperatura ambiente por ~60 min. A reação foi reduzida e depois colocada debaixo de alto vácuo **228** (820 mg, 91%, 2 etapas) como um sólido marrom-claro. O material bruto foi usado como está na próxima etapa.

[00620] *Etapa 4:* A uma solução em agitação de **11** (527 mg, 1.50 mmol) em 12 mL de THF a 0°C, a trietilamina (0.348 mL, 2.50 mmol) foi adicionada seguido imediatamente por **228** (816 mg, 1.25 mmol) dissolvido em 12 mL de THF. A reação foi deixada agitar a 0°C por ~5 min antes de ser deixado aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A reação foi reduzida sobre a sílica. A cromatografia em coluna de sílica foi então realizada (gradiente: 0%-45% de acetona em heptanos). Os tubos de teste adequados foram concentrados e colocados debaixo de alto vácuo para produzir **229** (660 mg, 59%) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 895.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.21 min.

[00621] *Etapa 5:* A uma solução em agitação de **229** (652 mg, 0.728 mmol) em 20 mL de metanol, HCl 4M em dioxano (20 mL, 80 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~24 min. A reação foi reduzida e depois colocada debaixo de alto vácuo. A uma solução em agitação de material bruto em 16 mL de diclorometano e 16 mL de THF a 0°C, o cloroformiato de p-nitrofenila (191 mg, 0.946 mmol) foi adicionado seguido imediatamente por trietilamina (0.508 mL, 3.64 mmol). A reação foi deixada agitar a 0°C por ~5 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente enquanto em agitação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação foi reduzida. A uma solução em agitação de material bruto em 12 mL de diclorometano, uma solução de TFA (12 mL, 160

mmol) em 12 mL de diclorometano foi adicionada seguida pela adição de tiofenol (0.745 mL, 7.28 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~6 horas. A reação foi reduzida. O material bruto foi diluído com poucos mililitros de DMSO e depois injetado em uma pré-coluna C18 de 25g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 15% a 60% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **230** (267 mg, 34%, 3 etapas) como um sólido amarelo claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 838.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.68 min.

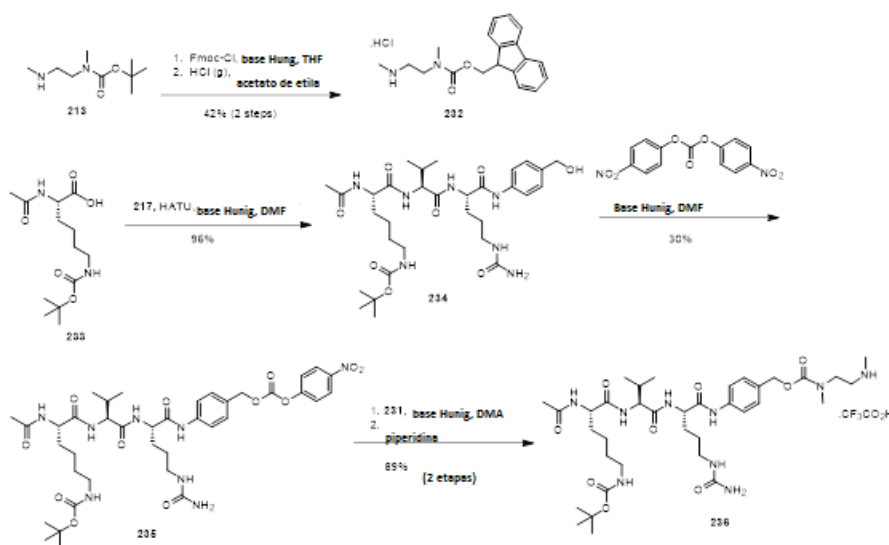
[00622] Preparação de sal de ácido N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-({[(2-{{[(8S)-8-(clorometil)-6-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-metil-3,6,7,8-tetrahidropirrolo[3,2-e]indol-4-il}óxi)carbonil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi)metil)fenil]-L-ornitin amida trifluoroacético (**231**).



[00623] *Etapas 1:* A um frasco de 2 dram contendo **230** (90 mg, 0.11 mmol) e **215** (121 mg, 0.118 mmol), 3.0 mL de DMA foram adicionados seguido pela base Hunig (0.0748 mL, 0.429 mmol), 2,6-Lutidina (0.0497 mL, 0.429 mmol) e HOAT (14.7 mg, 0.108 mmol). A reação foi

deixada agitar em temperatura ambiente por ~15 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 45% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguido por uma segunda purificação através do método H com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **231** (117 mg, 60%) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 1607.8 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.60 min.

[00624] Preparação de sal de ácido N~2~-acetil-N~6~-(terc-butoxicarbonil)-L-lisil-L-valil-N~5~-carbamoil-N-{4-[(metil[2-(metilamino)etil]carbamoil]óxi)metil]fenil}-L-ornitinamida trifluoroacético (**236**).



[00625] *Etapa 1:* A uma solução em agitação do composto **213** (16.0 g, 85.0 mmol) e base Hunig (23 g, 178 mmol) em 450 mL de THF a 0°C, Fmoc-Cl (22 g, 85.0 mmol) foi adicionado em gotas como uma solução em 450 mL de THF. A mistura foi agitada a 0°C por 10 min. A

reação foi deixada agitar em temperatura ambiente de um dia para o outro. A reação foi diluída com acetato de etila e depois lavada com NH_4Cl (aq) e salmoura. A camada orgânica foi separada, seca sobre Na_2SO_4 e reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (gradiente: 2.5%-50% de acetato de etila em éter de petróleo). Os tubos de teste adequados foram concentrados. O material foi dissolvido em 150 mL de acetato de etila seguido pela adição de 150 mL de HCl em acetato de etila. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente de um dia para o outro. A reação foi concentrada e 300 mL de MTBE foram adicionados. O precipitado resultante foi coletado por filtração para prover **232** (10.4 g, 42%, 2 etapas) como um sólido branco. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ 8.89 (br, 2H), 7.91 (d, 2H), 7.66 (d, 2H) 7.42 (m, 2H), 7.36 (m, 2H), 4.34 (m, 3H), 3.51 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.85 (s, 3H), 2.72 (m, 1H), 2.32 (m, 1H).

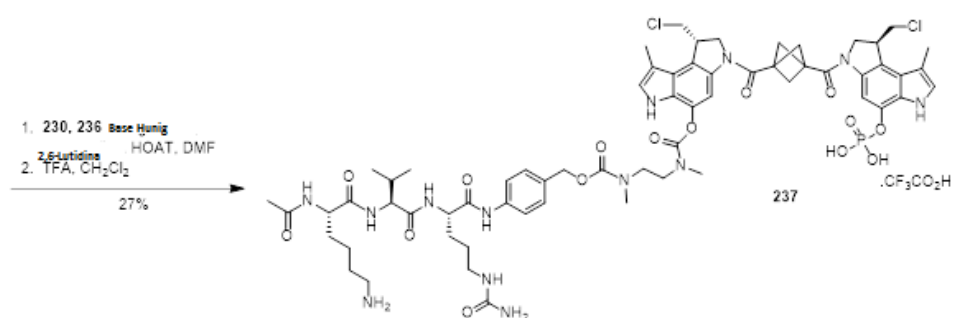
[00626] *Etapas 2:* A uma solução de **217** (481 mg, 1.27 mmol) em 10 mL de DMF, **233** (366 mg, 1.27 mmol), HATU (660 mg, 1.65 mmol) e base Hunig (0.302 mL, 1.6 mmol) foram adicionados. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A reação foi diluída com acetato de etila que fez com que os sólidos quebrassem. Esta pasta fluida foi deixada agitar por ~30 min. Os sólidos foram coletados por filtração, lavados com acetato de etila fresco e secos sob alto vácuo para obter **234** (797 mg, 97%) como um sólido colorido marrom. LC-MS (Protocolo B): m/z 650.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tempo de retenção = 0.64 min.

[00627] *Etapas 3:* A uma solução de composto **234** (18.5 g, 28.5 mmol) em DMF (500 mL), bis(4-nitrofenil) carbonato (9.54 g, 31.4 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (5.5 g, 42.8 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~12 horas. A reação foi concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (gradiente: 1%-10% de metanol em diclorometano

para prover **235** (6.9 g, 29.7%) como um sólido branco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), δ 8.30 (d, 2H), 8.12 (d, 1H), 8.01 (d, 1H), 7.70 (d, 1H), 7.64 (d, 2H), 7.56 (d, 2H), 7.40 (d, 2H), 6.78 (m, 1H), 5.98 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.24 (s, 2H), 4.49 (m, 1H), 4.19 (m, 2H), 2.86 (m, 4H), 1.99 (m, 1H), 1.60 (m, 3H), 1.36 (m, 16H), 0.82 (m, 6H).

[00628] *Etapas 4:* A uma solução em agitação de **235** (500 mg, 0.605 mmol) e **232** (210 mg, 0.605 mmol) em 3.0 mL de DMA, base Hunig (0.316 mL, 1.82 mmol) foi adicionada. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A Piperidina (0.598 mL, 6.05 mmol) foi então adicionada à reação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~15 min adicionais. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 35% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase). Os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **236** (475 mg, 89%, 2 etapas) como um sólido branco claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 764.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tempo de retenção = 1.03 min.

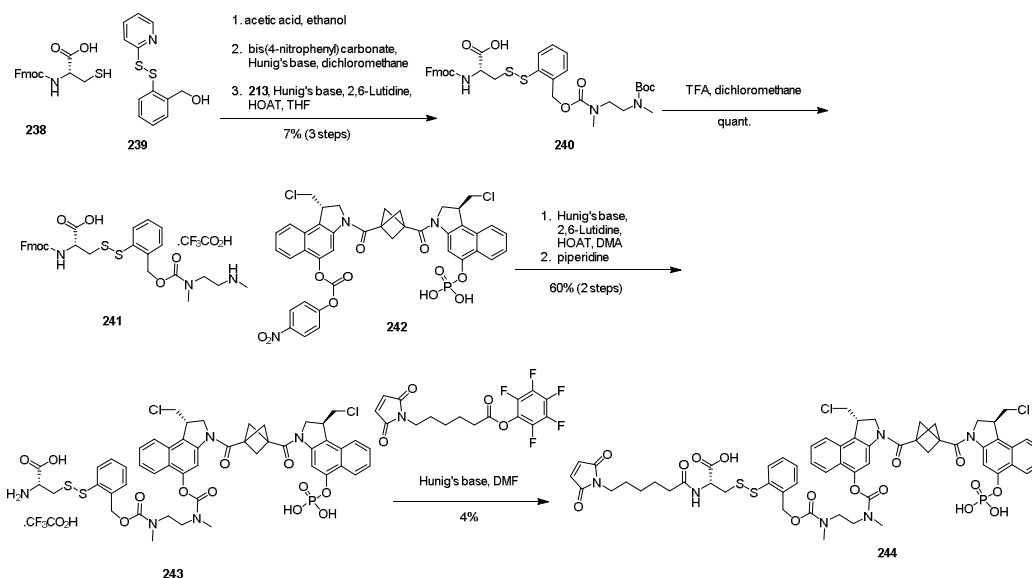
[00629] Preparação de sal de ácido N~2~-acetil-L-lisil-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-({(2-({(8S)-8-(clorometil)-6-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-dihidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il)óxi)carbonil}(metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitin amida trifluoroacético (**237**).



[00630] A um frasco de 2 dram contendo **230** (100 mg, 0.119 mmol) e **236** (115 mg, 0.131 mmol), DMF (2.0 mL) foi adicionado seguido pela base Hunig (0.0831 mL, 0.477 mmol), 2,6-Lutidina (0.0552 mL, 0.477 mmol) e HOAT (16.2 mg, 0.119 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação foi reduzida. Diclorometano (2 mL) foi adicionado à amostra bruta. A esta mistura em agitação, TFA (1.0 mL, 13 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~30 min. A reação foi reduzida. O material bruto foi dissolvido em DMSO e injetado em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 50% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguida por uma segunda purificação pelo método G com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **237** (55.8 mg, 27%) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 1362.8 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.44 min. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10.96-10.83 (m), 10.06-9.97 (m), 8.16-7.97 (m), 7.87-7.66 (m), 7.59-7.47 (m), 7.37-6.97 (m), 6.54 (s), 6.05 (s), 5.47 (s), 5.12-4.96 (m), 4.45-3.91 (m), 3.74-2.83 (m), 2.76-2.68 (m), 2.59-2.52 (m), 2.39-2.32 (m), 2.02-1.93 (m), 1.83 (s), 1.71-1.21 (m), 0.88-0.77 (m).

[00631] Preparação de 3-{[2-{[(2-{[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-

il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il}óxi) carbo-
nil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óóxi}metil)fenil]disulfanil}-N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-alanina (**244**)



[00632] *Etapa 1:* A uma mistura em agitação de N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-cisteína **238** (17.9 g, 52.1 mmol) em etanol seco (360 mL) a 0°C, o ácido acético (2.41 g, 40.1 mmol) foi adicionado. Depois, uma solução de [2-(piridin-2-ildisulfanil)fenil]metanol **239** (10 g, 40.104 mmol) em etanol seco (200 mL) foi adicionado a uma mistura de reação a 0°C. A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 20 min. A mistura de reação foi concentrada *in vacuo* produzindo um óleo amarelo. O resíduo foi purificado por HPLC preparativa (método M) produzindo uma goma amarela (3.5 g). A uma solução em agitação deste material bruto (2.5 g, 5.191 mmol) em diclorometano seco (100 mL) a 0°C, o bis(4-nitrofenil) carbonato (1.9 g, 6.23 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (805 mg, 6.23 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por ½ hora e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~23 horas. A mistura de reação foi aquecida até 30°C e deixada agitar em 30°C por ~18 horas. A reação foi aquecida até 40°C e deixada agitar em 40°C por ~6 horas. A mistura de reação foi lavada com HCl 1M (20

mL x 2), salmoura, seca sobre sulfato de sódio e concentrada *in vacuo* para dar o resíduo (3.89 g) como um óleo amarelo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 4% de metanol em diclorometano) para produzir um sólido amarelo (2.48 g). A uma solução em agitação deste material bruto em THF (35 mL) a 0°C, **213** (635 mg, 3.37 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (793 mg, 6.14 mmol), 2,6-lutidina (657 mg, 6.14 mmol) e HOAT (41.8 mg, 0.307 mmol). A mistura de reação foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e depois agitar em temperatura ambiente por 40 min. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (200 mL), lavada com HCl 1M (30 mL, x2) e salmoura. Os orgânicos foram secos sobre sulfato de sódio e concentrados *in vacuo* para dar o produto bruto (3.6 g) como um óleo amarelo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 4% de metanol em diclorometano) para dar o produto (2.35 g) como uma goma amarela. O produto foi então purificado por HPLC preparativa usando (método M, usando gradiente 50% B a 80% B ao longo de 30 min, depois 95% ao longo de 5 min). A mistura foi concentrada em vácuo e extraída com acetato de etila (100 mL, x3). As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com salmoura, secas sobre sódio e concentradas *in vacuo* para dar **240** (1.45 g, 7%, 3 etapas) como uma goma amarela. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.91-7.89 (m, 3H), 7.74-7.72 (m, 3H), 7.44-7.31 (m, 7H), 5.14 (s, 2H), 4.34-4.24 (m, 4H), 3.31-3.29 (m, 3H), 3.10-3.09 (m, 1H), 3.04-3.02 (m, 1H), 2.86-2.82 (d, 3H), 2.75-2.73 (m, 2H), 2.67-2.50 (m, 2H), 1.38-1.31 (m, 9H).

[00633] *Etapa 2:* A uma solução em agitação de **240** (35 mg, 0.050 mmol) em 4 mL de diclorometano, TFA (2 mL, 30 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação foi concentrada *in vacuo* e colocada debaixo de alto vácuo para produzir **241** como um sólido branco (40 mg, quant.). LC-MS (Protoco-

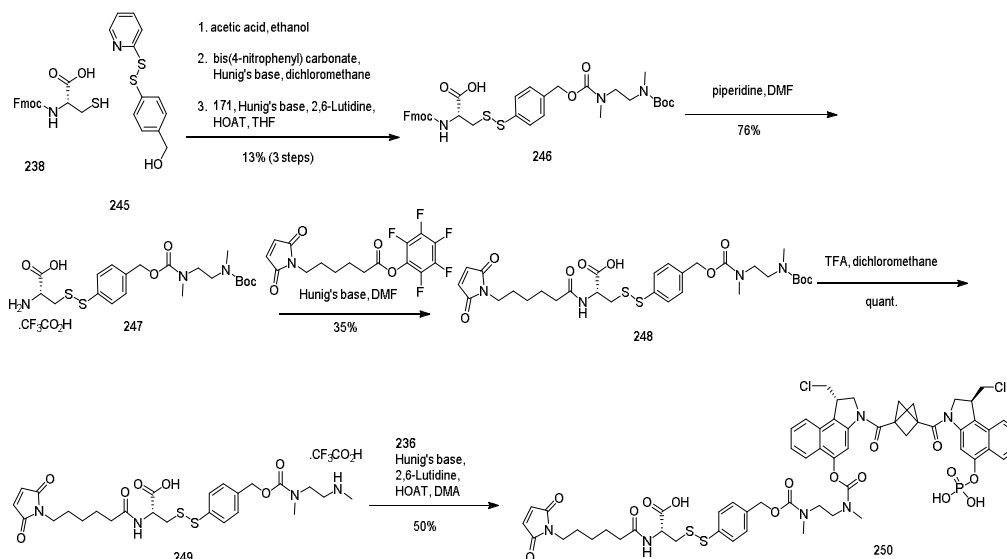
lo B): m/z 596.5 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.38 min.

[00634] *Etapa 3:* A um frasco contendo **241** (29.8 mg, 0.042 mmol) e **242** o carbonato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il 4-nitrofenila [preparado utilizando a química descrita na preparação de **229**], (35.0 mg, 0.042 mmol), 2.0 mL de DMA foram adicionados seguido imediatamente por base Hunig (0.0293 mL, 0.168 mmol), 2,6-Lutidina (0.0195 mL, 0.168 mmol) e HOAT (5.72 mg, 0.042 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A piperidina (0.30 mL, 3 mmol) foi então adicionada à reação e a reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 65% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **243** (30 mg, 60%) como um sólido cinzento. LC-MS (Protocolo B): m/z 838.3 $[M+2H]^+$, tempo de retenção = 1.55 min.

[00635] *Etapa 4:* A uma solução em agitação de **243** (20 mg, 0.017 mmol) 6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de pentafluorofenila (7.03 mg, 0.0186 mmol) em 1.5 mL de DMF, a base Hunig (0.0118 mL, 0.0677 mmol) foi adicionada. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~15 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 20% a 70% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguido por purificação em HPLC preparativa (mé-

todo l1) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **244** (0.8 mg, 4%) como um sólido cinzento. LC-MS (Protocolo D): m/z 630.8 $[1/2 M+1H]^+$, tempo de retenção = 10.786 min.

[00636] Preparação de 3-{[4-({[(2-{[({(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il}óxi) carbo-
nil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi)metil)fenil]disulfanil)-N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-alanina **250**



[00637] *Etapa 1:* A uma mistura em agitação de N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-cisteína **238** (11.6 g, 33.7 mmol) em etanol seco (230 mL) a 0°C, o ácido acético (1.93 g, 32.1 mmol) foi adicionado. Depois, uma solução de [4-(piridin-2-ildisulfanil)fenil]metanol **245** (10 g, 40.104 mmol) em etanol seco (160 mL) foi adicionado a uma mistura de reação a 0°C. A mistura foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e depois agitada em temperatura ambiente por 4 horas. A mistura de reação foi concentrada *in vacuo* produzindo um óleo amarelo. O resíduo foi purificado por HPLC prep (método M, usando gradiente 45% B a 75% B ao longo de 30 min, depois 95% ao longo de 5 min) produzindo uma goma amarela (8.5 g). A uma solução em agitação

deste material bruto (8.0 g, 16.61 mmol) em diclorometano seco (320 mL) a 0°C, o bis(4-nitrofenil) carbonato (6.06 g, 19.9 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (2.58 g, 19.9 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 10 min e depois deixada aquecer até a temperatura ambiente. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~15 horas. O bis(4-nitrofenil) carbonato adicional (1.52 g, 4.98 mmol) e base Hunig (644 mg, 4.98 mmol, 0.3 eq) foram então adicionados à mistura de reação. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por 2 horas adicionais. A mistura de reação foi lavada com HCl 1M (50 mL x 2), salmoura, seca sobre sulfato de sódio e concentrada *in vacuo* para dar o resíduo (17.1 g) como um óleo amarelo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 7% de metanol em diclorometano) para produzir um óleo amarelo. A uma solução em agitação deste material bruto em THF (103 mL) a 0°C, 171 (1.89 g, 10.0 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (2.36 g, 18.2 mmol), 2,6-lutidina (1.96 g, 18.2 mmol) e HOAT (124 mg, 0.912 mmol). A mistura de reação foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e depois agitar em temperatura ambiente por 60 min. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (200 mL), lavada com HCl 1M (30 mL, x2) e salmoura. Os orgânicos foram secos sobre sulfato de sódio e concentrados *in vacuo* para dar o produto bruto (7.5 g) como um óleo amarelo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 4% de metanol em diclorometano) para dar o produto (4.0 g) como uma goma amarela. O produto foi então purificado por (método M, usando gradiente 50% B a 80% B ao longo de 30 min, depois 95% ao longo de 5 min). A mistura foi concentrada *in vacuo* e extraída com acetato de etila (100 mL, x3). As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com salmoura, secas sobre sódio e concentradas *in vacuo* para dar **246** (3.0 g, 13%, 3 etapas) como um sólido branco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.89-7.87 (d, 2H), 7.71-7.70 (d,

2H), 7.55-7.52 (m, 2H), 7.50-7.41 (m, 2H), 7.39-7.30 (m, 4H), 4.97 (s, 2H), 4.30-4.22 (m, 4H), 3.29 (br, 4H), 3.10-3.01 (m, 2H), 2.82-2.80 (d, 3H), 2.73 (s, 1H), 2.66 (s, 2H), 1.32-1.30 (d, 9H).

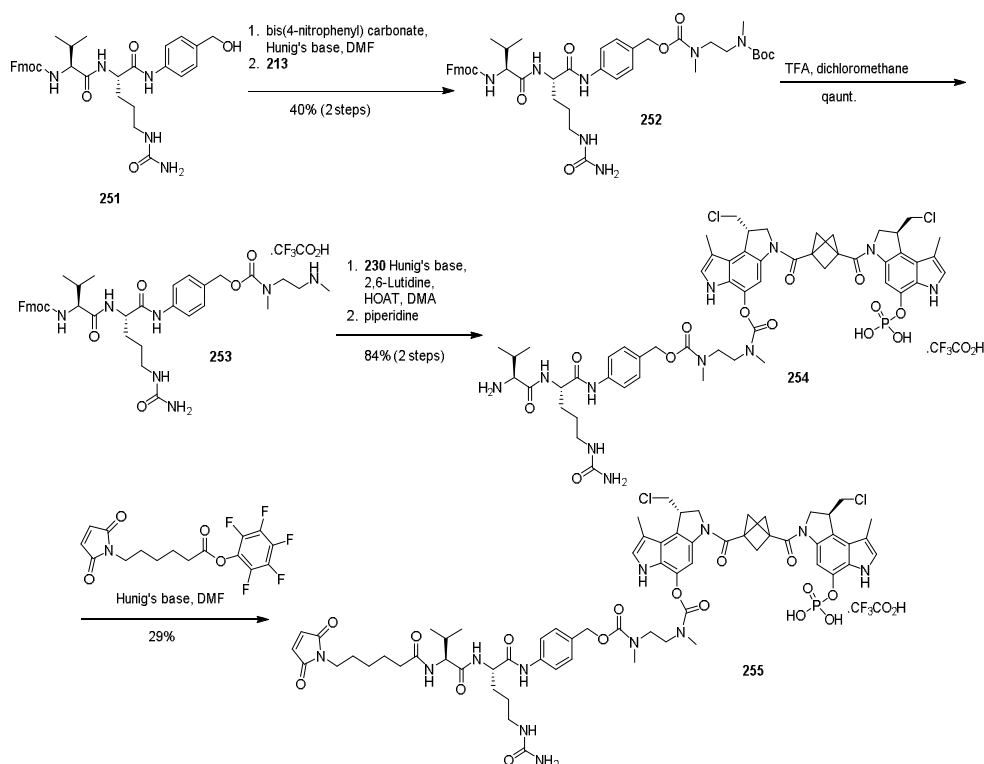
[00638] *Etapa 2:* A uma solução em agitação de **246** (499 mg, 0.717 mmol) em 4.0 DMF, a piperidina (1.13 mL, 11.5 mmol) foi adicionada. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~5 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 50% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo 3-[[4-(4,7,10,10-tetrametil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il)fenil]disulfanil]-L-alanina **247** (320 mg, 76%) como um sólido cinzento. LC-MS (Protocolo B): m/z 474.5 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.19 min.

[00639] *Etapa 3:* A uma solução em agitação de **247** (140 mg, 0.238 mmol) e 6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de pentafluorofenila (98.9 mg, 0.262 mmol), 2 mL de DMF foram adicionados seguido imediatamente por base Hunig (0.124 mL, 0.715 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~5 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 70% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-3-[[4-(4,7,10,10-tetrametil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il)fenil]disulfanil]-L-alanina **248** (56 mg, 35%) como um sólido claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 667.3 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.71 min.

[00640] *Etapla 4:* A uma solução em agitação de **248** (35 mg, 0.050 mmol) em 4 mL de diclorometano, TFA (2 mL, 30 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação foi concentrada *in vacuo* e colocada debaixo de alto vácuo para produzir **249** como um sólido branco (40 mg, quant.).

[00641] *Etapla 4:* A um frasco contendo **249** (18.0 mg, 0.0264 mmol) e **242** (22.0 mg, 0.0264 mmol), 1.6 mL de DMA foram adicionados seguido imediatamente por base Hunig (0.0184 mL, 0.106 mmol), 2,6-Lutidina (0.0123 mL, 0.106 mmol) e HOAT (3.60 mg, 0.0264 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 60% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguido por purificação por HPLC preparativa (método I2) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **250** (16.7 mg, 50%) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): *m/z* 1261.4 [M+3H]⁺, tempo de retenção = 1.71 min.

[00642] *Preparação de* N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-({[(2-{{(8S)-8-(clorometil)-6-[(3-{{(1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il}óxi)carbonil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida **255**.



[00643] *Etapa 1:* N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(hidroximetil)fenil]-L-ornitinamida **251** (725 mg, 1.2 mmol) foi dissolvida em 6 mL de DMF seguido por sonicação durante ~10 min. Uma barra de agitação foi então adicionada e esta solução foi deixada agitar em temperatura ambiente. O bis(4-nitrofenil)carbonato (403 mg, 1.33 mmol) foi então adicionado seguido pela base Hunig (0.44 mL, 2.5 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~5 horas. **213** (227 mg, 1.2 mmol) dissolvido em 1 mL de DMF foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~1 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 24g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0,02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 60% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(4,7,10,10-tetrametil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il)fenil]-L-

ornitinamida **252** (395 mg, 40%, 2 etapas) como um sólido marrom. LC-MS (Protocolo B): m/z 816.7 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.88 min.

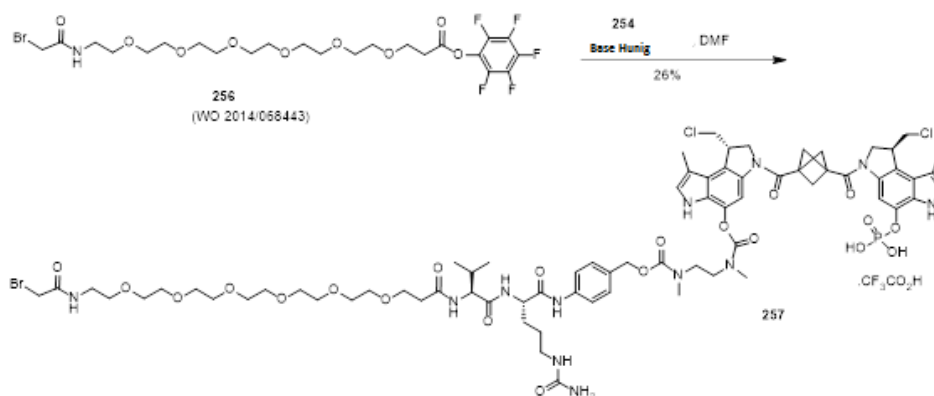
[00644] *Etapa 2:* A uma mistura em agitação de **252** (197 mg, 0.241 mmol) em 6 mL de diclorometano, TFA (2 mL, 30 mmol) foi adicionado. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~20 min. A reação foi concentrada *in vacuo* e colocada debaixo de alto vácuo produzindo N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(4,7,10,10-tetrametil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il)fenil]-L-ornitinamida **253** (210 mg, quant.) como um sólido branco e marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 716.7 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.27 min.

[00645] *Etapa 3:* A um frasco contendo **230** (48 mg, 0.053 mmol) e **253** (52.4 mg, 0.063 mmol), 2.0 mL de DMA foram adicionados seguido imediatamente por base Hunig (0.036 mL, 0.211 mmol), 2,6-Lutidina (0.024 mL, 0.211 mmol) e HOAT (7.1 mg, 0.0525 mmol). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A piperidina (0.30 mL, 3 mmol) foi então adicionada e a reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 12g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 10% a 50% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) com os tubos de teste adequados concentrados usando um genevac produzindo **254** (68 mg, 84%, 2 etapas) como um sólido cinzento-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 1193.5 $[M+2H]^+$, tempo de retenção = 1.46 min.

[00646] *Etapa 4:* A uma solução em agitação de **254** (30 mg, 0.020 mmol) e 6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de pentafluorofenila (8.11 mg, 0.0215 mmol) em 2.0 mL de DMF, a base Hunig

(0.0136 mL, 0.0782 mmol) foi adicionada. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~10 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 50% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguida por uma segunda purificação de HPLC preparativa (método J1). Os tubos de teste adequados foram concentrados usando a genevac produzindo **255** (9.1 mg, 29%) como um sólido marrom-claro. LC-MS (Protocolo B): m/z 1386.9 $[M+2H]^+$, tempo de retenção = 1.60 min.

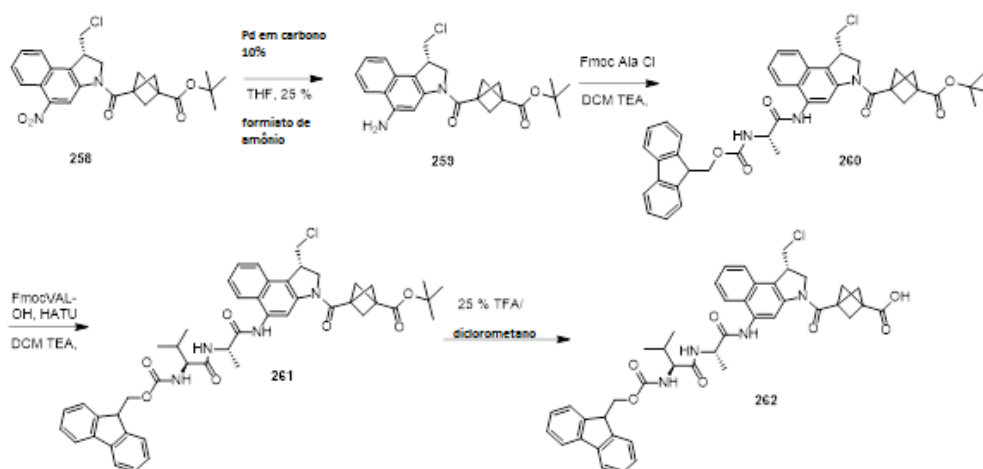
[00647] Preparação de N-(24-bromo-23-oxo-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-22-azatetracosan-1-ol)-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-({[(2-{{[(8S)-8-(clorometil)-6-[(3-{{[(1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-di-hidropirrol o[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il}óxi)carbonil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida **257**.



[00648] A uma solução em agitação de **254** (30 mg, 0.020 mmol) e 1-bromo-2-oxo-6,9,12,15,18,21-hexaoxa-3-azatetracosan-24-oato de pentafluorofenila **255** (13.8 mg, 0.0215 mmol) [preparado conforme descrito em WO2014/068443] em 2.0 mL de DMF, a base Hunig

(0.0136 mL, 0.0782 mmol) foi adicionada. A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por ~40 min. A reação bruta foi injetada em uma pré-coluna C18 de 5g (a qual foi anteriormente equilibrada com acetonitrila e depois água, com 0.02% de TFA em cada fase). O material foi purificado por cromatografia C18 de fase reversa em média pressão (Gradiente: 5% a 50% de acetonitrila em água com 0.02% de TFA em cada fase) seguido por uma segunda purificação de HPLC preparativa (método K1). Os tubos de teste adequados foram concentrados usando um genevac produzindo **257** (10.8 mg, 26%) como um sólido branco. LC-MS (Protocolo B): m/z 1649.7 $[M+3H]^+$, tempo de retenção = 1.53 min.

[00649] Preparação de N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-3-[(3-carboxibiciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **261**



[00650] *Etapa 1:* Uma solução em agitação de 3-[(1S)-1-(clorometil)-5-nitro-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pentano-1-carboxilato de terc-butila **258** (preparado de forma similar ao **189**) (980 mg, 2.14 mmol) em 7 mL de THF sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (30 mg) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 2 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 3 horas. Após uma

conclusão, a mistura de reação foi filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado concentrado sob vácuo. Os produtos brutos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% de MeOH em DCM) para dar 3-[[[(1S)-5-amino-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pentano-1-carboxilato de terc-butila **259** como um sólido amarelo (905 mg, 98%). LC-MS (Protocolo B): m/z 427 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.92 min.

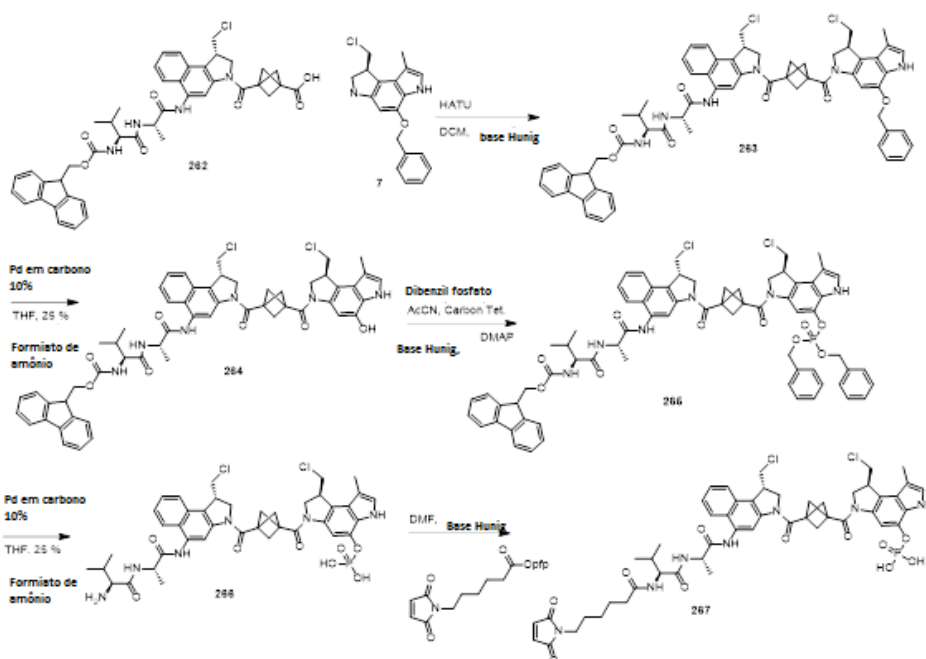
[00651] *Etapa 2:* Uma solução em agitação de **259** (900, 2.11 mmol) em 5 mL de DCM anidro foi adicionado (9H-fluoren-9-il)metil (S)-(1-cloro-1-oxopropan-2-il)carbamato (695 mg, 2.11 mmol) seguido por uma adição em gotas de TEA (0.5 mL). A reação foi deixada agitar por 2 horas. Após uma conclusão, a mistura de reação foi concentrada sob vácuo. Os produtos brutos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 100% de Acetato de etila em Heptano) para dar 3-[[[(1S)-1-(clorometil)-5-({N-[(9H-fluoren-9-il)metóxi]carbonil]-L-alanil}amino)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pentano-1-carboxilato de terc-butila **260** como um sólido branco (1.102 g, 73%). LC-MS (Protocolo B): m/z 720 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.32 min.

[00652] *Etapa 3:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação contendo **260** (1000 mg, 1.388 mmol) foram adicionados 15 mL de 1:1 DCM em DEA. A solução foi agitada por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada sob vácuo e tomada em 50% de DCM em Heptano e concentrada sob vácuo novamente. Isto foi repetido por 3 vezes (para remover o excesso de DEA) para dar um sólido branco bruto após a concentração. Este sólido branco bruto foi adicionado a um frasco de fundo redondo contendo (((9H-fluoren-9-il)metóxi)carbonil)-L-valina (471 mg, 1.38 mmol) e HATU (350 mg, 1.38 mmol) em 10 mL de DCM anidro. TEA (0.5 mL) foi então adicionada e a reação foi agitada em temperatura ambiente por 3 horas.

Após a conclusão, a mistura de reação foi concentrada sob vácuo. Os produtos brutos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 100% de Acetato de etila em Heptano) para dar N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-3-{[3-(tercbutoxicarbonil)biciclo[1.1.1]pent-1-il]carbonil}-1-(clorometil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **261** como um sólido branco (1.005 g, 88%). LC-MS (Protocolo B): m/z 819 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.31 min.

[00653] *Etapla 4:* 10 mL de TFA a 25% em DCM foram adicionados a um frasco de fundo redondo contendo **261** (1000 mg, 1.22 mmol). A reação foi agitada por 3 horas. A solução foi agitada por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada sob vácuo e tomada em DCM a 50% e heptano e concentrada sob vácuo. Isto foi repetido por 3 vezes (para remover o excesso de TFA) para dar um **262** como um sólido branco após a concentração (920 mg, 98 %). LC-MS (Protocolo B): m/z 763 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.88 min.

[00654] Preparação de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-di-hidropirrol-3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **266**.



[00655] *Etapa 1:* Em um frasco de fundo redondo contendo N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-3-[(3-carboxibiciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **262** (580 mg, 0.76 mmol) em 5 mL de THF foi adicionado HATU (298 mg, 0.76 mmol). A mistura de solução foi agitada em temperatura ambiente por 30 min. (1S)-5-(benzilóxi)-1-(clorometil)-8-metil-1,2,3,6-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol **7** foi então adicionado seguido por 0.3 mL de base Hunigs. A reação foi agitada por 1 hora e concentrada até ter um vidro bruto. A mistura de reação brura foi purificada por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% de MeOH em DCM) para dar Síntese de N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-3-[(3-[[bis(benzilóxi)fosforil]óxi)-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **263** como um sólido branco (723 mg, 98%). LC-MS (Protocolo B): m/z 1071 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.45 min.

[00656] *Etapa 2:* Uma solução em agitação de **263** (100mg, 0.932

mmol) em 7 mL de THF sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (10 mg) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 0.5 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 1 hora. Após a conclusão, a mistura de reação foi filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado concentrado sob vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% MeOH em DCM) para dar Síntese de N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **264** como um sólido amarelo (821 mg, 89%). LC-MS (Protocolo B): m/z 981 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.16 min.

[00657] Etapa 3: A uma solução em agitação de **264** (650 mg, 0.66 mmol) em 10 mL de THF e 10 mL de AcCN, tetracloreto de carbono (2.04 mL, 21.0 mmol) foi adicionado seguido pela base Hunig (1.12 mL, 6.45 mmol), dibenzilfosfito (694 mg, 2.65 mmol) e DMAP (catalítico). A reação foi deixada agitar em temperatura ambiente por 20 min. A reação foi concentrada até ter um vidro bruto. A mistura de reação bruta foi purificada por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% de MeOH em DCM) para dar N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-3-[(3-[(1S)-5-{[bis(benzilóxi)fosforil]óxi}-1-(clorometil)-8-metil-1,6-di-hidropirrolo[3,2-e]indol-3(2H)-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]-L-alaninamida **265** como um vidro branco (502 mg, 66%). LC-MS (Protocolo B): m/z 1243 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.46 min.

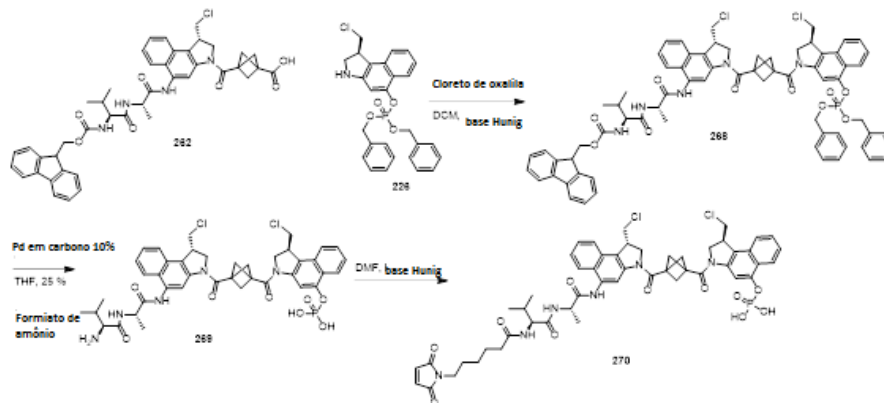
[00658] Etapa 4: Uma solução em agitação de **264** (100mg, 0.932 mmol) em 7 mL de THF sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (10 mg) foi

então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 0.5 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 1 hora. Após a conclusão, a mistura de reação foi filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado concentrado sob vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% de MeOH em DCM) para dar L-valil-N-((1S)-1-(clorometil)-3-[(3-((1S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,6-dihidropirrol[3,2-e]indol-3(2H)-il)carbonil)biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)-L-alaninamida **265** como um sólido amarelo (25 mg, 18%). LC-MS (Protocolo B): m/z 839 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.54 min.

[00659] *Etapas* 5: Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação e 6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de pentafluorofenila (18 mg, 0.046 mmol) foram adicionados 5 mL de DCM anidro e purificado o sistema com N_2 . A esta solução adicionada de **265** (40 mg, 0.046 mmol) e TEA (0.05 mL). O sistema foi deixado agitar por 1 hora. A reação foi concentrada sob vácuo e purificada pelo **267** (20% 9 mg de Método N), tempo de retenção = 15.462 min. LC-MS (Protocolo B): m/z 1032 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.55 min. 1H RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 11.34 (s, 1H), 9.89 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.20 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.91 (dd, J = 14.4, 8.4 Hz, 3H), 7.85 – 7.74 (m, 2H), 7.49 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 25.4 Hz, 4H), 4.52 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 4.37 (dq, J = 22.0, 10.7 Hz, 4H), 4.18 (dt, J = 19.7, 8.5 Hz, 2H), 4.07 – 3.85 (m, 4H), 3.58 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 3.43 – 3.12 (m, 34H), 2.71 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 2.62 – 2.37 (m, 49H), 2.28 (s, 3H), 2.09 (qt, J = 14.0, 7.1 Hz, 3H), 1.98 – 1.86 (m, 1H), 1.39 (dt, J = 22.2, 7.2 Hz, 11H), 1.22 – 1.05 (m, 6H), 0.78 (dd, J = 9.7, 6.7 Hz, 10H).

[00660] Preparação de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-((1S)-1-(clorometil)-3-[(3-((1S)-1-(clorometil)-5-

(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)-L-alaninamida **270**



[00661] *Etapa 1:* **226** (214 mg, 0.36 mmol) foi tomado em CH₂Cl₂ (2 mL) e TFA (0.5 mL) foi adicionado e depois da desproteção estar completa, o solvente foi removido. Em um frasco de fundo redondo purificado com N₂, contendo **262** (200 mg, 0.26 mmol)) em 5 mL de DCM anidro foi adicionado cloreto de oxalila (0.024 mL, 0.26 mmol). A esta solução foi adicionada 1 gota de DMF e o sistema foi agitado por 3 horas. A reação foi concentrada em vácuo. O resíduo foi tomado em DCM e adicionado a um frasco de fundo redondo contendo **226 desprotegido** em 15 mL de DCM e TEA (0.144 mL). A reação foi agitada em temperatura ambiente por 2 horas. A mistura de reação bruta foi concentrada em vácuo e tomada em 25 mL de DCM e transferida a um funil de separação. A camada orgânica lavada com HCl 1M (3x), Água (3x) e salmoura (2x). A camada orgânica seca sobre Na₂SO₄, filtrada e concentrada no filtrado até um sólido bruto. Os produtos brutos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel (Gradiente: 0% a 10% de MeOH em DCM) para dar N-[(9H-fluoren-9-ilmetóxi)carbonil]-L-valil-N-[(1S)-3-[(3-[(1S)-5-[[bis(benzilóxi)fosforil]óxi)-1-(clorometil)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)-L-alaninamida **268** como um sólido amarelo (75

mg, 23%). LC-MS (Protocolo B): m/z 1238 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 2.53 min.

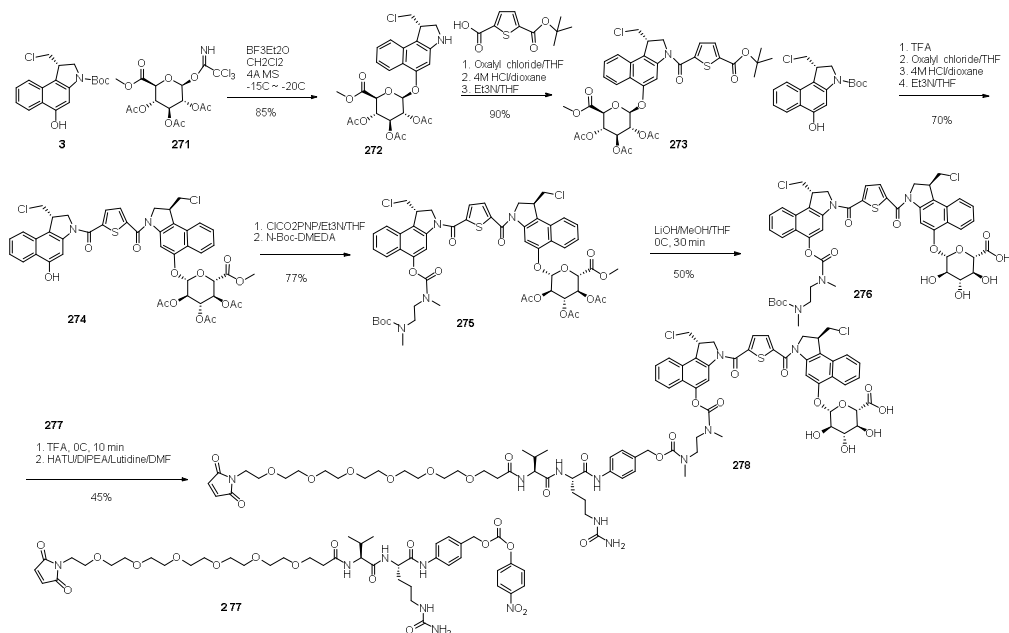
[00662] *Etapa 2:* Uma solução em agitação de **268** (75 mg, 0.061 mmol) em 5 mL de THF sob nitrogênio foi resfriada até 0°C usando um banho de gelo. Paládio em carbono ativado 10% em peso (5 mg) foi então adicionado seguido pela lenta adição em gotas de 0.5 mL de formiato de amônio a 25% em água. A reação foi deixada agitar a 0°C por 3 horas. Após a conclusão, a mistura de reação foi filtrada através de uma almofada de celite e o filtrado concentrado sob vácuo. O produto bruto foi tomado em acetato de etila e os sólidos filtrados para dar L-valil-N-((1S)-1-(clorometil)-3-[(3-((1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il)carbonil)biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)-L-alanina **269** como um sólido amarelo claro (20 mg, 30%). LC-MS (Protocolo B): m/z 838 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.27 min.

[00663] *Etapa 3:* Em um frasco de fundo redondo equipado com uma barra de agitação e 6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoato de pentafluorofenila (9.0 mg, 0.024 mmol) foi adicionado 5 mL de DCM anidro e purificado o sistema com N_2 . A esta solução adicionado o **269** (20 mg, 0.024 mmol) e TEA (.05 mL). O sistema foi deixado agitar por 1 hora. A reação foi concentrada sob vácuo e purificada pelo Método N de HPLC que proveu **270** (5 mg, 20%) tempo de retenção = 10.734 min. LC-MS (Protocolo B): m/z 1031 $[M+H]^+$, tempo de retenção = 1.54 min.

[00664] Preparação de ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(((2-(((4-((23S,26S)-1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil)óxi)carbonil)(metil)amino)etil)(metil)carbamoil)óxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-

benzo[e]indol-5-il)óxi)-3,4,5-triidroxitetra-hidro-2H-piran-2-carboxílico

278.



[00665] Etapa 1. (1S)-1-(clorometil)-5-hidróxi-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-carboxilato de terc-butila **3** (683 mg, 2.05 mmol) foi dissolvido em DCM (70 mL), adicionado 4Å MS (3.8 g, pó, <5 micro, ativado) e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 30 min. À mistura de reação, o alfa-D-glucuronida metil éster de 2,3,4-triacetato- 1-2,2,2-tricloroetanimidato **271** (1178 mg, 2.45 mmol) foi adicionado e resfriado até -15°C. Uma solução de BF₃·Et₂O (0.13 mL, 1.02 mmol) em DCM (10 mL) foi adicionada lentamente e a mistura de reação foi agitada abaixo de -20°C por 1 h. À mistura, uma solução de BF₃·Et₂O (0.76 mL, 6 mmol) em DCM (10 mL) foi adicionada para remover o grupo Boc e a mistura de reação foi deixada aquecer até rt por 2 h. A mistura foi filtrada através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado para dar uma espuma verde (pegajosa). Foi adicionado HCl 4M (2 mL) e concentrado novamente para dar uma espuma verde como produto bruto **272**, 1130 mg (94%), o qual foi usado na próxima etapa sem purificação adicional.

[00666] Etapa 2. Mono-tBu éster de tiofeno diácido **187** (189 mg, 0.83 mmol) foi dissolvido em THF (10 mL), resfriado até 0°C e adicio-

nado o cloreto de oxalila (2M em DCM, 0.8 mL, 1.6 mmol), seguido por DMF (2 gotas). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois em temperatura ambiente por 1 h. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente como um sólido esbranquiçado. Os sólidos acima foram misturados com **272** (246 mg, 0.42 mmol) e tratados com THF (10 mL) a 0°C, seguido por Et₃N (0.29 mL, 2 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e temperatura ambiente por 30 min. A mistura foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel usando EA/Hep (50/50) para dar o produto como um sólido amarelo **273** (302 mg, 90%) LC-MS: 760.1.

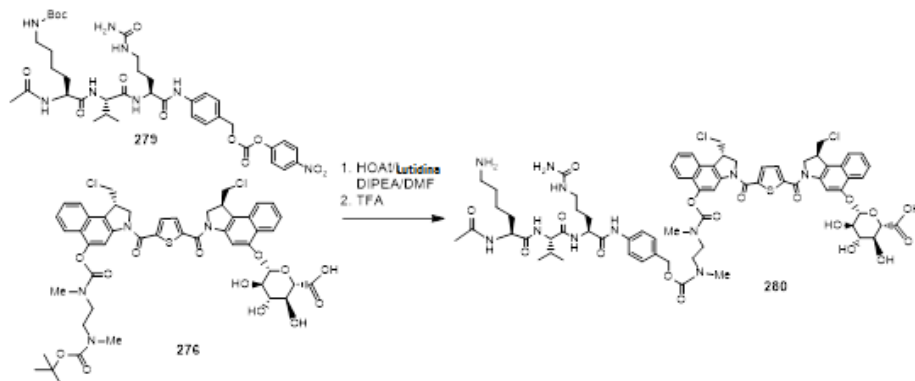
[00667] Etapa 3. **273** (790 mg, 1.04 mmol) foi tratada com TFA (2 mL) e DCM (4 mL) em rt por 1 h e concentrado para dar um sólido amarelo. O sólido foi dissolvido em THF (10 mL), resfriado até 0°C, adicionado o cloreto de oxalila (2M em DCM, 1 mL, 2 mmol), seguido por DMF (1 gota). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois rt por 1 h. Concentrada para dar o cloreto ácido como um sólido amarelo. **3** (118 mg, 1.56 mmol) foi tratado com HCl 4M (4 mL) por 1 h, concentrado em vácuo para dar o composto de Boc como um sólido verde. Ele foi dissolvido em THF (10 mL), adicionada uma solução do cloreto ácido acima em THF (10 mL) a 0°C, seguido pela adição de Et₃N (0.58 mL, 4.16 mmol) e a mistura foi agitada em rt por 30 min. A mistura foi diluída com EA, lavada com água e salmoura, seca sobre MgSO₄. Ela foi concentrada em vácuo e o resíduo foi tratado com MeOH, o sólido resultante foi coletado por filtração para dar o produto como um sólido amarelo **274** (668 mg, 70%). LC-MS: 919.1 Etapa 4. **274** (576 mg, 0.63 mmol) foi dissolvido em THF (20 mL), resfriado até 0°C, adicionada uma solução de cloroformiato de par anitrofenila (263 mg, 1.26 mmol) em DCM (2 mL), seguido por Et₃N (0.52 mL, 3.76 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois em rt por 2 h. LC-MS indicou a finalização da formação do carbonato. **213** (354 mg,

1.88 mmol) em THF (2 mL) foi adicionado à mistura acima e agitado em rt por 30 min. A mistura foi diluída com EtOAc, lavada com água e salmoura e seca sobre MgSO₄. Concentrada em vácuo para dar um resíduo sólido, o qual foi tratado com MeOH para formar precipitados. O sólido resultante foi coletado por filtração para dar o produto como um sólido amarelo **275** (550 mg, 77%).

[00668] Etapa 5. **275** (550 mg, 0.48 mmol) foi dissolvido em THF/MeOH (1/1, 10 mL), resfriado até 0°C, adicionada uma solução de LiOH·H₂O (206 mg, 4.8 mmol) em água (3 mL) e a mistura foi agitada a 0°C por 1 h. HOAc (300 mg) foi adicionado para neutralizar a solução acima, concentrada em vácuo. O resíduo foi purificado por HPLC Gilson (0.02% TFA) para dar o produto como um sólido amarelo **276** (243 mg, 50%).

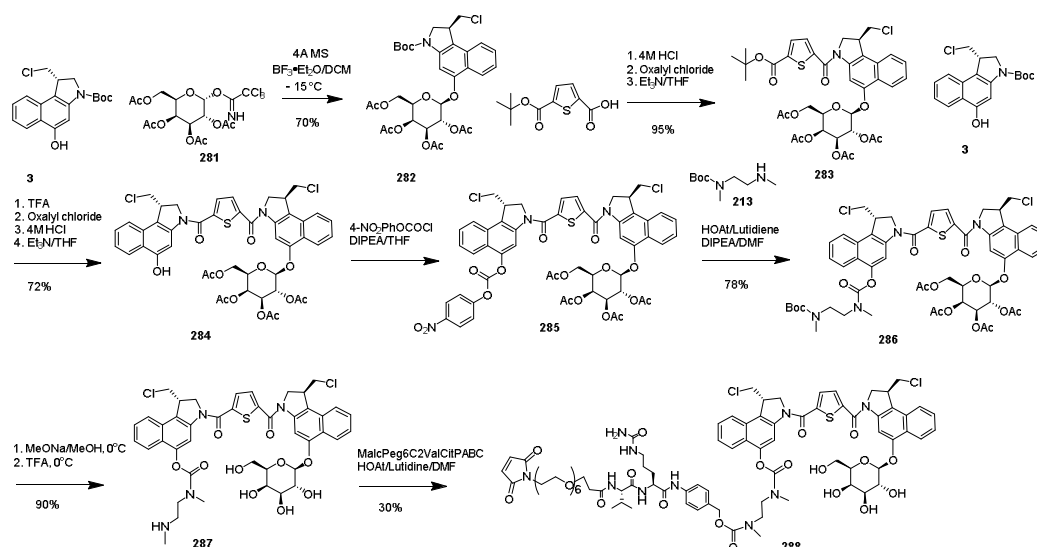
[00669] Etapa 6. **276** (50 mg, 0.05 mmol) foi tratado com TFA pré-resfriado (2 mL) a 0°C por 5 min e concentrado em vácuo para dar o composto deBoc como um sólido amarelo. O sólido acima foi dissolvido em DMF (2 mL), adicionado **277** (48 mg, 0.05 mmol), seguido por lutidina (0.035 mL, 0.3 mmol), DIPEA (0.052 mL, 0.3 mmol) e HOAt (7 mg, 0.05 mmol). A mistura foi agitada a 30°C por 7 h. O produto bruto foi submetido a HPLC Gilson (0.02% de TFA) para dar o produto **278** como um sólido amarelo 39 mg (45%). LC-MS: 1715.8/1737.8 (1.71 min em Larry); 1713.7 (-).

[00670] Preparação de ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-3-(5-((S)-5-(((2-(((4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-acetamido-6-aminoexanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido) benzil)óxi)carbonil)(metil)amino)etil) (metil)carbamoil)óxi)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)-3,4,5-trihidroxitetra-hidro-2H-piran-2-carboxílico **280**



[00671] **276** foi tratado com TFA (2 mL) a 0°C por 1 h. Ele foi concentrado em vácuo para dar o produto. Ele foi dissolvido em DMF (2 mL), adicionado **279** (59 mg, 0.07 mmol), seguido por lutidina (0.033 mL, 0.29 mmol), DIPEA (0.051 mL, 0.29 mmol) e HOAt (7 mg, 0.05 mmol). A mistura foi agitada a 30°C por 4 h. Concentrado, e o resíduo foi purificado por HPLC Gilson (0.02% TFA) para dar o produto como um sólido amarelo de 48 mg (62%). Ele foi tratado com TFA pré-resfriado (1.5 mL) por 5 min, depois concentrado em vácuo para dar o produto bruto como um sólido amarelo. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (0.02% de TFA) para dar o produto **280** como um pó amarelo depois da liofilização (21 mg, 43%). LC-MS: 1470.6

[00672] Preparação de (S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triidróxi-6-(hidroximetil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)óxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il(4-((23S,26S)-1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil)etano-1,2-diilbis(metilcarbamato)



[00673] Etapa 1. **3** (775 mg, 2.3 mmol) foi dissolvido em DCM (80 mL), adicionado 4Å MS (6.2 g, pó, <5 micro, ativado) e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 30 min. À mistura de reação, alfa-D-galactopanoose, 2,3,4,6-tetra-acetato 1-2,2,2-tricloroetanimidato **281** (1260 mg, 2.3 mmol) foi adicionado e resfriado até -15°C. Uma solução de BF₃·Et₂O (0.144 mL, 1.2 mmol) em DCM (10 mL) foi adicionada lentamente e a mistura de reação foi agitada a -15°C, -20°C por 1 h. A mistura de reação foi filtrada através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado. O produto bruto foi purificado por ISCO usando MeOH/DCM (0 - 20%) para dar o produto como um sólido verde de **282** (1400 mg, 91%).

[00674] Etapa 2. Mono-tBu éster de tiofeno diácido **187** (300 mg, 1.3 mmol) foi dissolvido em THF (10 mL), resfriado até 0°C e adicionado o cloreto de oxalila (2M in DCM, 1 mL, 2 mmol), seguido por DMF (2 gotas). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e depois em temperatura ambiente por 1 h. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente como um sólido branco. **282** (664 mg, 1 mmol) foi tratado com HCl 4M (4 mL) por 1 h em temperatura ambiente. Ele foi concentrado em vácuo para dar o sólido verde da amina deBoc. O sólido acima foi misturado com THF (10 mL) a 0°C, adicionado Et₃N (0.83 mL, 6 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e temperatu-

ra ambiente por 30 min. A mistura foi diluída com EtOAc, lavada com água e salmoura, seca sobre MgSO_4 . Concentrada em vácuo e o resíduo foi tratado com MeOH e concentrada novamente para dar um resíduo sólido o qual foi recristalizado a partir de MeOH. O sólido amarelo resultante foi coletado por filtração para dar o produto como um sólido amarelo **283** (500 mg, 65%).

[00675] Etapa 3. **283** (200 mg, 0.26 mmol) foi dissolvido em THF (6 mL), adicionado o cloreto de oxalila (0.64 mL, 2M in DCM) a 0°C, seguido por DMF (2 gotas). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois temperatura ambiente por 0.5 h. Concentrada em vácuo para dar o cloreto ácido correspondente como um sólido amarelo. **3** (138 mg, 0.41 mmol) foi tratado com HCl 4M (1 mL em dioxano) por 2 h. Concentrada em vácuo para dar a amina deBoc como forma verde. Isto foi dissolvido em THF (5 mL), adicionado o cloreto ácido acima em THF (5 mL) a 0°C, seguido por Et_3N (0.23 mL, 1.55 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min, depois temperatura ambiente por 1 h. A mistura foi diluída com EtOAc, lavada com água e salmoura, seca sobre MgSO_4 . Concentrada em vácuo para dar um resíduo sólido, o qual foi tratado com MeOH e o sólido resultante foi coletado por filtração e lavado com éter para dar o produto como um sólido amarelo. O filtrado foi concentrado e purificado por separação em HPLC Gilson usando ACN/água (0.02% de TFA) para dar o produto como um sólido amarelo **284** (200 mg, 83%).

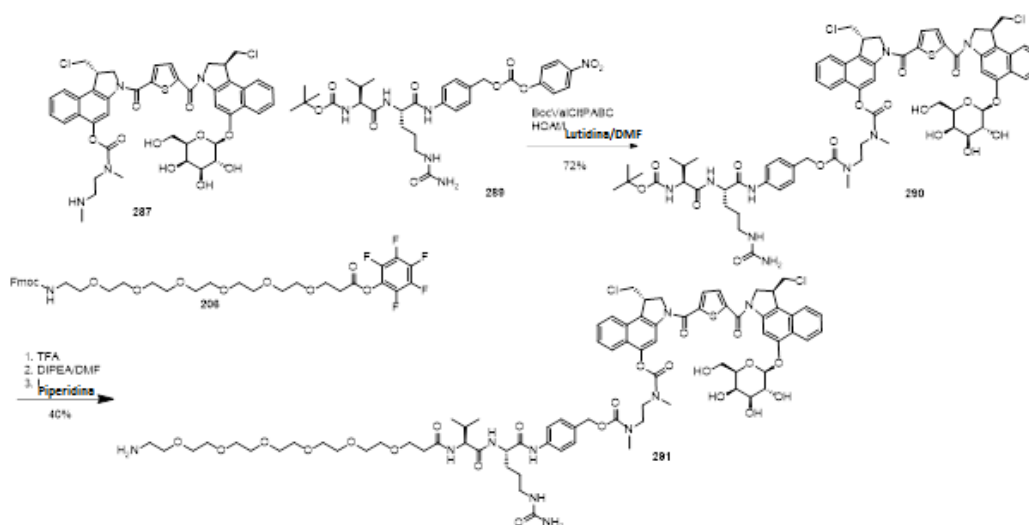
[00676] Etapa 4. **284** (68 mg, 0.073 mmol) foi dissolvido em THF (3 mL), resfriado até 0°C, uma solução de cloroformiato de 4-nitrofenila (46 mg, 0.22 mmol) em DCM (0.6 mL) foi adicionada, seguida por Et_3N (0.061 mL, 0.44 mmol). A mistura foi agitada a 0°C por 5 min e temperatura ambiente por 1 h para prover **285**. À mistura de reação acima foi adicionado N-Boc DMEDA (55 mg, 0.29 mmol) e agitado em temperatura ambiente por 1 h adicional. Concentrado em vácuo e o resíduo foi

purificado por Gilson HPLC para dar o produto como um sólido amarelo **286** (65 mg, 78%).

[00677] Etapa 5. **286** (10 mg, 0.009 mmol) foi dissolvido em MeOH (1 mL) a 0°C, adicionado MeONa (0.054 mL, 0.5M em MeOH, 0.027 mmol) e a mistura foi agitada a 0°C por 5 min. A mistura foi neutralizada com HOAc (0.4 mL, 0.1M in MeOH) e concentrada em vácuo para dar o produto como um sólido amarelo. Ela foi tratada com TFA pré-resfriado (0.8 mL) por 2 min e concentrada em vácuo para dar o composto deBoc como um sólido amarelo **287** (8.3 mg, 90%).

[00678] Etapa 6. **287** (8.3 mg, 0.008 mmol) foi dissolvido em DMF (1 mL), adicionado Malc-Peg6C2ValCitPABC (9.6 mg, 0.01 mmol), seguido por Lutidina (0.004 mL), DIPEA (0.006 mL) e HOAt (1.1 mg, 0.008 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 4 h. O produto bruto foi purificado pela HPLC Glison (0.02% TFA) para dar o produto **288** como um sólido amarelo (4 mg, 30%). ¹H RMN (400MHz, METHANOL-d₄) δ = 8.42 (d, J=8.2 Hz, 1H), 8.15 (d, J=7.4 Hz, 1H), 7.95 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.91 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.84 (d, J=8.6 Hz, 1H), 7.80 - 7.66 (m, 2H), 7.63 - 7.48 (m, 4H), 7.43 (br. s., 3H), 7.23 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.81 (s, 2H), 5.26 - 5.12 (m, 2H), 5.09 (d, J=8.6 Hz, 1H), 4.71 - 4.54 (m, 4H), 4.49 (br. s., 1H), 4.33 - 4.15 (m, 3H), 4.10 - 3.95 (m, 4H), 3.93 - 3.77 (m, 6H), 3.77 - 3.64 (m, 8H), 3.64 - 3.54 (m, 24H), 3.51 (br. s., 1H), 3.23 - 3.03 (m, 5H), 3.03 - 2.95 (m, 2H), 2.60 - 2.51 (m, 2H), 2.13 (d, J=7.0 Hz, 1H), 1.90 (br. s., 1H), 1.72 (br. s., 1H), 1.57 (br. s., 2H), 0.99 (t, J=6.4 Hz, 6H). LC-MS: 1702.3/829.9/748.7

[00679] Preparação de 4-((23S,26S)-1-amino-23-isopropil-21,24-dioxa-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triidróxi-6-(hidroximetil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)óxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il) etano-

1,2-diilbis(metilcarbamato) **289**

[00680] Etapa 1. BocValCitPABC **287** (30.9 mg, 0.048 mmol) foi adicionado a uma solução de **286** (32 mg, 0.032 mmol) em DMF (2 mL), seguido por lutidina (0.015 mL), DIPEA (0.022 mL) e HOAt (4.4 mg). A mistura foi agitada em rt por 5 h. O produto bruto foi submetido à separação por HPLC Gilson (0.02% TFA) para dar o produto como um sólido amarelo **288** (32 mg, 72%).

[00681] Etapa 2. **288** (16 mg, 0.012 mmol) foi tratado com TFA pré-resfriado (1 mL) por 5 min e concentrado em vácuo para dar o composto deBoc como um sólido amarelo. O sólido acima foi dissolvido em DMF (0.5 mL), adicionado DIPEA (0.013 mL), seguido por uma solução de **206** (12 mg, 0.016 mmol) em DCM (0.1 mL). A mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. À solução acima, foi adicionado piperidina (0.2 mL) e agitada por 30 min. Concentrada em vácuo, o resíduo foi purificado por HPLC Gilson usando ACN/água (0.02% TFA) para dar o produto **289** como um sólido amarelo (8 mg, 40%). ^1H RMN (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.89 (br. s., 1H), 8.35 - 8.21 (m, 1H), 8.15 - 8.00 (m, 2H), 7.96 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.91 - 7.84 (m, 1H), 7.84 - 7.72 (m, 4H), 7.63 (br. s., 2H), 7.58 - 7.50 (m, 3H), 7.50 - 7.44 (m, 2H), 7.40 (d, $J=6.2$ Hz, 2H), 7.18 (br. s., 2H), 5.90 (br. s., 1H), 5.06 - 4.90 (m, 2H), 4.87 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 4.83 - 4.68 (m, 2H), 4.42 (t, $J=12.3$ Hz,

2H), 4.32 (br. s., 2H), 4.23 (br. s., 1H), 4.19 - 4.11 (m, 1H), 4.10 - 3.95 (m, 3H), 3.95 - 3.80 (m, 2H), 3.77 - 3.62 (m, 3H), 3.60 - 3.46 (m, 15H), 3.15 (br. s., 2H), 3.06 (br. s., 1H), 2.89 (d, $J=5.1$ Hz, 3H), 2.92 (d, $J=5.1$ Hz, 3H), 2.86 - 2.74 (m, 3H), 2.35 - 2.21 (m, 1H), 1.96 - 1.82 (m, 1H), 1.61 (br. s., 1H), 1.52 (br. s., 1H), 1.43 - 1.21 (m, 2H), 0.76 (d, $J=6.6$ Hz, 3H), 0.79 (d, $J=6.2$ Hz, 3H); 1622.2 $[M+H]^+$

Tabela 3 – Cargas ligantes adicionais			
ID	Estrutura	Preparadas Usando Méto- do Similar ao Composto ID	MS: m/z
292		198	1042.2 $[M+H]^+$
293		198	921.1 $[M+Na]$
294		198	1659.70 $[M+3H]^+$
295		198	1647.1 $[M+3H]^+$
296		198	1614.6 $[M-H]$

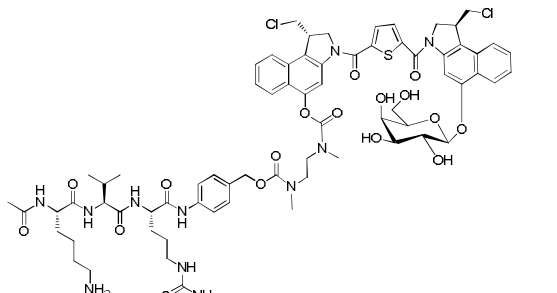
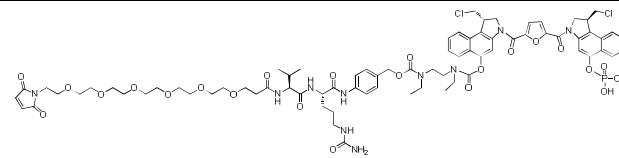
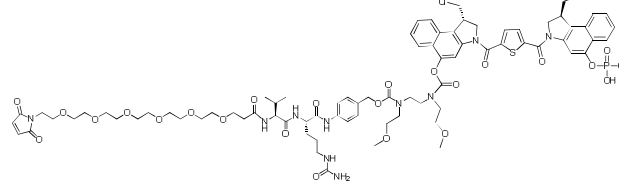
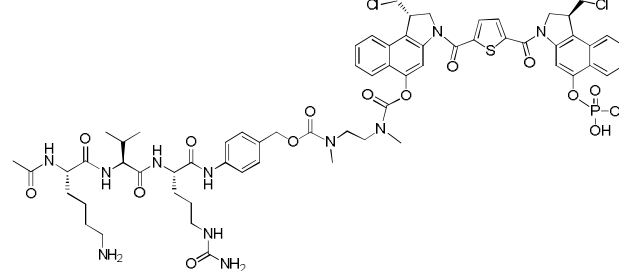
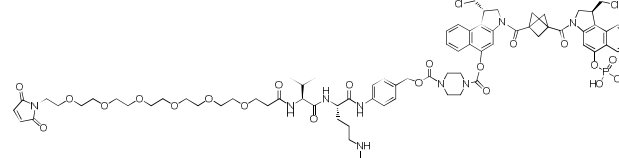
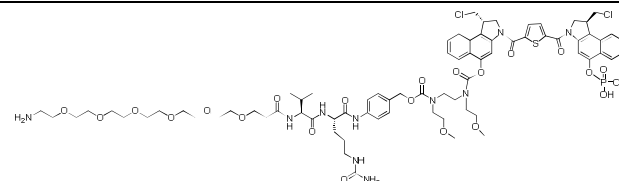
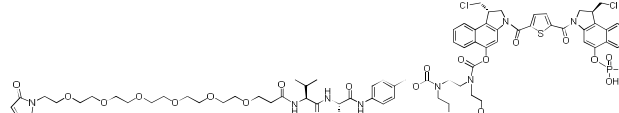
Tabela 3 – Cargas ligantes adicionais			
ID	Estrutura	Preparadas Usando Méto- do Similar ao Composto ID	MS: <i>m/z</i>
297		104 ¹	1454.5 [M+H] ⁺
298		198	1629.6 [M+H] ⁺
299		198	1705.6 [M+H] ⁺
300		198	1372.4 [M+H] ⁺
301		198	1599.6 [M+H] ⁺
302		198	1625.6 [M+H] ⁺
303		198	1619.5 [M+H] ⁺

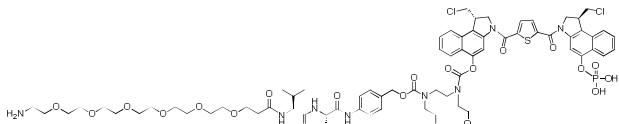
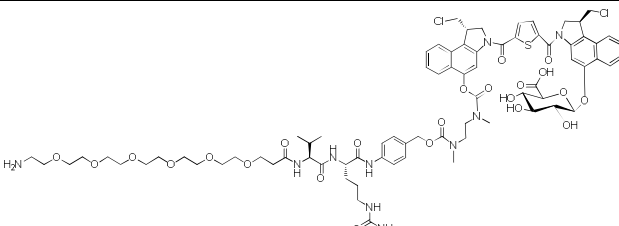
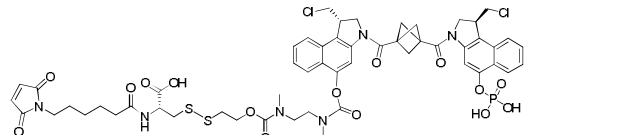
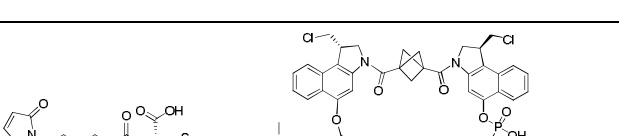
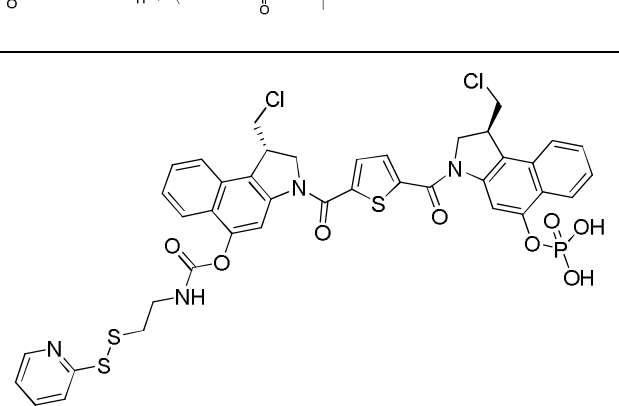
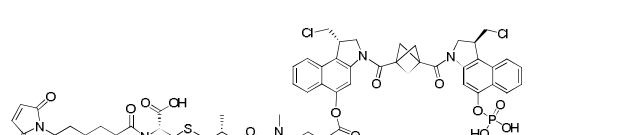
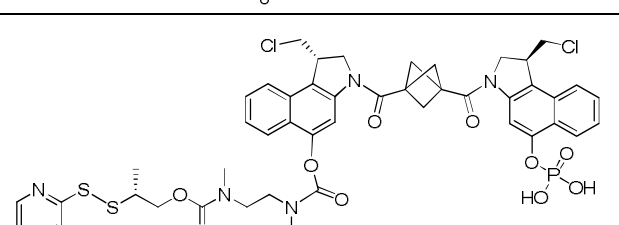
Tabela 3 – Cargas ligantes adicionais			
ID	Estrutura	Preparadas Usando Méto- do Similar ao Composto ID	MS: <i>m/z</i>
304		198	1539.5 [M+H] ⁺
305		291	1633.6 [M+H] ⁺
306		250	1199.3 [M+H] ⁺
307		250	1227.1 [M+H] ⁺
308		267	895.7 [M+H] ⁺
309		250	1213.1 [M+H] ⁺
310		250	1009.9 [M+H] ⁺

Tabela 3 – Cargas ligantes adicionais			
ID	Estrutura	Preparadas Usando Método Similar ao Composto ID	MS: m/z
311		267	892.9 [M+H] ⁺
312		267	889.2 [M+H] ⁺
313		267	880.9 [M+H] ⁺
314		291	1618.6 [M+H] ⁺
315		280	1453.9 [M+H] ⁺

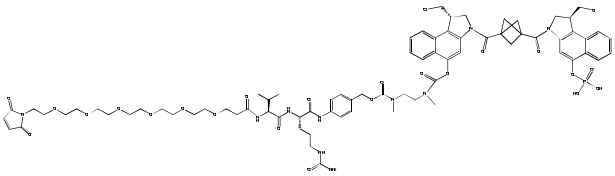
Tabela 3 – Cargas ligantes adicionais			
ID	Estrutura	Preparadas Usando Método Similar ao Composto ID	MS: <i>m/z</i>
316		204	1604.2 [M+H] ⁺

Tabela 4 – Cargas ligantes adicionais, nomes IUPAC	
ID	Nome químico
292	Acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-[(1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-13-metil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecan-15-il](metil)carbamoil)óxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
293	Acetato de (1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-[(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etóxi}etil)carbamoil)óxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-ila
294	N-(24-bromo-23-oxo-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-22-azatetracosan-1-ol)-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-[(2-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida
295	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-[(2-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](etil)amino}etil)(etil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida
296	3-[(2,2-dimetilpropóxi)sulfonil]-N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-alanil-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-[(2-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](metil)amino}etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida

Tabela 4 – Cargas ligantes adicionais, nomes IUPAC	
ID	Nome químico
297	4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-acetamido-6-aminoexanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzil ((S)-1-(clorometil)-3-(5-((S)-1-(clorometil)-5-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triidróxi-6-(hidroximetil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)óxi)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il) etano-1,2-diilbis(metilcarbamato)
298	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((2-(((1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)furan-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil)(etil)amino)etil)(etil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida
299	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-(4-{7-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil]-4-(2-metoxietil)-3-oxo-2,10-dioxa-4,7-diazaundec-1-il}fenil)-L-ornitinamida
300	N~2~-acetil-L-lisil-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((2-(((1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di hydro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil)(metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida
301	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-(4-{[(4-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)biciclo[1.1.1]pent-1-il]carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil]piperazin-1-il}carbonil)oxi]metil}fenil)-L-ornitinamida
302	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxaenicosan-1-ol)-L-valil-N~5~-carbamoil-N-(4-{7-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil]-4-(2-metoxietil)-3-oxo-2,10-dioxa-4,7-diazaundec-1-il}fenil)-L-ornitinamida
303	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N-(4-{7-[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil)tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil]-4-(2-metoxietil)-3-oxo-2,10-dioxa-4,7-diazaundec-1-il}fenil)-L-alaninamida

Tabela 4 – Cargas ligantes adicionais, nomes IUPAC	
ID	Nome químico
304	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxaenicosan-1-ol)-L-valil-N-(4-{7-[[[(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)car bonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil]-4-(2-metoxietil)-3-oxo-2,10-dioxa-4,7-diazaundec-1-il}fenil)-L-alaninamida
305	Ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((S)-3-(5-((S)-5-(((2-(((4-((23S,26S)-1-amino-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil)óxi)carbonil)(metil)amino)etil)(metil)carbamoil)óxi)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-3-carbonil)tiofeno-2-carbonil)-1-(clorometil)-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)-3,4,5-triidroxitetra-hidro-2H-piran-2-carboxílico
306	3-[(2-{[(2-[[[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi)etil]disulfanil]-N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoyl]-L-alanina
307	3-[(2-{[(2-[[[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi)etil]disulfanil]-N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valina
308	(1S)-1-(clorometil)-3-[(5-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}tiofen-2-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il [2-(piridin-2-ildisulfanil)etil]carbamato
309	3-[(2R)-1-[(2-[[[(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il]óxi)carbonil](metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi)propan-2-il]disulfanil]-N-[6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-alanina
310	(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il (2R)-2-(piridin-2-il disulfanil)propiletano-1,2-diilbis(metilcarbamato)
311	(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il metil[2-(piridin-2- ildisulfanil)etil]carbamato
312	(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-{[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil}biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il [6-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)hexil]carbamato

Tabela 4 – Cargas ligantes adicionais, nomes IUPAC	
ID	Nome químico
313	(1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil]biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il [2-(piridin-2-ildisu lfanil)etil]carbamato
314	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxaenicosan-1-ol)-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((2-(((1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-(beta-D-glucopiruranuronosilóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil]biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil](metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida
315	N~2~-acetil-L-lisil-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((2-(((1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-(beta-D-glucopiruranuronosilóxi)-1,2-di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil]biciclo[1.1.1] pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil](metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida
316	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18- hexaoxaenicosan-21-il]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((2-(((1S)-1-(clorometil)-3-[(3-[(1S)-1-(clorometil)-5-(fosfonoóxi)-1,2 -di-hidro-3H-benzo[e]indol-3-il]carbonil]biciclo[1.1.1]pent-1-il)carbonil]-2,3-di-hidro-1H-benzo[e]indol-5-il)óxi)carbonil](metil)amino)etil)(metil)carbamoil]óxi}metil)fenil]-L-ornitinamida

[00682] A invenção também provê os compostos descritos nas Tabelas 5A e 5B.

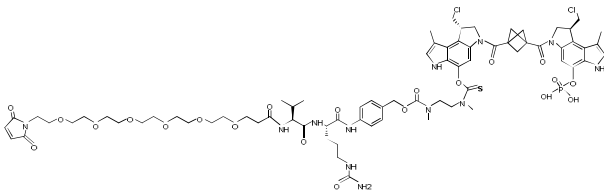
Tabela 5A Representative Thiocarbamato Linker Payloads			
ID	Estrutura	Método de síntese sugerido	M/S (previstos)
317	 <p>4-((23S,26S)-1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil (2-((((S)-8-(clorometil)-6-(3-((S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,2,3,6-tetrahidropirrol-3-il)indol-3-carbonil]biciclo[1.1.1]pentano-1-carbonil)-1-metil-3,6,7,8-tetrahidropirrol-3-il)indol-4-il)óxi)carbonotioil)(metil)amino)etil)(metil)carbamato</p>	231	1622.57

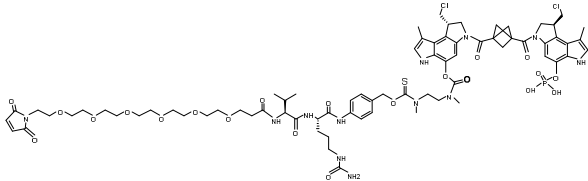
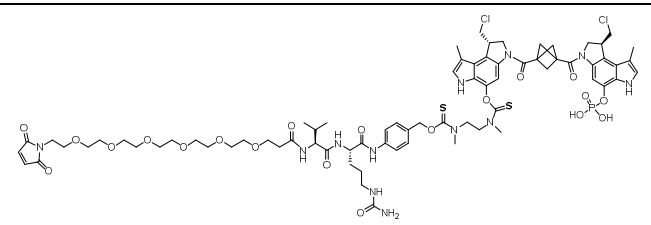
Tabela 5A Representative Thiocarbamato Linker Payoads			
ID	Estrutura	Método de síntese sugerido	M/S (previstos)
318	 <p>(S)-8-(clorometil)-6-(3-((S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,2,3,6-tetra-hidropirrólo[3,2-e]indol-3-carbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carbonil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrólo[3,2-e]indol-4-il (2-(((4-((23S,26S)-1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil)óxi)carbonotioil)(metil)amino)etil) (metil)carbamato</p>	231	1622.57
319	 <p>O'-((S)-8-(clorometil)-6-(3-((S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,2,3,6-tetra-hidropirrólo[3,2-e]indol-3-carbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carbonil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrólo[3,2-e]indol-4-il) O-(4-((23S,26S)-1-(2,5-dioxo-2,5-di-hidro-1H-pirrol-1-il)-23-isopropil-21,24-dioxo-26-(3-ureidopropil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22,25-diazaeptacosan-27-amido)benzil)etano-1,2-diilbis(metilcarbamoto)</p>	231	1641.65

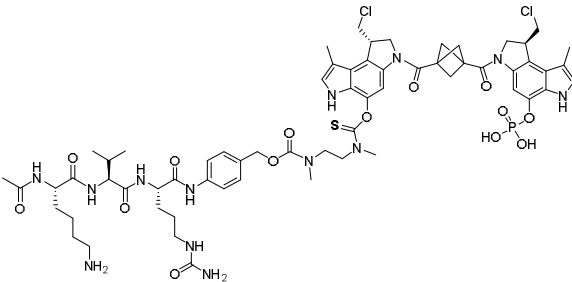
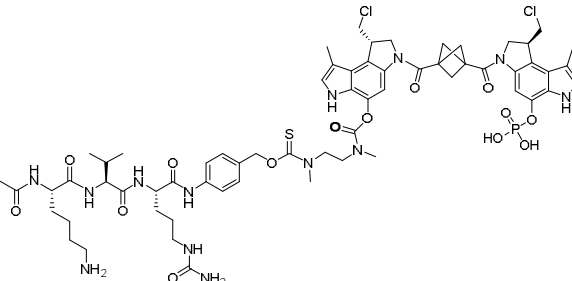
Tabela 5A Representative Thiocarbamato Linker Payoads			
ID	Estrutura	Método de síntese sugerido	M/S (previstos)
320	 <p>4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-acetamido-6-aminoexanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzil(2-((((S)-8-(clorometil)-6-(3-((S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,2,3,6-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-3-carbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carbonil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il)óxi)carbonotioil)(metil)amino)etil)(metil)carbamato</p>	237	1377.49
321	 <p>(S)-8-(clorometil)-6-(3-((S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,2,3,6-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-3-carbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carbonil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il (2-((((4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-acetamido-6-aminoexanamido)-3-metilbutanamido)-5- ureidopentanamido)benzil) óxi)carbonotioil)(metil)amino)etil)(metil)carbamato</p>	237	1377.49

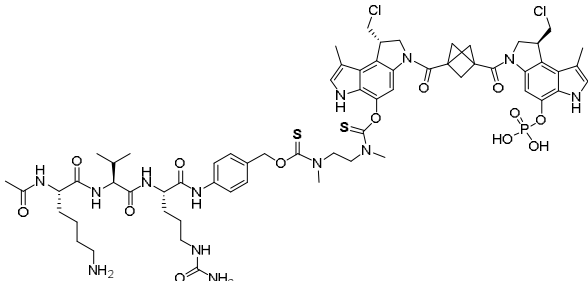
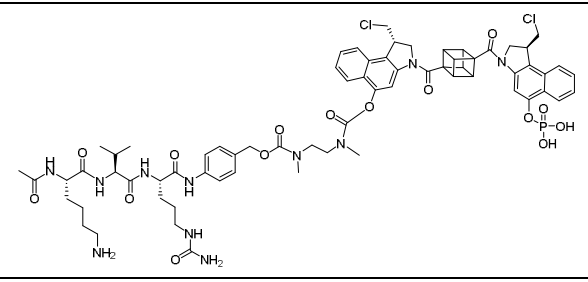
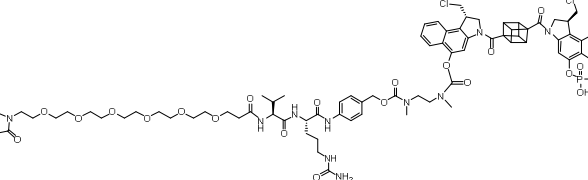
Tabela 5A Representative Thiocarbamato Linker Payoads			
ID	Estrutura	Método de síntese sugerido	M/S (previstos)
322	 <p>O-(4-((S)-2-((S)-2-((S)-2-acetamido-6-aminoexanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzil) O'-((S)-8-(clorometil)-6-(3-((S)-1-(clorometil)-8-metil-5-(fosfonoóxi)-1,2,3,6-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-3-carbonil)biciclo[1.1.1]pentano-1-carbonil)-1-metil-3,6,7,8-tetra-hidropirrolo[3,2-e]indol-4-il)etano-1,2-diilbis(metilcarbamotioato)</p>	237	1393.47

Tabela 5B Cargas de ligante de Cubano Representativas			
ID	Estrutura	Método de síntese	M/S (previstos)
323		237	1392.5 [M+H] ⁺
324		231	1636.1 [M+H] ⁺

[00683] Condições HPLC e LC-MS Usadas para a Análise

[00684] *Protocolo A*: Coluna: Waters Acquity UPLC HSS T3, 2.1 mm x 50 mm, C18, 1.7µm; Fase móvel A: : 0.1% ácido fórmico em água (v/v); Fase móvel B: 0.1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v);

Gradiente: 5% B ao longo de 0.1 min, 5% a 95% B ao longo de 0.9 min, 95% B ao longo de 0.1 min; Taxa de vazão: 1.25 mL/min. Temperatura: 60 °C; Detecção: 200-450nm; faixa MS (+) 10 0-2000 Dáltons; Volume de injeção: 5 µL; Instrumento: Waters Acquity.

[00685] *Protocolo B:* Coluna: Waters Acquity UPLC HSS T3, 2.1 mm x 50 mm, C18, 1.7µm; Fase móvel A: : 0.1% ácido fórmico em água (v/v); Fase móvel B: 0.1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v); Gradiente: 5% B ao longo de 0.1 min, 5% a 95% B ao longo de 2.5 min, 95% B ao longo de 0.35 min; Taxa de vazão: 1.25 mL/min. Temperatura: 60 °C; Detecção: 200-450nm; faixa MS (+) 100-2000 Dáltons; Volume de injeção: 5 µL; Instrumento: Waters Acquity.

[00686] *Protocolo C:* Coluna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3.0 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.1% ácido fórmico em água (v/v); Fase móvel B: 0.1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v); Gradiente: 50% B ao longo de 1.5 min, 50% a 100% B ao longo de 6.5 min, depois 100% B ao longo de 3 min; Taxa de vazão: 0.75 mL/min. Temperatura: 45 °C; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Volume de injeção: 10 µL; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.

[00687] *Protocolo D:* Coluna: Phenomenex Luna C18 PFP(2), 150 x 3.0 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.1% ácido fórmico em água (v/v); Fase móvel B: 0.1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v); Gradiente: 0% a 5% B ao longo de 1.5 min, 5% a 100% B ao longo de 8.5 min, depois 100% B ao longo de 2 min; Taxa de vazão: 0.75 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Volume de injeção: 10 µL; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.

[00688] *Protocolo E:* Coluna: Phenomenex Luna C18 PFP(2), 150 x 3.0 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.1% ácido fórmico em água (v/v); Fase móvel B: 0.1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v); Gradiente: 5% B ao longo de 1.5 min, 5% a 100% B ao longo de 8.5 min, depois 100% B

ao longo de 2 min; Taxa de vazão: 0.75 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Volume de injeção: 10 µL; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.

[00689] *Protocolo F:* Coluna: Xtimate C18, 30 x 2.1 mm, 3 µm; Fase móvel A: 0.037% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.037% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 10% B ao longo de 0.1 min, 10% a 80% B ao longo de 3 min, depois 80% B ao longo de 0.1 min; Taxa de vazão: 1.5 mL/min. Temperatura: 40°C; Detecção: DAD 220 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Volume de injeção: 3 µL; Instrumento: Shimadzu.

[00690] *Protocolo G:* Coluna: Xtimate C18, 30 x 2.1 mm, 3 µm; Fase móvel A: 0.037% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.037% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 10% B ao longo de 0.1 min, 10% a 80% B ao longo de 3 min, depois 80% B ao longo de 0.1 min; Taxa de vazão: 1.5 mL/min. Temperatura: 40°C; Detecção: DAD 220 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Volume de injeção: 3 µL; Instrumento: Shimadzu.

[00691] *Protocolo H:* Coluna: Xtimate C18, 30 x 2.1 mm, 3 µm; Fase móvel A: 0.037% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.037% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 0% B ao longo de 0.1 min, 0% a 60% B ao longo de 2 min, depois 60% B ao longo de 0.1 min; Taxa de vazão: 1.5 mL/min. Temperatura: 40°C; Detecção: DAD 220 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Volume de injeção: 2 µL; Instrumento: Shimadzu.

[00692] Condições HPLC Usadas para Purificação

[00693] *Método A:* Coluna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.02% ácido fórmico em água; Fase móvel B: 0.02% ácido fórmico em acetonitrila; Gradiente: 40% B ao longo de 1.5 min, 40% a 100% B ao longo de 8.5 min, 100% B ao longo de 0.5 min; Taxa de vazão: 27 mL/min; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

[00694] *Método B:* Coluna: Phenomenex Luna PFP (2), 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.02% ácido fórmico em água; Fase móvel B: 0.02% ácido fórmico em acetonitrila; Gradiente: 30% B ao longo de 1.5 min, 30% a 60% B ao longo de 8.5 min, 60% B a 100% B ao longo de 0.5 min, 100% B ao longo de 2 min; Taxa de vazão: 27 mL/min; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

[00695] *Método C:* Coluna: Phenomenex Synergi Polar RP, 150 x 21.2 mm, 4 µm; Fase móvel A: 0.02% ácido fórmico em água; Fase móvel B: 0.02% ácido fórmico em acetonitrila; Gradiente: 20% B ao longo de 1.5 min, 20% a 50% B ao longo de 8.5 min, 50% B a 100% B ao longo de 0.5 min, 100% B ao longo de 2 min; Taxa de vazão: 27 mL/min; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

[00696] *Método D:* Coluna: Xtimate C18, 30 x 2.1 mm, 3 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 25% B ao longo de 1.5 min, 25% a 50% B ao longo de 25 min, depois 100% B ao longo de 5.0 min; Taxa de vazão: 90 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 220 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Instrumento: Shimadzu.

[00697] *Método E:* Coluna: LUNA C18, 250 x 50 mm, 10 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 25% B ao longo de 1.5 min, 25% a 55% B ao longo de 25 min, depois 100% B ao longo de 5.0 min; Taxa de vazão: 90 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 220 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Instrumento: Shimadzu.

[00698] *Método F:* Coluna: Phenomenex Luna C18(2), 250 x 50 mm, 10 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 35% a 65% B ao longo de 30 min, depois 100% B ao longo de 5.0 min; Taxa de vazão: 90

mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 220 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Instrumento: Shimadzu.

[00699] *Método G:* Coluna: Phenomenex Luna C18(2), 250 x 50 mm, 10 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 10% B ao longo de 1.5 min, 10% B a 55% B ao longo de 8.5 min, 55% B a 100% B ao longo de 0.5 min, depois mantida a 100% B por 1.5 min; Taxa de vazão: 27 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 RP Waters Fractional Lynx LCMS

[00700] *Método H:* Coluna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 10% B ao longo de 1.5 min, 10% B a 75% B ao longo de 8.5 min, depois 75% B a 100% B ao longo de 2.0 min; Taxa de vazão: 27 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 RP Waters Fractional Lynx LCMS.

[00701] *Método H1:* Coluna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 1% B ao longo de 1.5 min, 1% B a 100% B ao longo de 8.5 min, depois 100% B ao longo de 2.0 min; Taxa de vazão: 27 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 RP Waters Fractional Lynx LCMS.

[00702] *Método I1:* Coluna: Phenomenex Luna PFP (2), 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.02% TFA em água; Fase móvel B: 0.02% TFA em acetonitrila; Gradiente: 40% B ao longo de 1.5 min, 40% a 100% B ao longo de 8.5 min, 100% B ao longo de 2.0 min; Taxa de vazão: 27 mL/min; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 Waters FractionLynx LCMS.

[00703] *Método I2*: Coluna: Phenomenex Luna PFP (2), 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.02% TFA em água; Fase móvel B: 0.02% TFA em acetonitrila; Gradiente: 1% B ao longo de 1.5 min, 1% a 100% B ao longo de 8.5 min, 100% B ao longo de 2.0 min; Taxa de vazão: 27 mL/min; Detecção: DAD 215 nm, 254 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 Waters FractionLynx LCMS.

[00704] *Método J1*: Coluna: Phenomenex Synergi Polar RP, 150 x 21.2 mm, 4 µm; Fase móvel A: 0.02% TFA em água; Fase móvel B: 0.02% TFA em acetonitrila; Gradiente: 10% B ao longo de 1.5 min, 10% a 75% B ao longo de 8.5 min, 75% B a 100% B ao longo de 0.5 min, 100% B ao longo de 2 min; Taxa de vazão: 27 mL/min; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

[00705] *Método K1*: Coluna: Phenomenex Luna C18(2), 250 x 50 mm, 10 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 1% B ao longo de 1.5 min, 1% B a 75% B ao longo de 8.5 min, 75% B a 100% B ao longo de 0.5 min, depois mantida a 100% B por 1.5 min; Taxa de vazão: 27 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 RP Waters Fractional Lynx LCMS.

[00706] *Método L1*: Coluna: ChiralTech AD-H, 500 X 21.5 mm, 5 µm; Fase móvel A: CO₂ (v/v); Fase móvel B: metanol (v/v); Gradiente: condições Isocráticas 60% de CO₂, 40% de metanol; Taxa de vazão: 36 mL/min CO₂, 24 mL/min de metanol. Retro-pressão 100 bar; Detecção: DAD 210; Instrumento: Thar 80 (Waters).

[00707] *Método M*: Coluna: Phenomenex Synergi, 250 x 50 mm, 10 µm; Fase móvel A: 0.1% TFA em água; Fase móvel B: 0.1% TFA em acetonitrila; Gradiente: 40% a 70% B ao longo de 30 min, depois 95% B ao longo de 5.0 min; Taxa de vazão: 80 mL/min; Detecção: DAD

220, 254 nm; faixa MS (+) 100-1000 Dáltons; Instrumento: Shimadzu LC-20AP.

[00708] *Método N* Coluna: Phenomenex Luna Phenylhexyl 150 x 21.2 mm, 5 µm; Fase móvel A: 0.2% TFA em água (v/v); Fase móvel B: 0.2% TFA em acetonitrila (v/v); Gradiente: 35% B ao longo de 1.5 min, 35% B a 100% B ao longo de 18.5 min, depois 100% B ao longo de 2.0 min; Taxa de vazão: 27 mL/min. Temperatura: não controlada; Detecção: DAD 210-360 nm; faixa MS (+) 150-2000 Dáltons; Instrumento: 305 RP Waters Fractional Lynx LCMS.

Exemplificação de Conjugados de fármaco de anticorpo

[00709] *Protocolo A*: Procedimento geral para a conjugação de anticorpo com carga reticulante através de dissulfetos internos

[00710] Anticorpo IgG1 IL13Rα2-AB08-v1.0/1.0-humano [Pfizer, 12-13mg/mL de solução em Solução Fisiológica de tampão de Fosfato Dulbecco (DPBS, Lonza, pH 7.4)] ou anticorpo IgG1 VEGFR-1121B-humano [Pfizer, 19.3mg/mL de solução em Solução Fisiológica de tampão de Fosfato Dulbecco (DPBS, Lonza, pH 7.4)] foi reduzido com a adição de 2.9-3 equivalentes de cloridrato de tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP, 5mM solução em DPBS). A reação foi incubada a 37°C por 1-1.25 h e depois deixada resfriar até a temperatura ambiente. A conjugação foi realizada pela adição de 7 equivalentes de carga reticulante [10mM de solução em N,N-dimetilacetamida (DMA)]. A DMA adicional foi adicionada à mistura de reação para alcançar 10-15% (v/v) de componente solvente orgânico total na mistura de reação final. A reação foi incubada por 1 h em temperatura ambiente. Para os ADCs 1-5, depois de 1 h em temperatura ambiente, a carga reticulante em excesso foi temperada através da adição de 10 equivalentes de cisteína (20mM de solução em DPBS). A mistura de reação temperada foi envelhecida em temperatura ambiente por 15 min e depois armazenada a 4°C até ser purificada. Para os ADCs 6-14, depois de 1 h em tempe-

rature ambiente, a mistura de reação foi dessalgada através de colunas de dessalinização em gel GE Sephadex e eluente DPBS (pH7.4) e depois armazenada a 4°C até ser purificada. O material bruto foi purificado por cromatografia por exclusão de tamanho (SEC) usando o sistema GE AKTA Explorer com a coluna GE Superdex 200 (10/300 GL) e eluente DPBS (pH 7.4).

[00711] *Protocolo B:* Coluna: Agilent Poroshell 300SB-C8, 75 x 2.1 mm, 2.6 µm; Fase móvel A: 0.1% ácido fórmico em água (v/v); Fase móvel B: 0.1% ácido fórmico em acetonitrila (v/v); Gradiente: Condições Iniciais: 20% B a 45% B ao longo de 4 min; Taxa de vazão: 1.0 mL/min. Temperatura: 60 °C; Detecção: 220 nm; faixa MS (+) 400-2000Da; Volume de injeção: 10 µL; Instrumento: Agilent 1100 LC, Waters MicromassZQ MS. A deconvolução foi realizada usando MaxEnt1.

[00712] *Protocolo C:* Coluna: GE Superdex 200 (5/150 GL); Fase móvel: Solução fisiológica de tampão de fosfato (PBS, 1X, pH 7.4) com 2% de acetonitrila; Isocrático; Taxa de vazão: 0.25 mL/min. Temperatura: temperatura ambiente; Volume de injeção: 10 µL; Instrumento: Agilent 1100 HPLC.

[00713] *Protocolo D:* Preparação de ADC de transglutaminase, exemplificado para a carga reticulante AcLys-vc-MMAD ("Localização importa: sítio de conjugação modula a estabilidade e a farmacocinética de conjugados de fármaco de anticorpo", Chem Biol. 2013, 20, 161-7). Para a conjugação de C16-HC e C16-LC em AcLys-vcMMAD, o anticorpo foi ajustado a 5 mg/mL em tampão contendo 25 mM de Tris-HCl em pH 8.0 e 150 mM de NaCl, AcLys-vc-MMAD foi adicionado em um excesso molar tanto de 5 vezes (C16-HC) ou 10 vezes (C16-LC) sobre o anticorpo e a reação enzimática iniciada pela adição de 1% (p/v) de (C16-HC) ou 2% (p/v) de (C16-LC) transglutaminase bacteriana (Ajinomoto Activa TI, Japan).

Tabela 6A Conjugados de fármaco de anticorpo	
ID	Estrutura
ADC5	
ADC6	
ADC7	
ADC8	

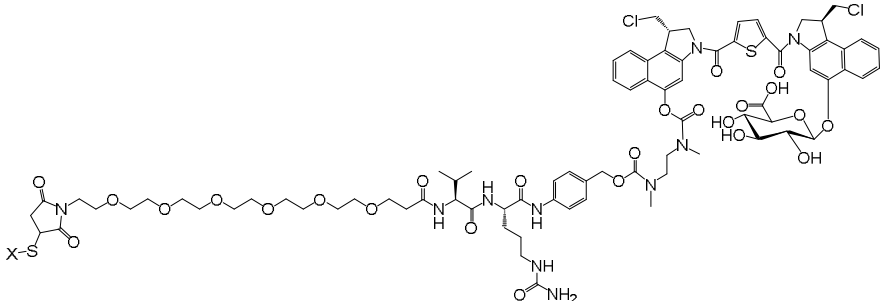
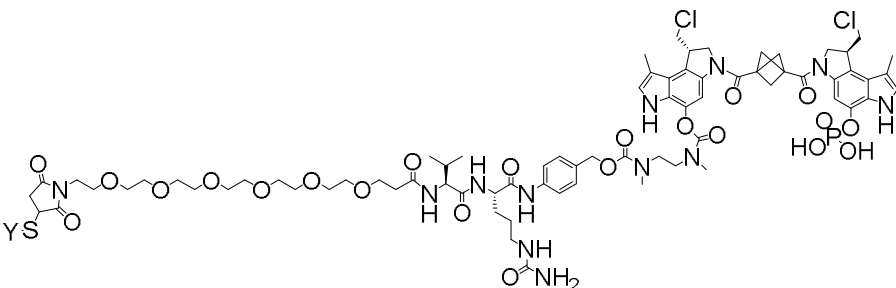
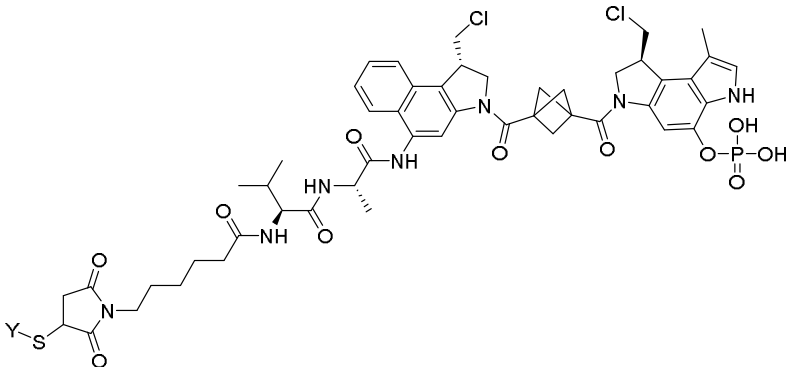
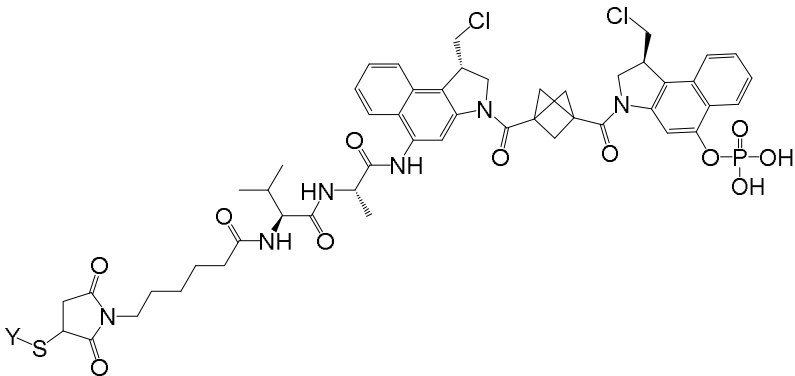
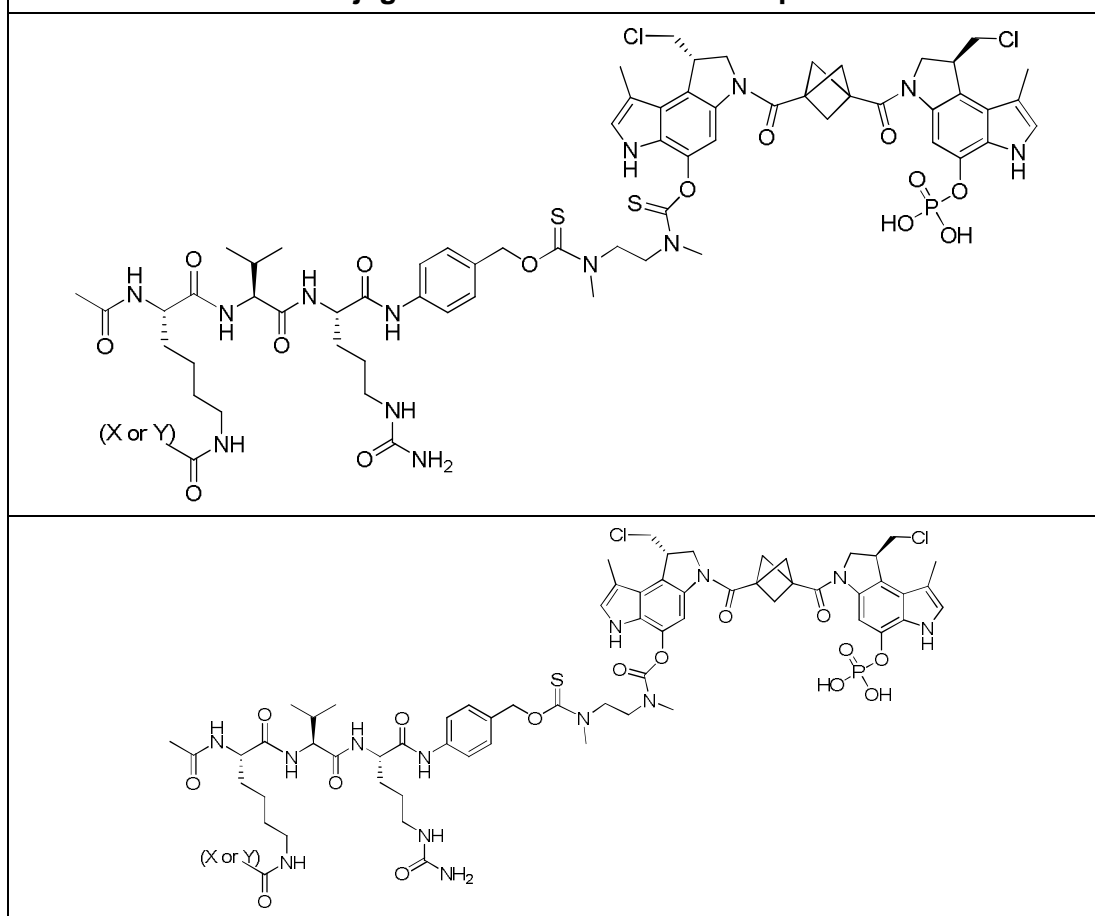
Tabela 6A Conjugados de fármaco de anticorpo	
ID	Estrutura
ADC9	
ADC10	
ADC11	
ADC12	

Tabela 6A Conjugados de fármaco de anticorpo	
ID	Estrutura
ADC13	
ADC14	

[00716] Na tabela acima, "X e Y" indicam um anticorpo. Os ADCs exemplificados foram conjugados em um anticorpo IL13 (anticorpo IgG1 IL13R α 2-AB08-v1.0/1.0-humano) conforme denotado por anticorpo X e VEGF VEGFR-1121B-hG1 conforme denotado por Y.

Tabela 6B Conjugados de fármaco de anticorpo adicionais	

Tabela 6B Conjugados de fármaco de anticorpo adicionais

Tabela 6B Conjugados de fármaco de anticorpo adicionais

[00717] Na tabela acima, "X e Y" indicam um anticorpo. Os ADCs exemplificados são conjugados em um anticorpo IL13 (anticorpo IgG1 IL13R α 2-AB08-v1.0/1.0-humano) conforme denotado por X e anticorpo VEGF VEGFR-1121B-hG1 conforme denotado por Y.

ADCs Exemplificados – Dados Analíticos

Tabela 7 – Dados Analíticos de ADC				
ID do ADC	ID da carga reticulante	Peso molecular da carga reticulante ou massa Δ teórico	Espectro de Massa: SEC-HPLC tempo de retenção e massa Δ de HPLC para a porção de cadeia leve (LC)	Carga ou fármaco por razão de anticorpo (DAR)
ADC1	223	1618	SEC (Protocolo C): 6.352 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1619	4.0
ADC2	189	1545	SEC (Protocolo C): 6.388 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1545	2.7

Tabela 7 – Dados Analíticos de ADC				
ID do ADC	ID da carga reticulante	Peso molecular da carga reticulante ou massa Δ teórico	Espectro de Massa: SEC-HPLC tempo de retenção e massa Δ de HPLC para a porção de cadeia leve (LC)	Carga ou fármaco por razão de anticorpo (DAR)
ADC3	298	1630	SEC (Protocolo C): 6.276 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1631	5.2
ADC4	299	1706	SEC (Protocolo C): 6.331 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1707	3.5
ADC5	303	1620	SEC (Protocolo C): 6.323 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1621	3.3
ADC6	231	1607	SEC (Protocolo C): 6.606 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1609	3.2
ADC7	266	1032	SEC (Protocolo C): 6.637 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1032	3.9
ADC8	279	1029	SEC (Protocolo C): 6.639 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1030	4.1
ADC9	278	1713	SEC (Protocolo C): 5.779 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1716	5.1
ADC10	231	1607	SEC (Protocolo C): 6.567 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1609	3.3
ADC11	266	1032	SEC (Protocolo C): 6.590 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1032	4.6
ADC12	279	1029	SEC (Protocolo C): 6.582 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1030	4.5
ADC13	278	1713	SEC (Protocolo C): 5.577 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1718	4
ADC14	294	1578	SEC (Protocolo C): 6.491 min; HPLC (Protocolo B): Massa LC Δ = 1578	3.1

[00718] Os procedimentos experimentais para a avaliação biológica

de cargas e conjugados de fármaco de anticorpo

Linhagens celulares

[00719] As linhagens celulares de cancer foram obtidas a partir de ATCC (Manassas, VA). N87 (carcinoma gástrico humano derivado de sítio hepático metastático). HL60 (leucemia), A375 (melanoma) e HUVEC (células endoteliais da veia umbilical humana) foram cultivadas em meio RPMI 1640. Todos os meios foram suplementados com 10% de soro bovino fetal, 1% de piruvato de sódio e 1% de L-glutamina (Invitrogen, Grand Island, NY). As células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) foram obtidas da Lonza (Allendale, NJ) e mantidas em meio de EGM2 suplementado com EGM-2 SingleQuots (Lonza # CC-4176). Todas as células foram mantidas em uma incubadora humidificada (37°C, 5% de CO₂).

Procedimento de Ensaio de Citotoxicidade para Cargas

[00720] As células em 100 µl de meio foram cultivadas em uma placa de 96 poços. As linhagens celulares de câncer tratadas com os compostos indicados através da adição de 50 µl de estoques de 3X em duplicata em concentrações de 10°. As células foram incubadas com compostos por quatro dias, depois 30 µl de solução CellTiter® 96 AQueous One MTS (Promega Cat # G3582) foram adicionados às células incubadas 1.5 hr a 37°C, depois a absorvância medida a 490 nm em uma leitora de placas Victor (Perkin Elmer, Waltham, MA). A viabilidade celular relativa foi determinada como uma porcentagem de poços de controle não tratados. Os valores IC₅₀ foram calculados usando o modelo de logística de quatro parâmetros #203 com XLfit v4.2 (IDBS, Guildford, Surry, UK).

Procedimento de Ensaio de Citotoxicidade para ADCs

[00721] Dia 0: as células em 100ul de meio complete em 96 placas escuras de fundo claro plano e cultivadas O/N. Dia 1: adicionar 50ul de compostos de teste titulados 3X para ter o volume final de 150ul e a

cultura por 72 horas a 370°C, 5% CO₂. Dia 4: adicionar 50ul de Cell TiterGlo em todos os poços, colocada em vórtex por 20-30min, lida com Victor 3 sob programa luminescente. Análise de Dados: A sobrevivência % é calculada como 100 X (leituras de cada ponto de dados de BKG) / ave da célula apenas ave de controle de BKG.

[00722] A tabela abaixo prove dados de IC₅₀ para as cargas selecionadas da presente invenção.

Tabela 8 – Dados de Carga IC₅₀		
Número do composto	N87 IC₅₀ (nM)	HL-60 IC₅₀ (nM)
13	0.138	0.014
16	1.761	0.163
18	173.740	2.188
20	296.612	1.624
23	0.252	0.072
26	10.000	-
29	0.009	<0.001
32	0.052	0.005
35	1.210	-
38	10.000	-
40	1.882	0.177
44	10.000	5.292
48	12.163	1.754
53	-	0.012
56	100.000	6.934
60	10.000	-
65	0.554	0.004
68	0.033	-
71	0.085	-
74	76.494	7.488

Tabela 8 – Dados de Carga IC50		
Número do composto	N87 IC50 (nM)	HL-60 IC50 (nM)
79	7.962	0.496
82	3.242	0.359
85	0.053	0.005
88	0.502	0.022
91	0.057	0.004
97	0.222	0.009
108	3.981	0.431
109	2.296	0.095
115	1.439	0.015
117	0.004	-
119	0.004	-
123	0.003	-
126	0.004	-
130	1.804	0.227
134	-	0.099
135	0.019	0.005
136	0.003	0.005
141	12.689	0.361
142	100.000	10.000
143	100.000	10.000
144	>10.000	3.004
145	0.130	0.051
146	3.102	-
147	0.017	0.003
149	0.132	0.007
152	0.278	0.008
153	4.474	
154	0.026	0.003

Tabela 8 – Dados de Carga IC50		
Número do composto	N87 IC50 (nM)	HL-60 IC50 (nM)
156	10.000	61.079
157	10.000	77.406
158	14.334	4.911
159	2.389	0.045
160	12.692	-
161	10.000	27.250
162	0.749	0.020
163	6.895	0.179
164	-	0.057
165	8.259	0.107
166	5.689	0.659
167	10.000	1.451
168	-	0.097
169	9.821	0.388
170	0.005	-
171	1.554	0.131
172	13.800	0.474
173	13.097	0.169
174	87.918	1.971
175	-	11.843
176	26.413	0.199
177	2.125	0.196
178	0.484	0.036
179	172.553	14.322
180	0.425	0.048
181	0.005	-

[00723] A tabela abaixo provê dados de IC50 para os ADCs selecionados da presente invenção.

Tabela 9 – Dados de IC50 de ADC		
ID	A375 IC50 ng/ml	HUVEC IC50 ng/ml
ADC1	0.15	-
ADC2	6.36	-
ADC3	2.64	-
ADC4	0.14	-
ADC5	0.14	-
ADC6	0.8	-
ADC7	2.0	-
ADC8	1.8	-
ADC9	0.2	-
ADC10	-	9.4
ADC11	-	137
ADC12	-	7655
ADC13	-	5.92
ADC14	-	0.88

[00724] O desenho abaixo ilustra como a carga é liberada após a administração ao paciente e após a clivagem do ligante do ADC, exemplificado com um tipo de ligante. Várias espécies são formadas depois da liberação do ligante que se interconvertem no meio biológico. Todas as espécies formadas são reivindicadas como parte desta invenção e se referem à fórmula geral $F^1-L^1-T-L^2-F^2$.

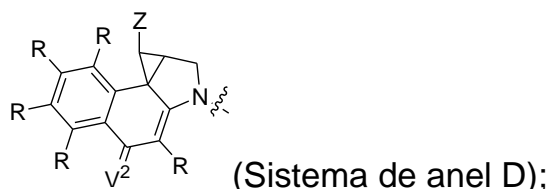
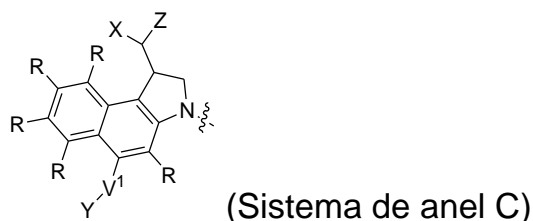
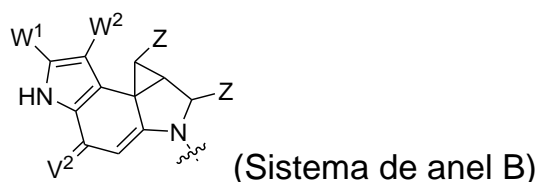
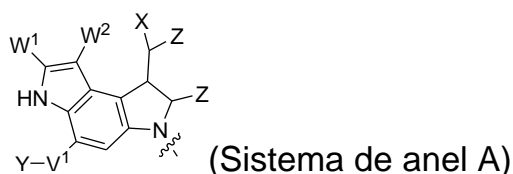
REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (I)



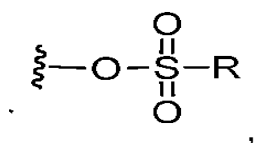
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

F¹ e F² são, cada um, selecionados a partir dos sistemas de anel A, B, C e D:



cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se juntam para formar um anel ou anéis, e em que dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂

ou -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;
 cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;
 cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;
 W¹ e W² são cada independentemente H, ou -C₁-C₅ alquila, para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;
 cada X é independentemente -OH, -O-acila, azido, halo, cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou

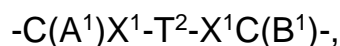


para cada sistema de anel no qual X aparece;
 cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₆ alquil-R^A, -C(O)R^A, -C(S)R^A, -C(O)OR^A, -S(O)₂OR^A, -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -PO(OR^A)₂, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, em que a dita -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

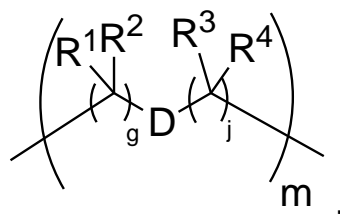
cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H e -C₁-C₈ alquila, e em que a dita C₁-C₈ alquila é opcionalmente substituída com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

L¹ e L² são, cada um independentemente, uma ligação direta;

T é selecionado a partir de:



em que T^2 é:

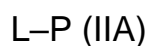


em que cada X^1 é independentemente uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada independentemente $=O$,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano, em que o dito biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído por $-R^E$, $-C(O)R^E$, $-C(O)OR^E$, $-N(R^E)_2$, $-N(R)C(O)R^E$ ou $-N(R)C(O)OR^E$, e D é adicionalmente opcionalmente substituído por 1 ou 2 R , e

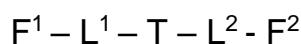
em que cada R^E é independentemente selecionado do grupo consistindo em H , $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, $-ar$ alquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, e $-C(O)$ -halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R .

2. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (IIA):



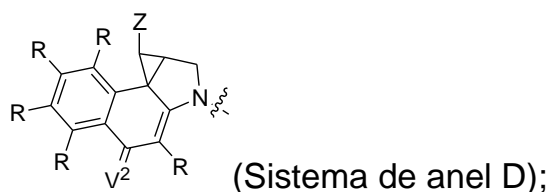
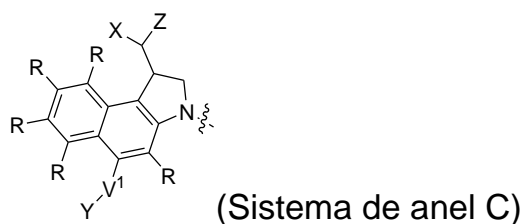
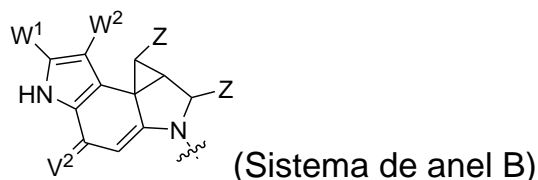
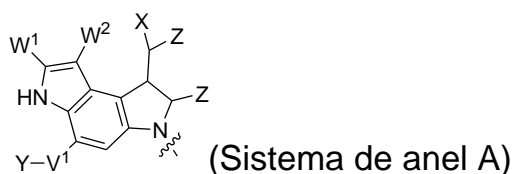
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

P é:



em que:

F^1 e F^2 são, cada um, selecionados a partir dos sistemas de anel A, B, C e D:



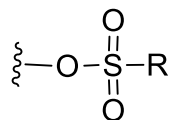
cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se juntam para formar um anel ou anéis, e em que dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ ou -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

W¹ e W² são cada independentemente H, ou -C₁-C₅ alquila, para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

cada X é independentemente selecionado a partir de -OH, -O-acila, azido, halo, cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou



para cada sistema de anel no qual X aparece;

cada Y é independentemente selecionado a partir de uma ligação, H, -C(O)R^A, -C(S)R^A, -C(O)OR^A, -S(O)₂OR^A, -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -P(O)(OR^A)₂ para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir de H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, -C₁-C₂₀ alquilenos, -C₁-C₈ heteroalquilenos, -C₆-C₁₄ arilenos, aralquilenos, -C₁-C₁₀ heterociclo, -C₃-C₈ carbociclo e -C₁-C₂₀ alquilN(R)-, e R^F onde dito R^A é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, e em que um Y é divalente e está ligado ao L,

R^F é -N(R⁶)QN(R⁵)C(O)- e está ligado ao L na carbonila adjacente N(R⁵), em que R⁵ e R⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila e -C₃-C₈ carbociclila, ou R⁵ ou R⁶ se unem com um carbono substituído em Q para formar um anel -C₁-C₁₀ heterocíclico ou anel -C₆-C₁₄ heteroarila ou R⁵ e R⁶ se unem em conjunto para formar um sistema de anel -C₁-C₁₀ heterocíclico ou -C₆-C₁₄ heteroarila e onde Q é -C₁-C₈ alquilenos-, -C₁-C₈ heteroalquilenos-, -C₆-C₁₄ arilenos-, -aralquilenos-, -C₁-C₁₀ heterociclo- ou -C₃-C₈ carbociclo-, em que Q, R⁵ e R⁶ são cada independentemente opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo

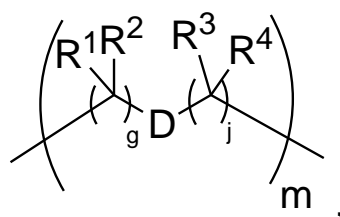
consistindo em H e -C₁-C₈ alquila, em que dita C₁-C₈ alquila é, cada uma, opcionalmente substituída com de 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

L¹ e L² são, cada um independentemente, uma ligação direta,

T é selecionado a partir de:

-C(A¹)X¹-T²-X¹C(B¹)-,

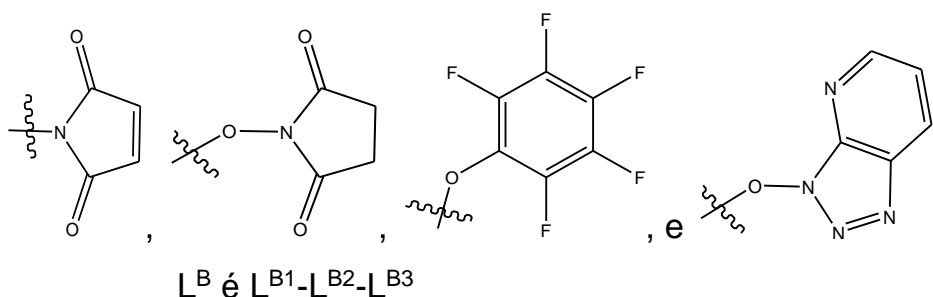
em que T² é:



em que cada X¹ é independentemente uma ligação, em que A¹ e B¹ são cada independentemente =O,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biclo(1.1.1.)pentano ou cubano, e em que o dito biclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído com -R^E, -C(O)R^E, -C(O)OR^E, -N(R^E)₂, -N(R)C(O)R^E ou -N(R)C(O)OR^E, e D é adicionalmente opcionalmente substituído com 1 a 2 R; e

em que cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂, e -C(O)-halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R; L é L^A-L^B-(L^C)₁₋₃, em que L^A é selecionado a partir do grupo consistindo em -halo, -N(R)₂, -CON(R)₂, -S-arila opcionalmente substituída com -NO₂ ou -CON(R)₂, -S-heteroarila opcionalmente substituída com -NO₂, alquil-SO₂-heteroarila, arilaSO₂-heteroarila-

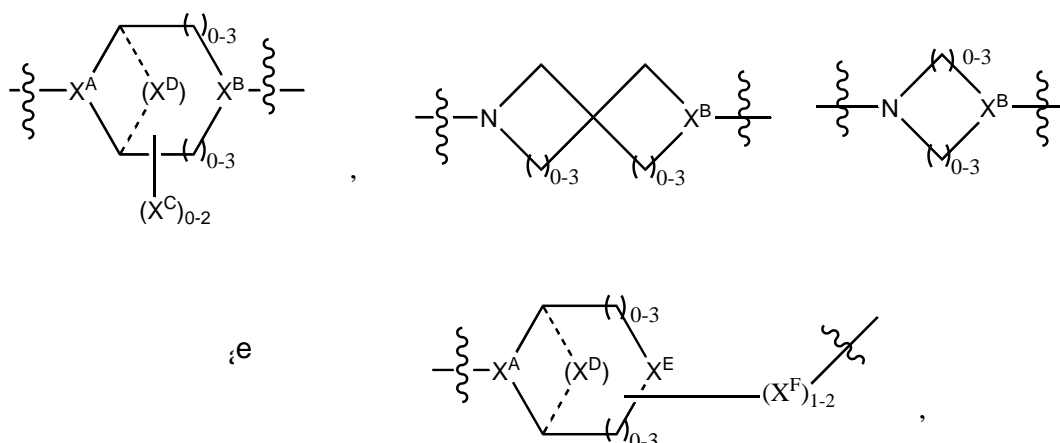


em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionado a partir do grupo consistindo em -C(O)-, -C(S)-, -C(O)NR-, -C(O)C₁-C₆alquil-, -C(O)NRC₁-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C(O)C₁-C₆alquilNRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-C(O)-, -C₁-C₆alquil-S-S-C₁-C₆alquilNRC(O)CH₂-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)CH₂-, -C(O)C₁-C₆alquil-NRC(O)C₁-alquil-, -N=CR-fenil-O-C₁-C₆alquil-, -N=CR-fenil-O-C₁-C₆alquil-C(O)-, -C(O)-C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil-fenil(NR-C(O)C₁-C₆alquil)₁₋₄-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-NRC(O)C₁-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil-, -S-, -C(O)-CH(NR-C(O)C₁-C₆alquil)-C₁-C₆alquil- e (-CH₂-CH₂-O)₁₋₂₀,

em que L^{B2} é AA₀₋₁₂, em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural, ou -(CR¹⁵)_o-S-S-(CR¹⁵)_p, em que o e p são cada um, independentemente, um inteiro de 1 a 20,

L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou ausente;

L^C é ausente ou independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em -C₁-C₆alquilen-, -NRC₃-C₈-heterociclilNR-, -NRC₃-C₈-carbociclilNR-, -NRC₁-C₆alquilNR-, -NRC₁-C₆alquilen-, -S-, -NR-, -NRNR-, -O(CR₂)₁₋₄S-S(CR₂)₁₋₄N(R)-, -NRC₁-C₆-alquilenofenilenoNR-, -NRC₁-C₆alquilenofenilenoSO₂NR-, -OC₁-C₆alquilaS-SC₁-C₆alquilC(COOR)NR-, -NRC(COOR)C₁-C₆alquilS-SC₁-C₆alquilaO-,



em que

X^A é CR ou N ,

X^B é CH, CR(C(R)₂)₁₋₃NR, CR(C(R)₂)₁₋₃O, CR(C(R)₂)₁₋₃C(O)NR, CR-(C(R)₂)₁₋₃C(O)NRNR, CR(C(R)₂)₁₋₃SO₂NR, CR(C(R)₂)₁₋₃NRNR, CR(C(R)₂)₁₋₃NRC(O) ou N,

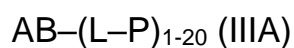
cada X^C é R,

cada X^D é -(CH₂)₁₋₅-, ou está ausente;

X^E é O, S, C(R)₂, C(R)(C(R)₂)₁₋₃-NR₂ ou NR e

cada X^F é (C(R)₂)₁₋₃-NR ou C(R)₂-(C(R)₂)₁₋₃-O.

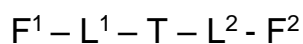
3. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (IIIA):



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

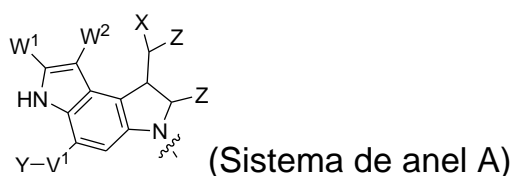
AB é um anticorpo;

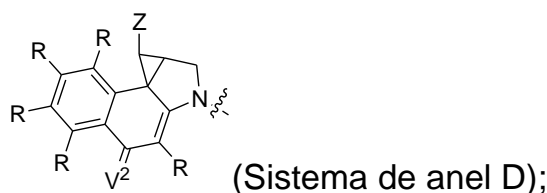
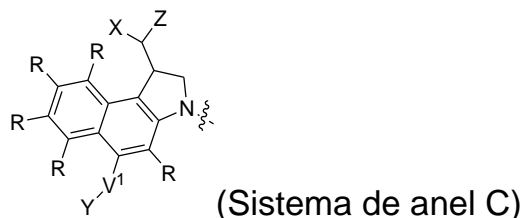
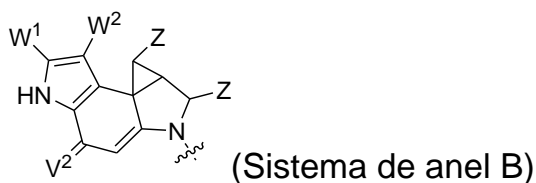
P é:



em que:

F^1 e F^2 são, cada um, selecionados a partir dos sistemas de anel A, B, C e D:





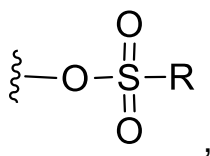
cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se juntam para formar um anel ou anéis, e em que dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ ou -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

W¹ e W² são cada independentemente H, ou -C₁-C₅ alquila, para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

cada X é independentemente selecionado a partir de -OH, -O-acila, azido, halo, cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou



para cada sistema de anel no qual X aparece;

cada Y é independentemente selecionado a partir de uma ligação, H, -C(O)R^A, -C(S)R^A, -C(O)OR^A, -S(O)₂OR^A, -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -P(O)(OR^A)₂ para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada

R^A é independentemente selecionado a partir de H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C₁-C₂₀ alquilaN(R)₂, -C₁-C₂₀ alquilenos, -C₁-C₈ heteroalquilenos, -C₆-C₁₄ arilenos, aralquilenos, -C₁-C₁₀ heterociclo, -C₃-C₈ carbociclo e -C₁-C₂₀ alquilN(R)-, e R^F onde o dito R^A é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, e em que um Y é divalente e é ligado ao L,

R^F é -N(R⁶)QN(R⁵)C(O)- e é ligado ao L na carbonila adjacente N(R⁵), em que R⁵ e R⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila e -C₃-C₈ carbociclila, ou R⁵ ou R⁶ se une com um carbono substituído em Q para formar um anel -C₁-C₁₀ heterocíclico ou anel -C₆-C₁₄ heteroarila ou R⁵ e R⁶ se unem em conjunto para formar um sistema de anel -C₁-C₁₀ heterocíclico ou -C₆-C₁₄ heteroarila e onde Q é -C₁-C₈ alquilenos-, -C₁-C₈ heteroalquilenos-, -C₆-C₁₄ arilenos-, -aralquilenos-, -C₁-C₁₀ heterociclo- ou -C₃-C₈ carbociclo-, em que Q, R⁵ e R⁶ são cada independentemente opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

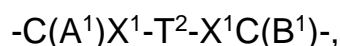
cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H e -C₁-C₈ alquila, sendo cada um opcionalmente substituídos com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a

partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

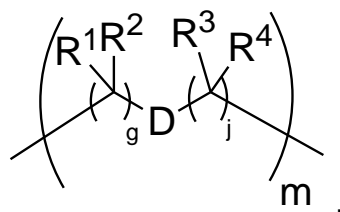
L^1 e L^2 são, cada um independentemente, uma ligação direta,

em que cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, -arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, e $-C(O)$ -halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R,

T é selecionado a partir de:



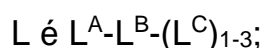
onde T^2 é:



em que cada X^1 é independentemente uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada independentemente $=O$,

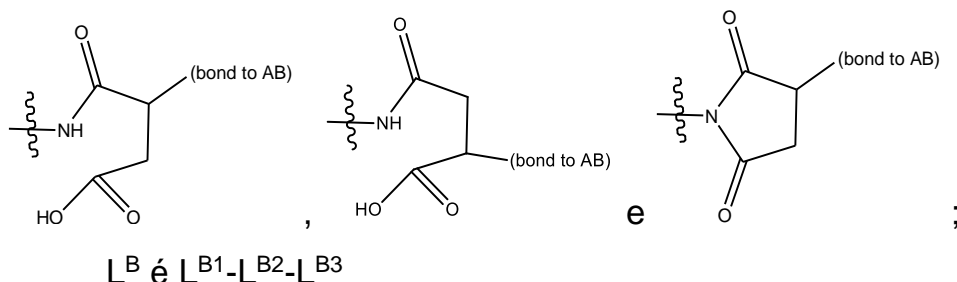
em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano, onde dito biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído com $-R^E$, $-C(O)R^E$, $-C(O)OR^E$, $-N(R^E)_2$, $-N(R)C(O)R^E$ ou $-N(R)C(O)OR^E$, e D é adicionalmente opcionalmente substituído por 1 a 2 R; e

em que cada R^E é independentemente selecionado do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, -arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, e $-C(O)$ -halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;



L^A é selecionado a partir de: uma ligação ao AB, $-NR$ -(ligação

ao AB), alquil-SO₂-heteroarila, arilSO₂-heteroarila-,

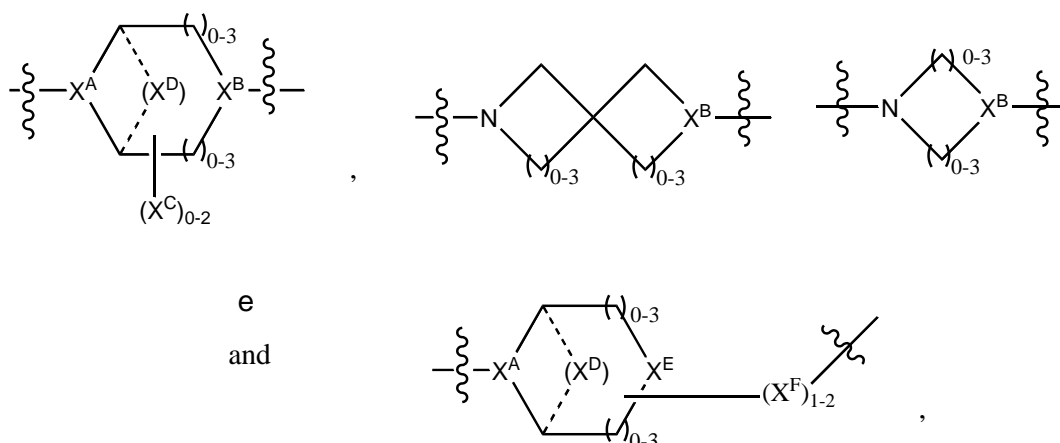


em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionado a partir do grupo consistindo em -C(O)-, -C(S)-, -C(O)NR-, -C(O)C₁-C₆alquil-, -C(O)NRC₁-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C(O)C₁-C₆alquilNRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-C(O)-, -C₁-C₆alquil-S-S-C₁-C₆alquilNRC(O)CH₂-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)CH₂-, -C(O)C₁-C₆alquil-NRC(O)C₁-C₆alquil-, -N=CR-fenila-O-C₁-C₆alquil-, -N=CR-fenila-O-C₁-C₆alquil-C(O)-, -C(O)-C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil-fenila(NR-C(O)C₁-C₆alquila)₁₋₄-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-NRC(O)C₁-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil-, -S-, -C(O)-CH(NR-C(O)C₁-C₆alquila)-C₁-C₆alquil- e (-CH₂-CH₂-O)₁₋₂₀;

L^{B2} é AA₀₋₁₂, em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural, ou -(CR¹⁵)_o-S-S-(CR¹⁵)_p em que o e p são, cada um, independentemente, um inteiro de 1 a 20,

L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou está ausente,

L^C está ausente ou é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em -C₁-C₆alquilen-, -NRC₃-C₈-heterocicliilNR-, -NRC₃-C₈-carbocicliilNR-, -NRC₁-C₆alquilNR-, -NRC₁-C₆alquilen-, -S-, -NR-, -NRNR-, -O(CR₂)₁₋₄S-S(CR₂)₁₋₄N(R)-, -NRC₁-C₆-alquilenofenilenoNR-, -NRC₁-C₆alquilenofenilenoSO₂NR-, -OC₁-C₆alquilaS-SC₁-C₆alquilaC(COOR)NR-, -NRC(COOR)C₁-C₆alquilaS-SC₁-C₆alquilaO-,



em que

X^A é CR ou N,

X^B é CH, $CR(C(R)_2)_{1-3}NR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}O$,
 $CR(C(R)_2)_{1-3}C(O)NR$, $CR-(C(R)_2)_{1-3}C(O)NRNR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}SO_2NR$,
 $CR(C(R)_2)_{1-3}NRNR$, $CR(C(R)_2)_{1-3}NRC(O)$ ou N,

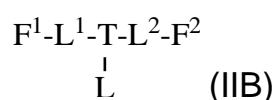
cada X^C é R;

cada X^D é $-(CH_2)_{1-5}-$, ou está ausente;

X^E é O, S, $C(R)_2$, $C(R)(C(R)_2)_{1-3}-NR_2$ ou NR, e

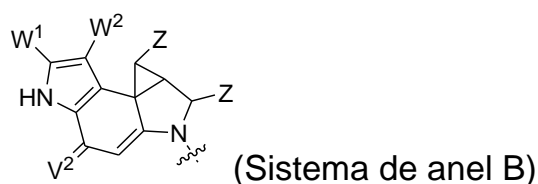
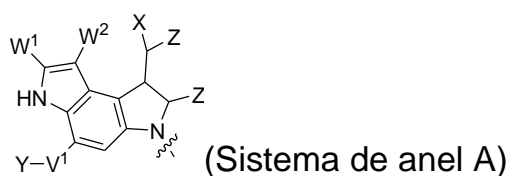
cada X^F é $(C(R)_2)_{1-3}-NR$ ou $C(R)_2-(C(R)_2)_{1-3}-O$.

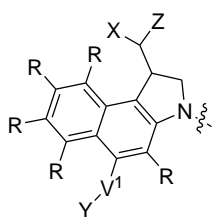
4. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (IIB):



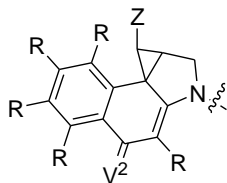
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

F^1 e F^2 são, cada um, selecionados a partir dos sistemas de anel A, B, C e D:





(Sistema de anel C)



(Sistema de anel D);

cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se juntam para formar um anel ou anéis, e em que dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionados a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ ou -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

W¹ e W² são cada independentemente H, ou -C₁-C₅ alquila, para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

cada X é independentemente -OH, -O-acila, azido, halo,

cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---O---S---R} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$, para cada sistema de anel no qual X aparece;

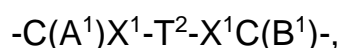
cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₆ alquil-

R^A -C(O) R^A , -C(S) R^A , -C(O)OR A , -S(O)₂OR A , -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -PO(OR A)₂, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, em que dita -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionado a partir de R;

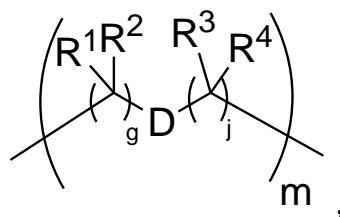
cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H e -C₁-C₈ alquila, e em que a dita C₁-C₈ alquila é opcionalmente substituídos com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

L¹ e L² são, cada um independentemente, uma ligação direta,

T é selecionado a partir de:



onde T² é:



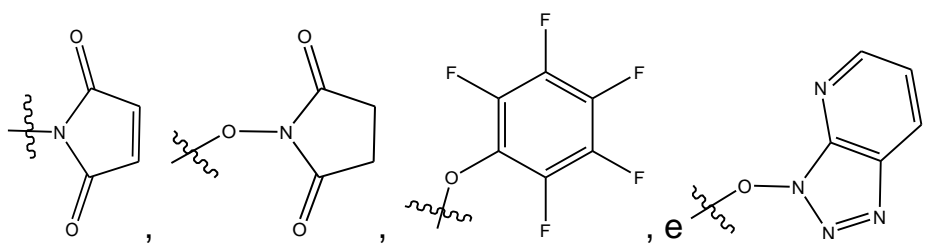
em que cada X¹ é independentemente uma ligação, em que A¹ e B¹ são cada independentemente =O,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano, em que o dito biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído por um ou mais membros do grupo selecionado de -N(R^E)C(O)- em que a carbonila é ligada a L, e -C(O)- em que a carbonila é ligada a L, e adicionalmente opcionalmente substituído por de 1 a 2 R;

onde cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, -arila, -aralquila, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, e $-C(O)$ -halo, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

L é $L^A-L^B-(L^C)_{1-3}$;

L^A é selecionado a partir de -halo, $-N(R)_2$, $-CON(R)_2$, -S-arila opcionalmente substituída com $-NO_2$ ou $-CONR_2$, -S-heteroarila opcionalmente substituída com $-NO_2$, alquil- SO_2 -heteroarila, aril SO_2 -heteroarila-,



L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$

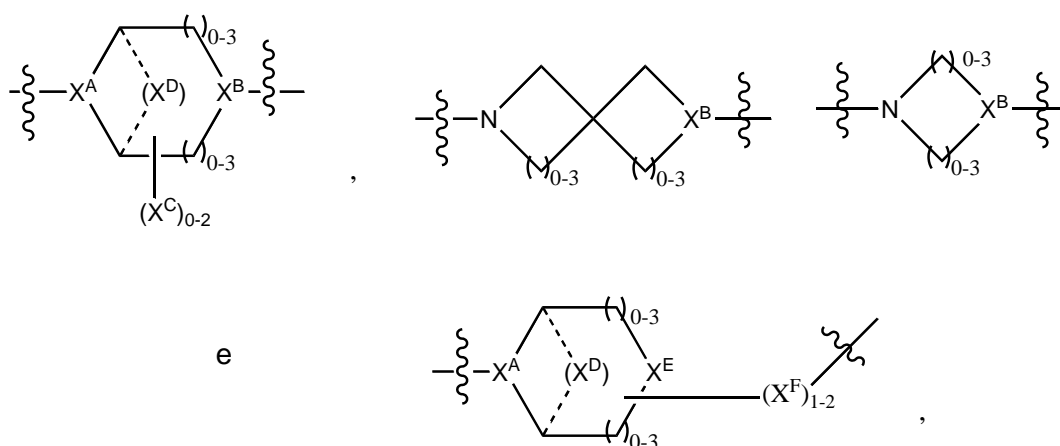
em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionado a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6$ alquil-, $-C(O)NRC_1-C_6$ alquil-, $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ -, $-C(O)C_1-C_6$ alquilNRC(O)-, $-C(O)C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ -, $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ -C(O)-, $-C_1-C_6$ alquil-S-S- C_1-C_6 alquilNRC(O)CH $_2$ -, $-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ NRC(O)CH $_2$ -, $-C(O)C_1-C_6$ alquil-NRC(O)C $_1-C_6$ alquil-, $-N=CR$ -fenil-O- C_1-C_6 alquil-, $-N=CR$ -fenil-O- C_1-C_6 alquil-C(O)-, $-C(O)-C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ NRC(O)-, $-C(O)C_1-C_6$ alquil-fenil(NR-C(O)C $_1-C_6$ alquil) $_{1-4}$ -, $-C(O)C_1-C_6$ alquil(OCH_2CH_2) $_{1-6}$ -NRC(O)C $_1-C_6$ alquil-, $-C_1-C_6$ alquil-, -S-, $-C(O)-CH(NR-C(O)C_1-C_6$ alquil)- C_1-C_6 alquil- e $(-CH_2-CH_2-O-)_{1-20}$; em que

L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural, ou $-(CR^{15})_o-S-S-(CR^{15})_p$ em que o e p são cada

um, independentemente, um inteiro de 1 a 20,

L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou está ausente;

L^C está ausente ou é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em -C₁-C₆alquilen-, -NRC₃-C₈-heterocicliilNR-, -NRC₃-C₈-carbocicliilNR-, -NRC₁-C₆alquilNR-, -NRC₁-C₆alquilen-, -S-, -NR-, -NRNR-, -O(CR₂)₁₋₄S-S(CR₂)₁₋₄N(R)-, -NRC₁-C₆-alquilenofenilenoNR-, -NRC₁-C₆alquilenofenilenoSO₂NR-, -OC₁-C₆alquilS-SC₁-C₆alquilC(COOR)NR-, -NRC(COOR)C₁-C₆alquilS-SC₁-C₆alquilo-,



em que

X^A é CR ou N,

X^B é CH, CR(C(R)₂)₁₋₃NR, CR(C(R)₂)₁₋₃O, CR(C(R)₂)₁₋₃C(O)NR, CR-(C(R)₂)₁₋₃C(O)NRNR, CR(C(R)₂)₁₋₃SO₂NR, CR(C(R)₂)₁₋₃NRNR, CR(C(R)₂)₁₋₃NRC(O) ou N;

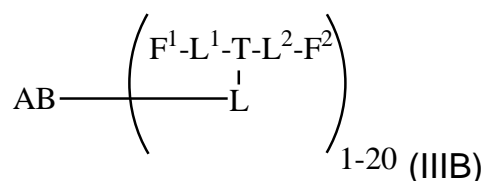
cada X^C é R;

cada X^D é -(CH₂)₁₋₅-, ou está ausente;

X^E é O, S, C(R)₂, C(R)(C(R)₂)₁₋₃-NR₂ ou NR, e

cada X^F é (C(R)₂)₁₋₃-NR ou C(R)₂-(C(R)₂)₁₋₃-O.

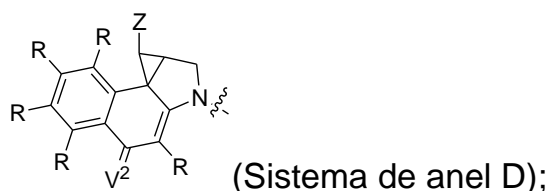
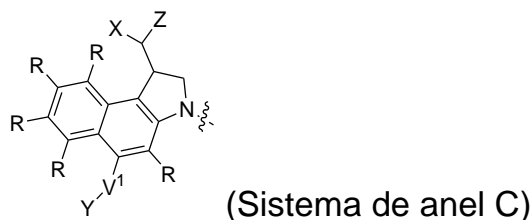
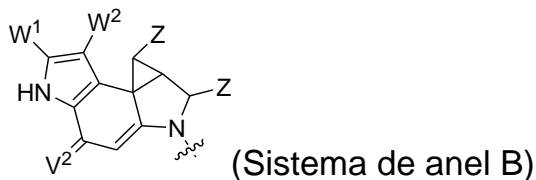
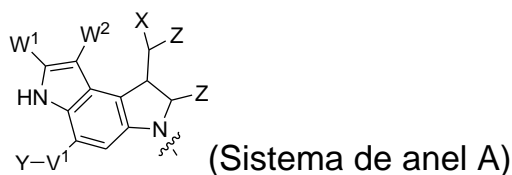
5. Composto, caracterizado pelo fato de que apresenta a fórmula (IIIB):



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

AB é um anticorpo;

F¹ e F² são, cada um, selecionados a partir dos sistemas de anel A, B, C e D:



cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₂-C₆ alquenila, -C₂-C₆ alquinila, halo, hidroxila, alcóxi, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈ alquila)₂, -NO₂, -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila, em que dois ou mais R opcionalmente se juntam para formar um anel ou anéis, e em que a dita -C₆-C₁₄ arila e -C₆-C₁₄ heteroarila são opcionalmente substituídas com 1 a 5 substituintes independentemente selecionado a partir de -C₁-C₁₀ alquila, -C₁-C₁₀ alcóxi, -halo, -C₁-C₁₀ alquiltio, -trifluorometila, -NH₂, -NH(C₁-C₈ alquila), -N(C₁-C₈

alquila)₂, -C₁-C₁₀ alquil-N(C₁-C₈ alquila)₂, -C₁-C₃ alquiltio, -NO₂ or -C₁-C₁₀ heterociclila, para cada sistema de anel no qual R aparece;

cada V¹ é independentemente uma ligação, O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

cada V² é independentemente O, N(R) ou S, para cada sistema de anel no qual V² aparece;

W¹ e W² são cada independentemente H, ou -C₁-C₅ alquila, para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

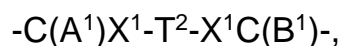
cada X é independentemente -OH, -O-acila, azido, halo, cianato, tiocianato, isocianato, tioisocianato, ou $\text{---O---}\overset{\text{O}}{\overset{\parallel}{\text{S}}}\text{---R}$, para cada sistema de anel no qual X aparece;

cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₆ alquil-R^A -C(O)R^A, -C(S)R^A, -C(O)OR^A, -S(O)₂OR^A, -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -PO(OR^A)₂, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A is independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, em que said -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

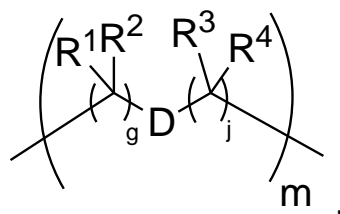
cada Z é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H e -C₁-C₈ alquila, e em que a dita C₁-C₈ alquila é opcionalmente substituídos com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, para cada sistema de anel no qual Z aparece;

L¹ e L² são, cada um independentemente, uma ligação direta,

T é selecionado a partir de:



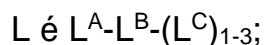
onde T^2 é:



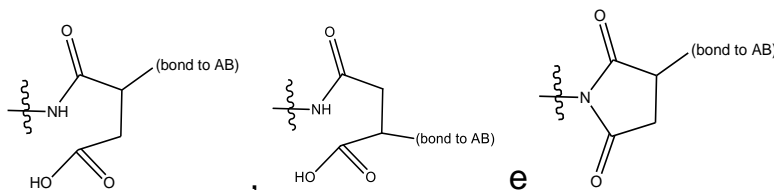
em que cada X^1 é independentemente uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada independentemente $=O$,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano, onde o dito biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído com um ou mais membros do grupo selecionado de $N(R^E)C(O)-$, onde a carbonila está ligada a L , e $-C(O)-$ onde a carbonila está ligada a L , e adicionalmente opcionalmente substituída por de 1 a 2 R ;

onde cada R^E é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H , $-C_1-C_8$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-arila$, $-aralquila$, $-C_1-C_{10}$ heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C(O)OC_1-C_8$ alquila, $-C(O)N(C_1-C_8 \text{ alquila})_2$, e $-C(O)-halo$, e em que cada R^E é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R ;



L^A é selecionado a partir de: uma ligação ao AB , $-NR-(\text{ligação ao } AB)$, $\text{alquil-SO}_2\text{-heteroarila}$, $\text{arilaSO}_2\text{-heteroarila-}$,



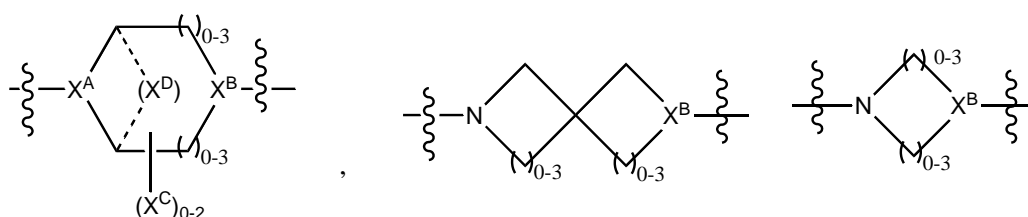
em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionados a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6\text{alquil-}$, $-C(O)NRC_1-C_6\text{alquil-}$

, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C(O)C₁-C₆alquilNRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil
I(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-C(O)-, -C₁-C₆alquil-
S-S-C₁-C₆alquilNRC(O)CH₂-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)CH₂-, -C
(O)C₁-C₆alquil-NRC(O)C₁₋₆alquil-, -N=CR-fenil-O-C₁-C₆alquil-
, -N=CR-fenil-O-C₁-C₆alquil-
C(O)-, -C(O)-C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil-
fenil(NR-C(O)C₁-C₆alquila)₁₋₄-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-NRC(O)C
1-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil-, -S-, -C(O)-CH(NR-C(O)C₁-C₆alquil)-C₁-
C₆alquil- e(-CH₂-CH₂-O-)₁₋₂₀; em que

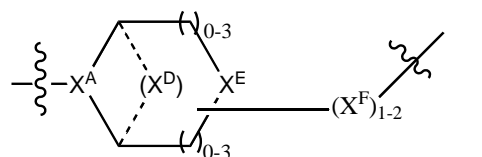
L^{B2} é AA₀₋₁₂, em que AA é um aminoácido natural, um
aminoácido não natural, ou -(CR¹⁵)_o-S-S-(CR¹⁵)_p em que o e p são cada
um, independentemente, um inteiro de 1 a 20,

L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou está ausente;

L^C está ausente ou é independentemente selecionado a
partir do grupo consistindo
em -C₁-C₆alquilaeno-, -NRC₃-C₈-heterocicliilNR-, -NRC₃-C₈-carbocicliilN
R-, -NRC₁-C₆alquilNR-, -NRC₁-C₆alquilen-, -S-, -NR-, -NRNR-, -O(CR
2)₁₋₄S-S(CR₂)₁₋₄N(R)-, -NRC₁-C₆-alquilenofenilenoNR-, -NRC₁-C₆alquile
nofenilenoSO₂NR-, -OC₁-C₆alquilS-SC₁-C₆alquilC(COOR)NR-, -NRC(C
OOR)C₁-C₆alquilS-SC₁-C₆alquilaO-,



e



em que

X^A é CR ou N,

X^B é CH, CR(C(R)₂)₁₋₃NR, CR(C(R)₂)₁₋₃O,

$\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{C}(\text{O})\text{NR}$, $\text{CR}-(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{C}(\text{O})\text{NRNR}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{SO}_2\text{NR}$,
 $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NRNR}$, $\text{CR}(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NRC}(\text{O})$ ou N;

cada X^{C} é R;

cada X^{D} é $-(\text{CH}_2)_{1-5}-$, ou está ausente;

X^{E} é O, S, $\text{C}(\text{R})_2$, $\text{C}(\text{R})(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NR}_2$ ou NR, e

cada X^{F} é $(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{NR}$ ou $\text{C}(\text{R})_2-(\text{C}(\text{R})_2)_{1-3}\text{O}$.

6. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que:

cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquila e $-\text{NH}_2$;

cada V^1 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

cada V^2 é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V^2 aparece;

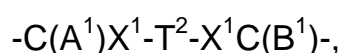
W^1 e W^2 são cada independentemente H, ou $-\text{C}_1\text{-C}_5$ alquila, para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

cada X é independentemente halo, para cada sistema de anel no qual X aparece;

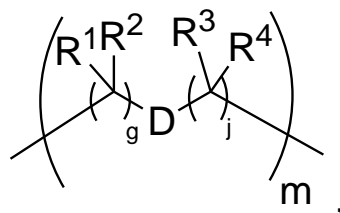
cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}})_2$, glicosila, $-\text{NO}_2$ e $-\text{PO}(\text{OR}^{\text{A}})_2$, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^{A} é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquila, $-\text{C}_1\text{-C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_3\text{-C}_8$ carbociclila e $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquilN(R)₂, em que a dita $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquila, $-\text{C}_1\text{-C}_8$ heteroalquila, $-\text{C}_3\text{-C}_8$ carbociclila e $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

L^1 e L^2 são, cada um independentemente, uma ligação direta; e

T é selecionado a partir de:



onde T^2 é:



em que cada X^1 é uma ligação, em que A^1 e B^1 são cada independentemente $=O$,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é bicilo(1.1.1.)pentano ou cubano, onde o dito biciclo(1.1.1.)petano ou cubano é opcionalmente substituído com $-NH_2$, $-N(R)C(O)H$ ou $-N(R)C(O)OH$.

7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 e 3, caracterizado pelo fato de que:

cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H , $-C_1-C_{20}$ alquila e $-NH_2$;

cada V^1 é independentemente O ou $N(R)$ para cada sistema de anel no qual V^1 aparece;

cada V^2 é independentemente O ou $N(R)$ para cada sistema de anel no qual V^2 aparece;

W^1 e W^2 são cada independentemente H , $-C_1-C_5$ alquila, $-C(O)OR$, ou $-C(O)NR_2$ para cada sistema de anel no qual W^1 e W^2 aparecem;

cada X é independentemente halo, para cada sistema de anel no qual X aparece;

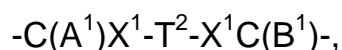
cada Y é independentemente selecionado a partir de uma ligação,

H , $-C(O)R^A$, $-C(S)R^A$, $-C(O)OR^A$, $-S(O)_2OR^A$, $-C(O)N(R^A)_2$, $-C(S)N(R^A)_2$, glicosila, $-NO_2$ e $-P(O)(OR^A)_2$ para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir de H , $-C_1-C_{20}$ alquila, $-C_1-C_8$ heteroalquila, $-C_6-C_{14}$ arila, aralquila, $-C_1-C_{10}$

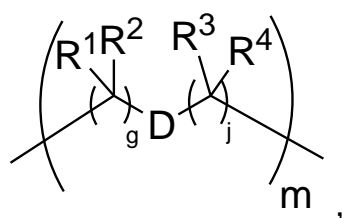
heterociclila, $-C_3-C_8$ carbociclila, $-C_1-C_{20}$ alquilN(R)₂, $-C_1-C_{20}$ alquilenos, $-C_1-C_8$ heteroalquilenos, $-C_6-C_{14}$ arilenos, aralquilenos, $-C_1-C_{10}$ heterociclo, $-C_3-C_8$ carbociclo e $-C_1-C_{20}$ alkylN(R)-, eR^F onde dito R^A é opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R, e em que um Y é divalente e é ligado ao L, R^F é $-N(R^6)QN(R^5)C(O)-$ e é ligado ao L na carbonila adjacente N(R⁵), em que R⁵ e R⁶ são, cada um independentemente, selecionados a partir do grupo consistindo em H, $-C_1-C_8$ alquila, e $-C_1-C_8$ heteroalquila, ou R⁵ ou R⁶ se unem com um carbono substituído em Q para formar um anel $-C_1-C_{10}$ heterocíclico ou $-C_6-C_{14}$ heteroarila ou R⁵ e R⁶ se unem em conjunto para formar um sistema de anel $-C_1-C_{10}$ heterocíclico ou $-C_6-C_{14}$ heteroarila e onde Q é $-C_1-C_8$ alquilenos-, $-C_6-C_{14}$ arilenos-, ou $-C_3-C_8$ carbociclo-, em que Q, R⁵ e R⁶ são cada independentemente opcionalmente substituído com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

L¹ e L² são, cada um independentemente, selecionados a partir de uma ligação direta; e

T é selecionado a partir de:



onde T² é:



em que cada X¹ é uma ligação, em que A¹ e B¹ são cada independentemente =O,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano, onde o dito biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído com $-NH_2$, $-N(R)C(O)H$ ou $-N(R)C(O)OH$.

8. Composto de acordo com a reivindicação 4 ou 5, caracterizado pelo fato de que:

cada R é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila e -NH₂;

cada V¹ é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V¹ aparece;

cada V² é independentemente O ou N(R) para cada sistema de anel no qual V² aparece;

W¹ e W² são cada independentemente H, -C₁-C₅ alquila, -C(O)OR, or -C(O)NR₂ para cada sistema de anel no qual W¹ e W² aparecem;

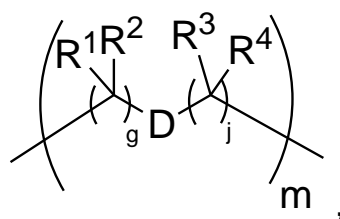
cada X é independentemente halo, para cada sistema de anel no qual X aparece;

cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C(O)R^A, -C(O)N(R^A)₂, glicosila, -NO₂ e -PO(OR^A)₂, para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, em que dita -C₁-C₂₀ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₃-C₈ carbociclila e -C₁-C₂₀ alquilN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R;

L¹ e L² são, cada um independentemente, uma ligação direta; e

T é -C(A¹)X¹-T²-X¹C(B¹)-,

onde T² é:

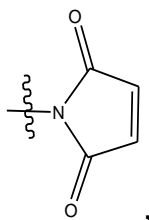


em que cada X¹ é uma ligação, em que A¹ e B¹ são cada independentemente =O,

em que g e j são, cada um, independentemente 0 e m é 1, e em que D é biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano, onde o dito biciclo(1.1.1.)pentano ou cubano é opcionalmente substituído com $-NH_2$, $-N(R)C(O)H$ or $-N(R)C(O)OH$.

9. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 e 4, caracterizado pelo fato de que:

L^A é selecionado a partir do grupo consistindo em -halo, $-N(R)_2$, $-CON(R)_2$, -S-arila opcionalmente substituída com $-NO_2$ ou $-CON(R)_2$, -S-heteroarila opcionalmente substituída com $-NO_2$, alquil- SO_2 -heteroarila, aril SO_2 -heteroarila-, e



L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$ em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionado a partir do grupo consistindo em $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(O)NR-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-$, $-C(O)NRC_1-C_6alquil-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C(O)C_1-C_6alquilNRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-$, $-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-C(O)-$, $-C_1-C_6alquil-S-S-C_1-C_6alquilNRC(O)CH_2-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)CH_2-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-NRC(O)C_1-C_6alquil-$, $-C(O)-C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}NRC(O)-$, $-C(O)C_1-C_6alquil-fenil(NR-C(O)C_1-C_6alquila)_{1-4}-$, $-C(O)C_1-C_6alquil(OCH_2CH_2)_{1-6}-NRC(O)C_1-C_6alquil-$, $-C_1-C_6alquil-$, $-S-$, $-C(O)-CH(NR-C(O)C_1-C_6alquil)-C_1-C_6alquil-$ e $-(CH_2-CH_2-O-)_{1-20}$, em que

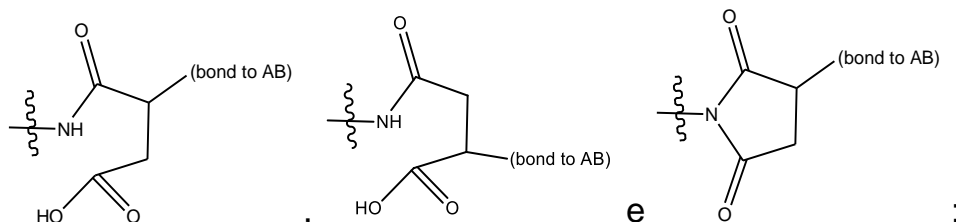
L^{B2} é AA_{0-12} , em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural ou $-(CR^{15})_o-S-S-(CR^{15})_p$, em que o e p são, cada um, independentemente um inteiro de 1 a 20, e

L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou ausente; e

L^C está ausente.

10. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 e 5, caracterizado pelo fato de que:

L^A é selecionado a partir de: uma ligação ao AB, -NR-(ligação ao AB), alquil-SO₂-heteroarila, arilSO₂-heteroarila-,



L^B é $L^{B1}-L^{B2}-L^{B3}$ em que L^{B1} está ausente ou é um ou mais componentes selecionado a partir do grupo consistindo em -C(O)-, -C(S)-, -C(O)NR-, -C(O)C₁-C₆alquil-, -C(O)NRC₁-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C(O)C₁-C₆alquilNRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-C(O)-, -C₁-C₆alquil-S-S-C₁-C₆alquilNRC(O)CH₂-, -C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)CH₂-, -C(O)C₁-C₆alquil-NRC(O)C₁-C₆alquil-,

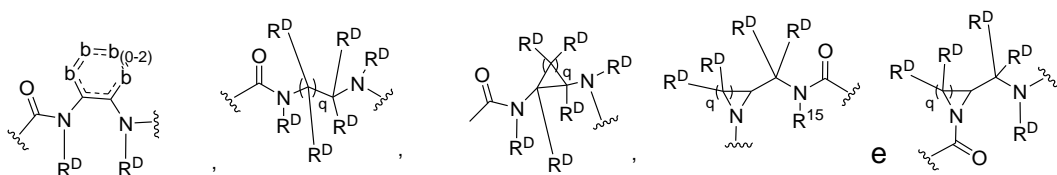
-C(O)-C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆NRC(O)-, -C(O)C₁-C₆alquil-fenil(NR-C(O)C₁-C₆alquila)₁₋₄-, -C(O)C₁-C₆alquil(OCH₂CH₂)₁₋₆-NRC(O)C₁-C₆alquil-, -C₁-C₆alquil-, -S-, -C(O)-CH(NR-C(O)C₁-C₆alquil)-C₁-C₆alquil- e (-CH₂-CH₂-O-)₁₋₂₀, em que

L^{B2} é AA₀₋₁₂, em que AA é um aminoácido natural, um aminoácido não natural, ou -(CR¹⁵)_o-S-S(CR¹⁵)_p em que o e p são cada um, independentemente, um inteiro de 1 a 20, e

L^{B3} é -PABA-, -PABC- ou ausente; e

L^C está ausente.

11. Composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3, caracterizado pelo fato de que R^F é selecionado a partir de:



em que q é de 1 a 10, e cada b é independentemente CR^D,

N, NR^D, O ou S; e

em que cada R^D é independentemente selecionado do grupo consistindo de H, -C₁-C₈ alquila, -C(O)-C₁-C₈ alquila, -C₁-C₈ heteroalquila, -C₆-C₁₄ arila, -aralquila, -C₁-C₁₀ heterociclila, -C₃-C₈ carbociclila, -C(O)OC₁-C₈ alquila, -C(O)N(C₁-C₈ alquila)₂ e -C(O)-halo, opcionalmente substituído por R^E.

12. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que cada V¹ é O, para cada sistema de anel no qual V¹ aparece; e cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C(O)N(R^A)₂, -C(S)N(R^A)₂, -PO(OR^A)₂ ou glicosila para cada sistema de anel no qual Y aparece, em que cada R^A é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, -C₁-C₂₀ alquila, e-C₁-C₂₀ alquilN(R)₂, e em que a dita -C₁-C₂₀ alquila, e -C₁-C₂₀ alquilaN(R)₂ são opcionalmente substituídas com 1 a 3 substituintes independentemente selecionados a partir de R.

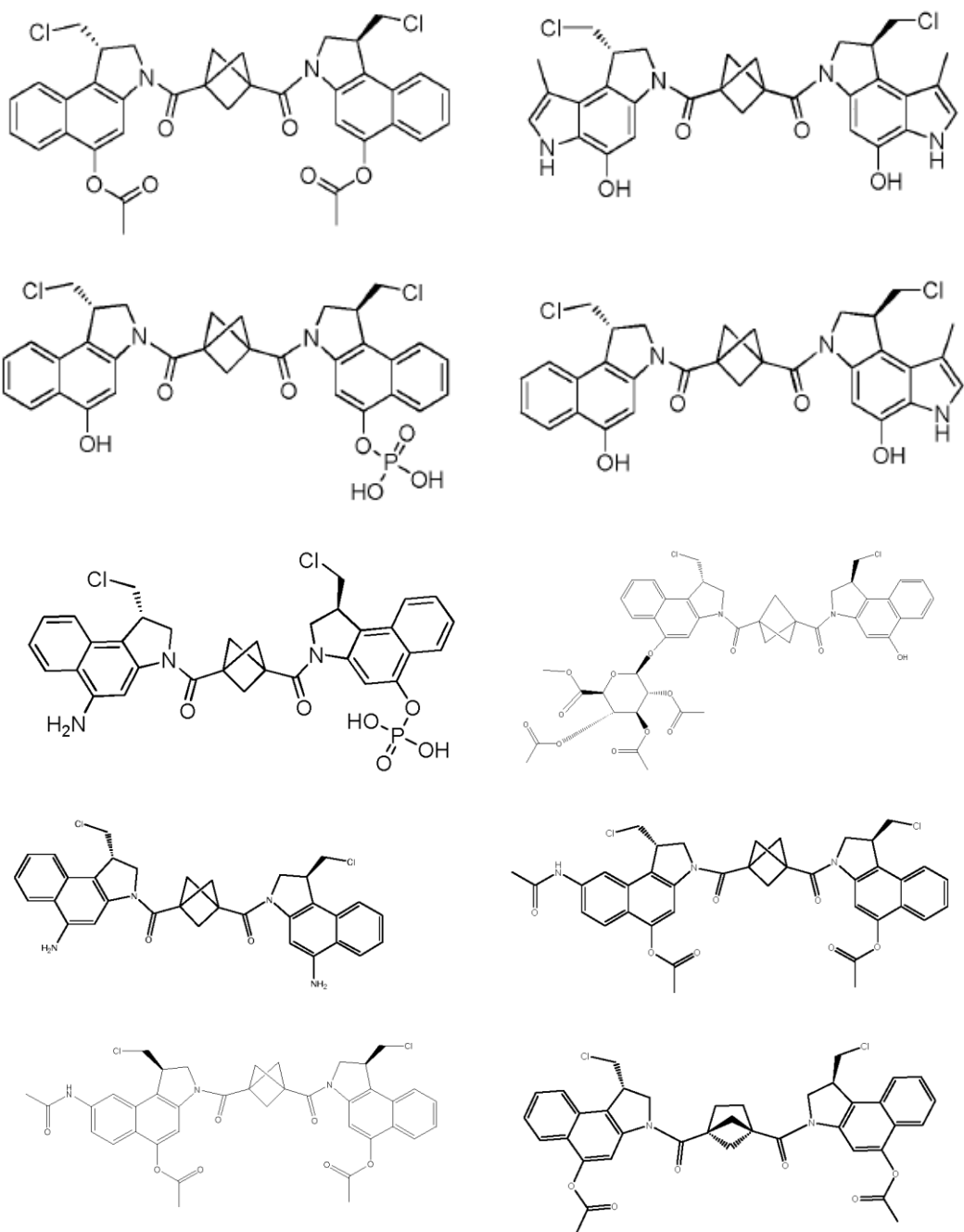
13. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que um ou mais W é C₁-C₃ alquila.

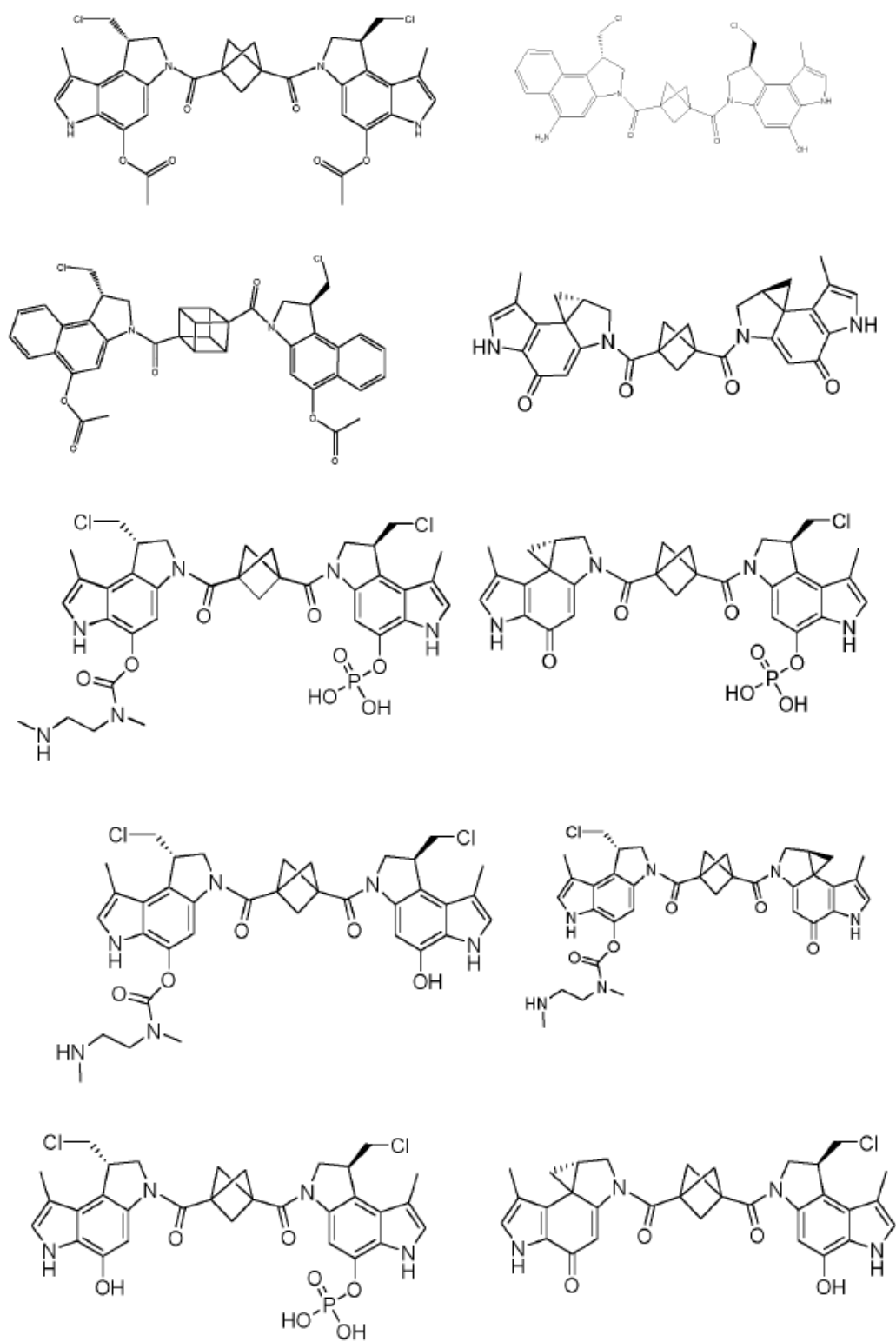
14. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que um ou mais X é cloro.

15. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que Y é H ou -C(O)C₁-C₁₀ alquila.

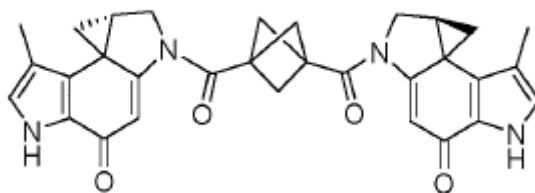
16. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que um ou mais Z é H.

17. Composto, de acordo com a reivindicação 1, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é selecionado a partir de:

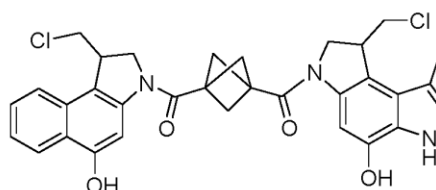
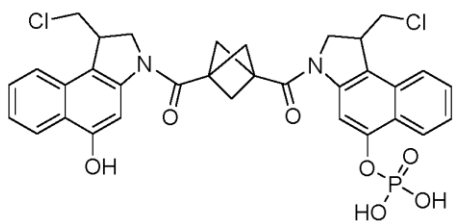
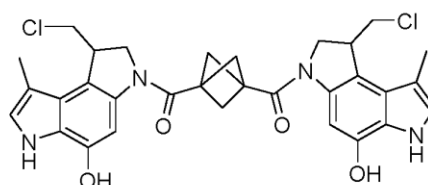
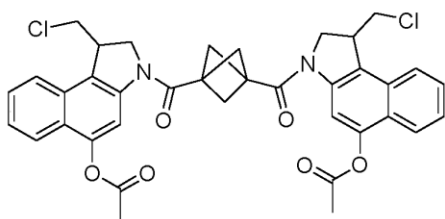


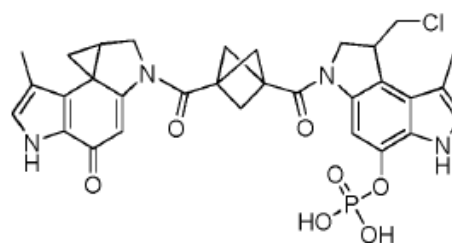
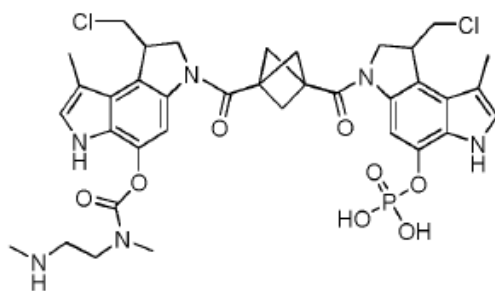
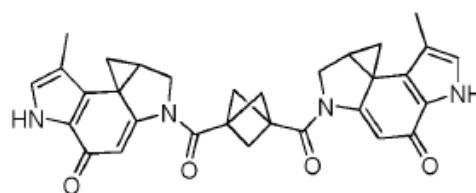
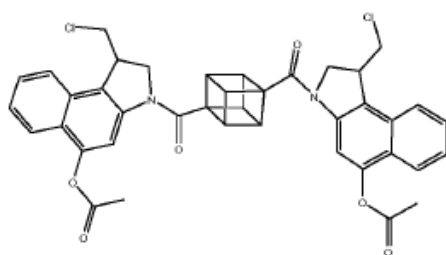
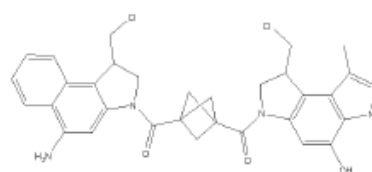
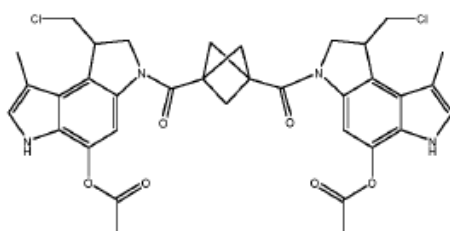
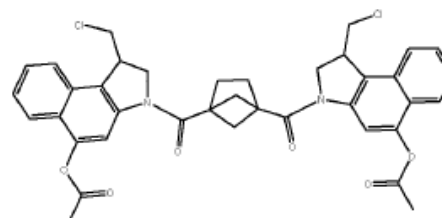
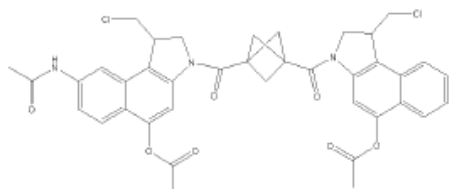
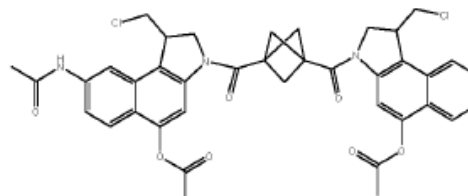
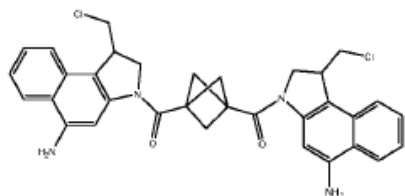
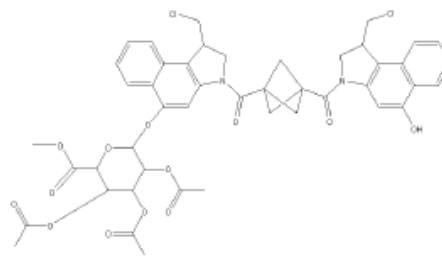
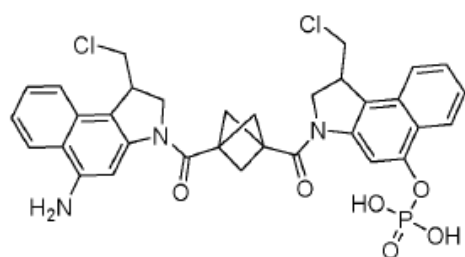


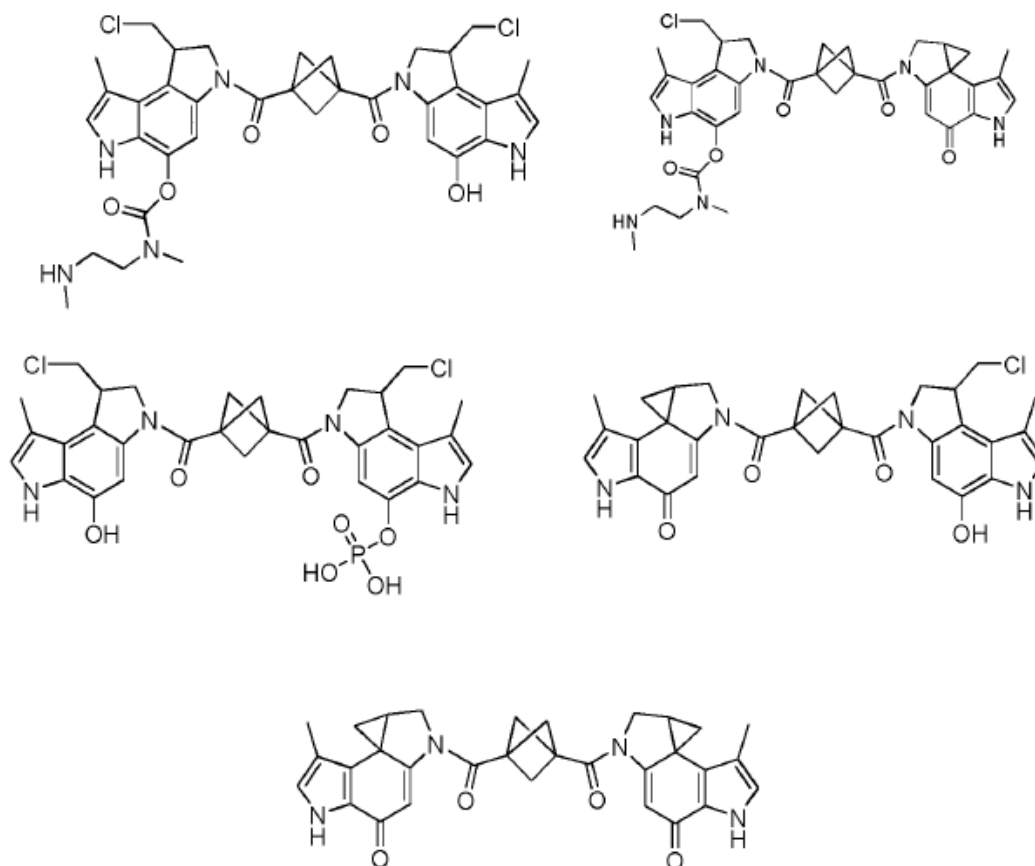
e



18. Composto, de acordo com a reivindicação 1, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é selecionado a partir de:

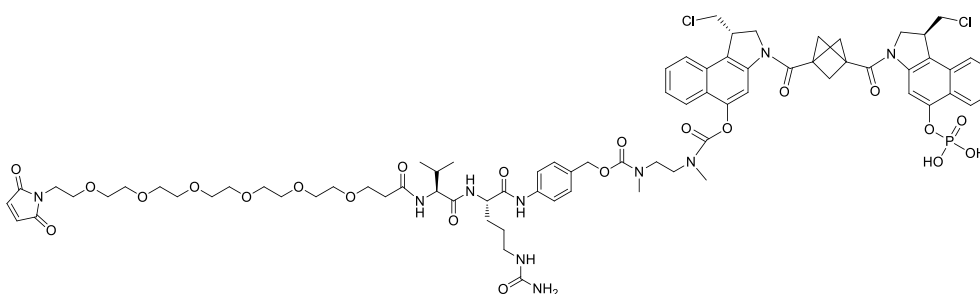


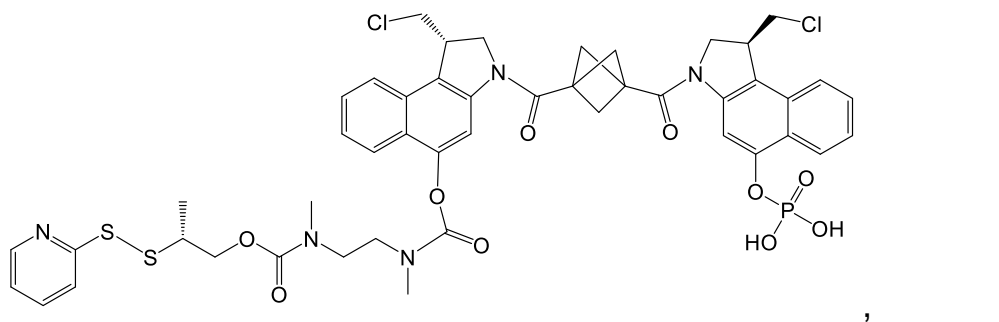
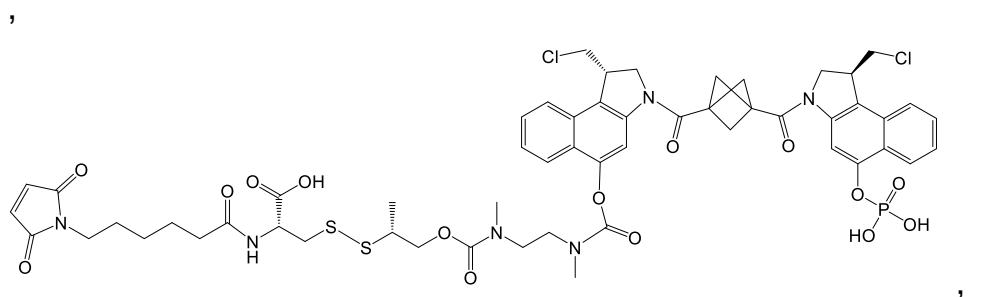
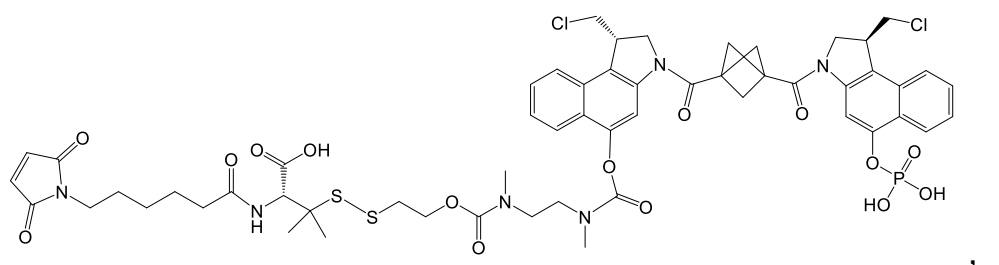
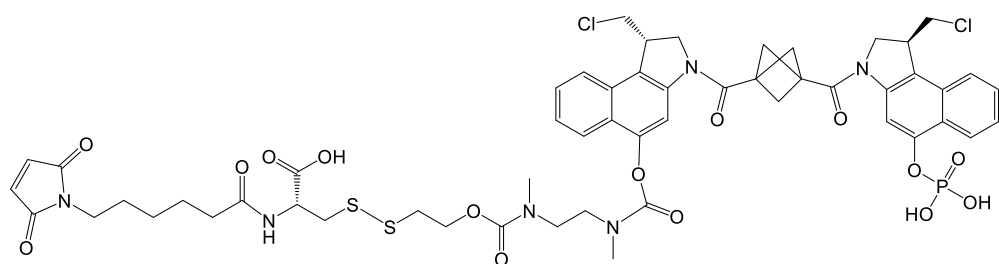
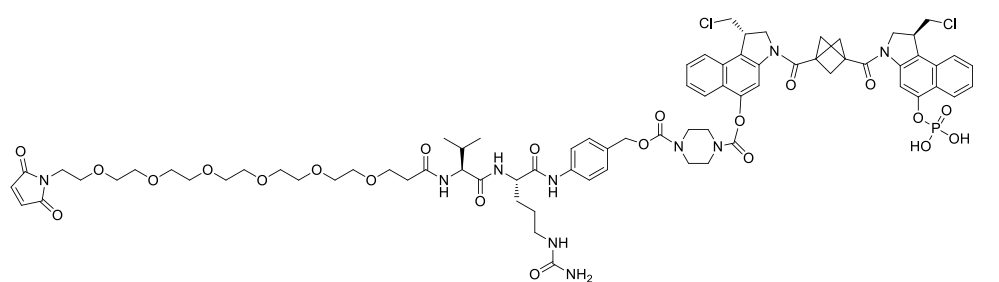


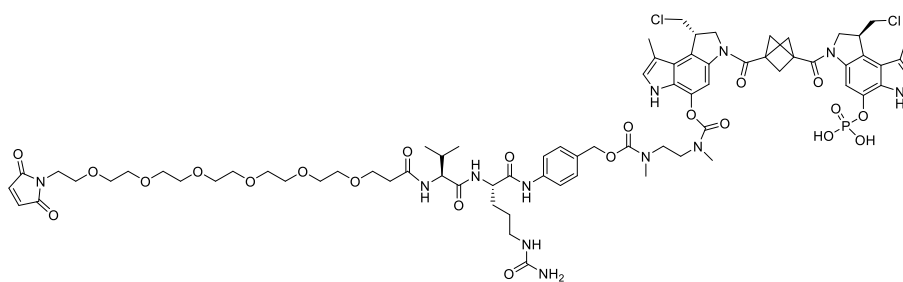


19. Ligante de carga ou conjugado anticorpo fármaco, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende um radical de um composto como definido na reivindicação 17.

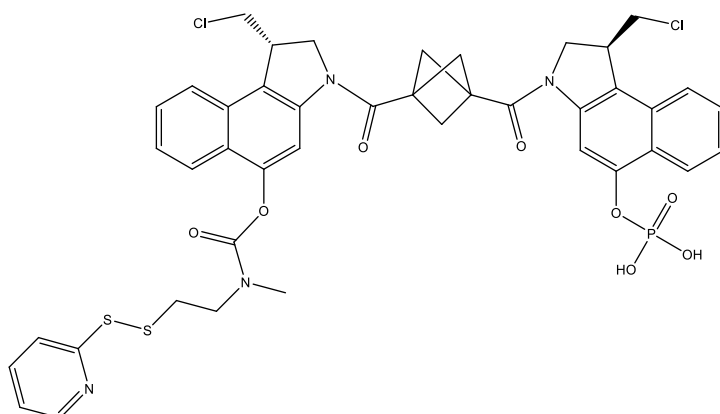
20. Composto, de acordo com a reivindicação 2 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é selecionado a partir de:



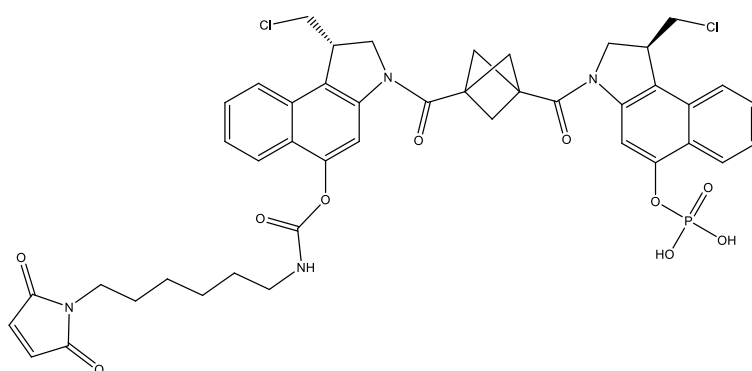




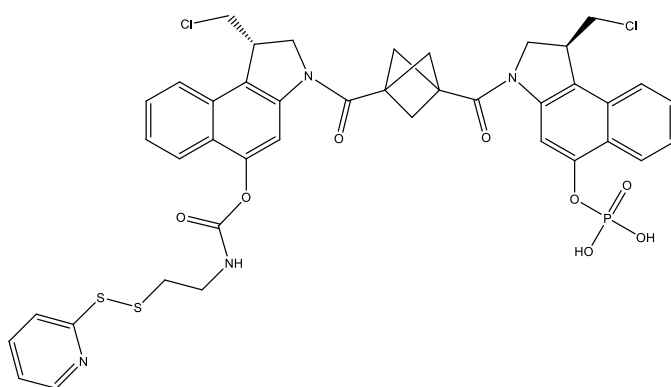
,



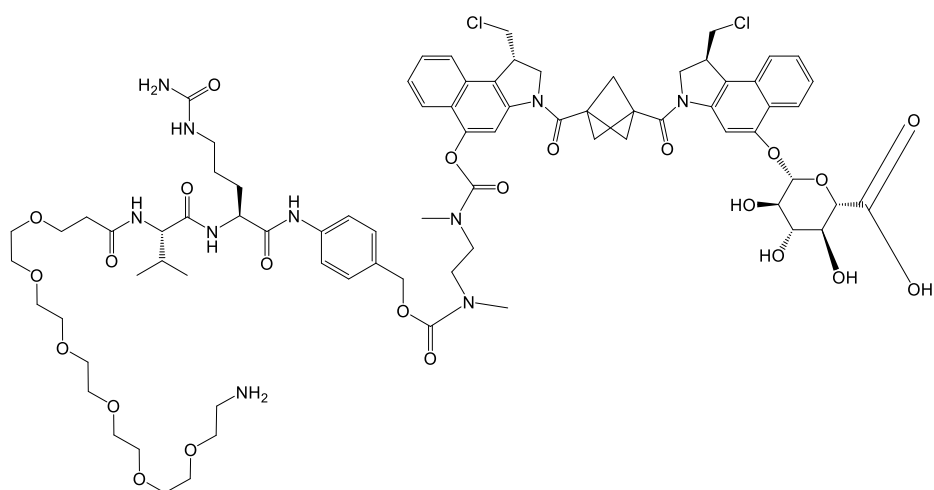
,



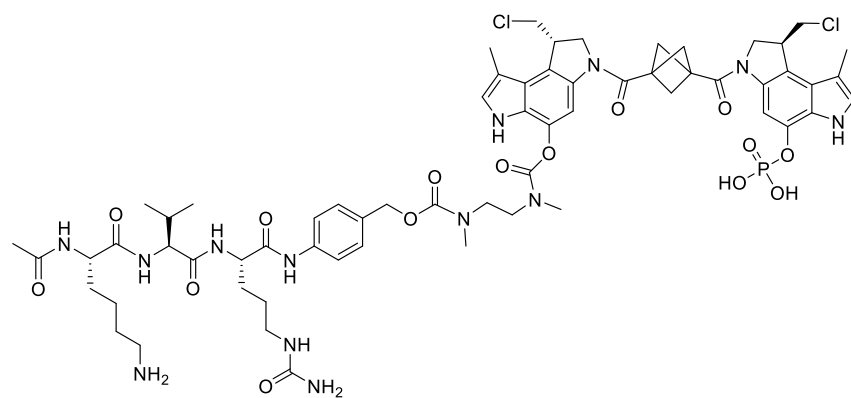
,



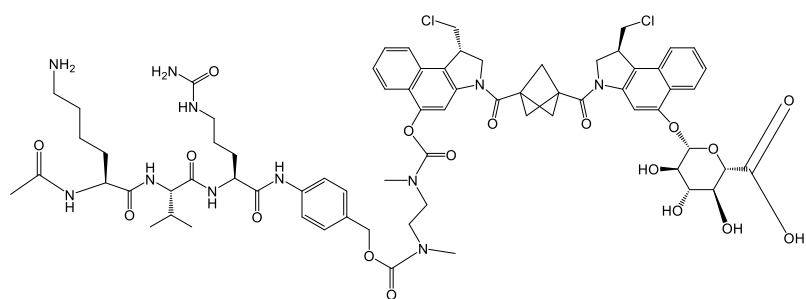
,



,

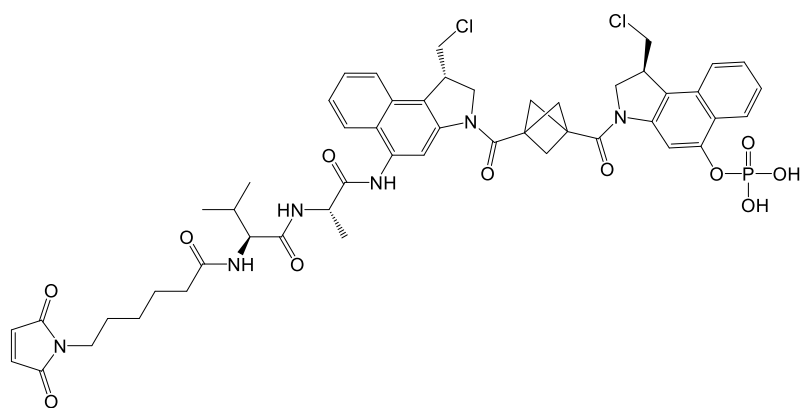


.

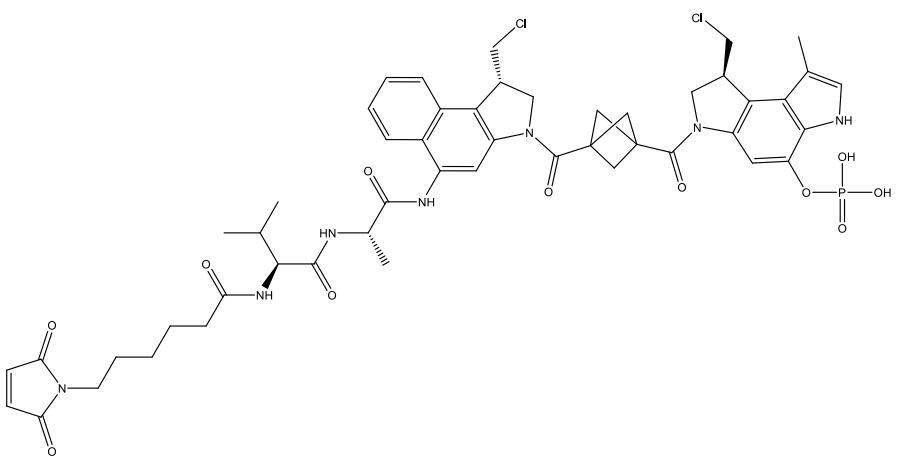
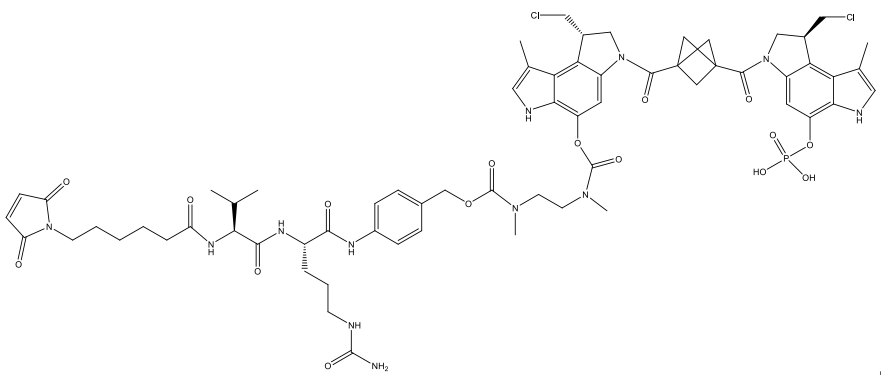
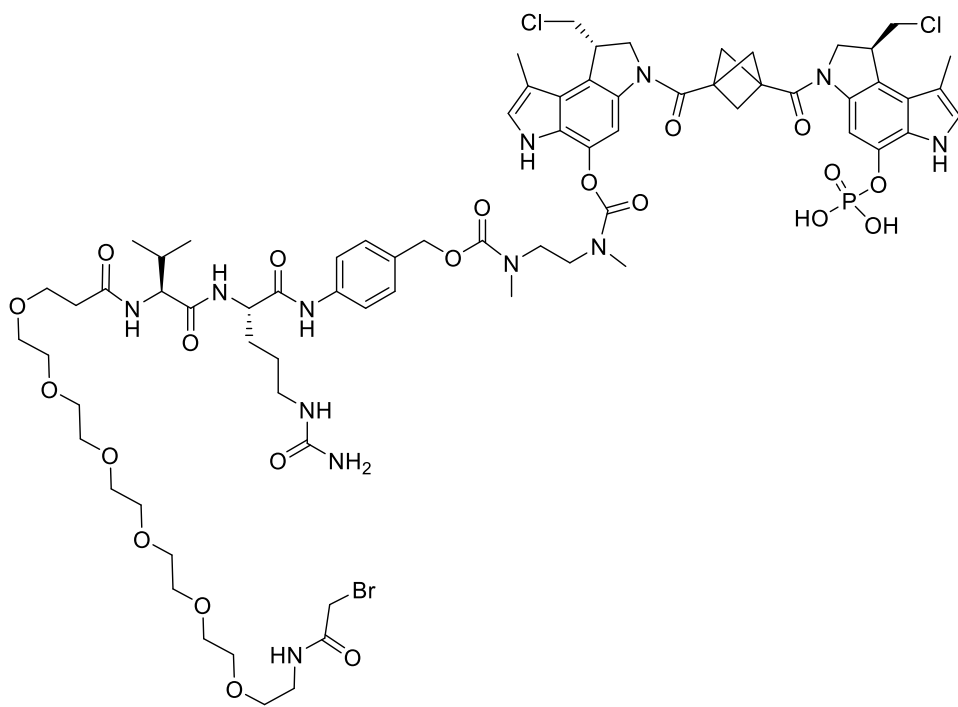


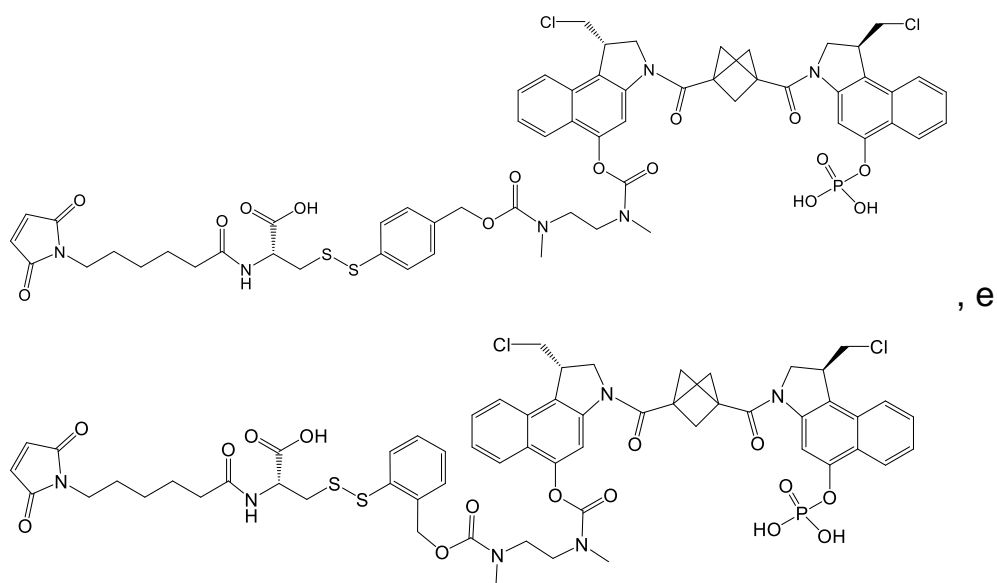
,

,

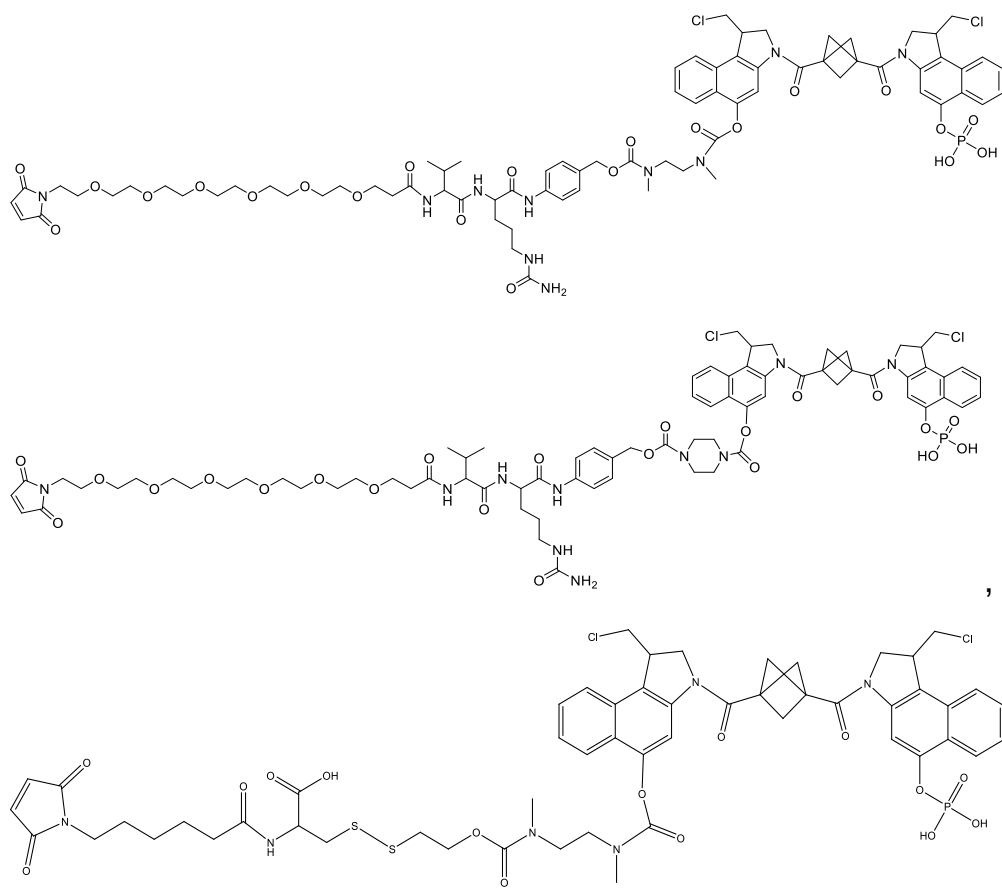


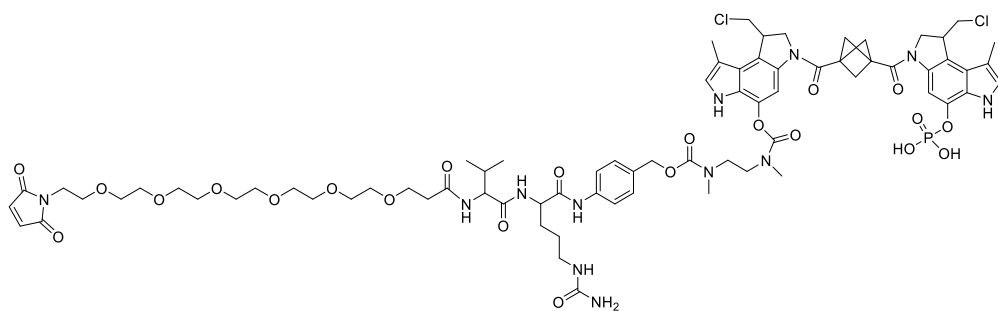
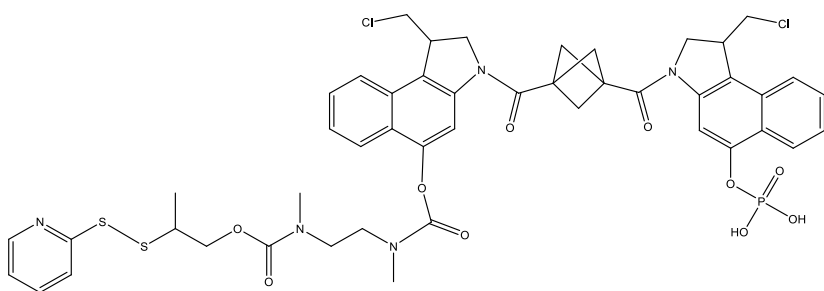
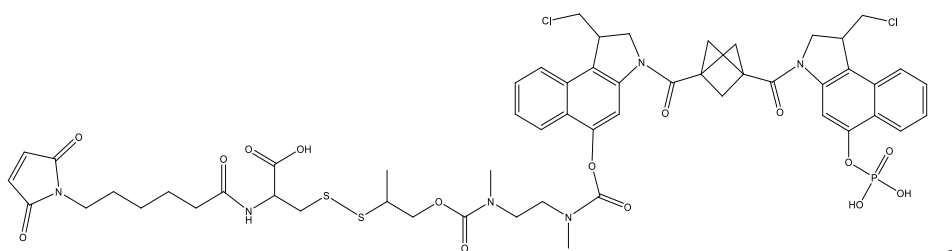
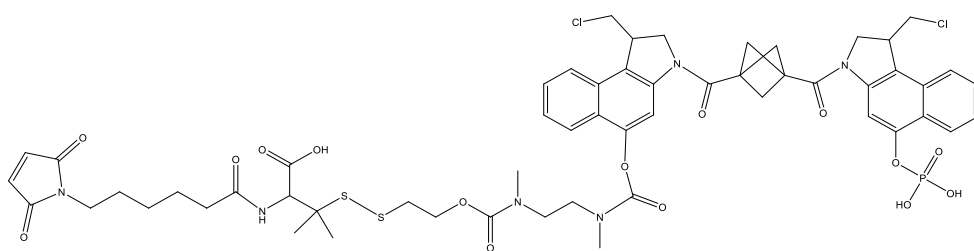
,

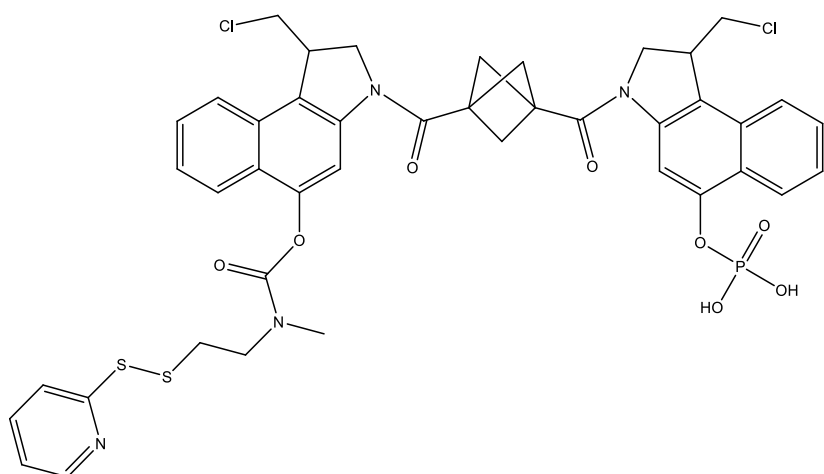




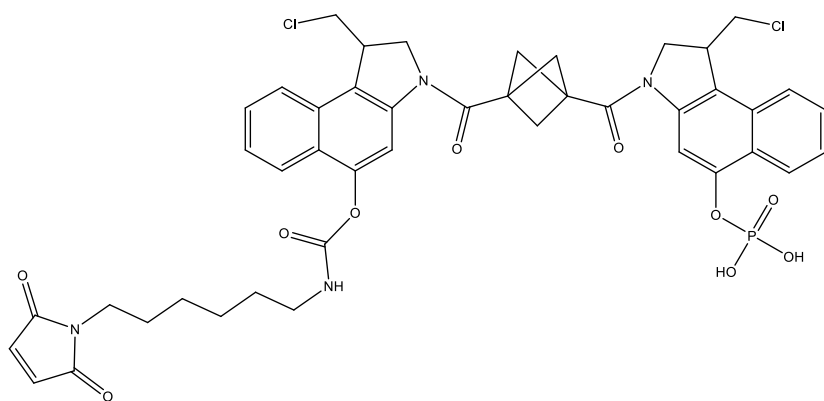
21. Composto, de acordo com a reivindicação 2, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é selecionado a partir de:



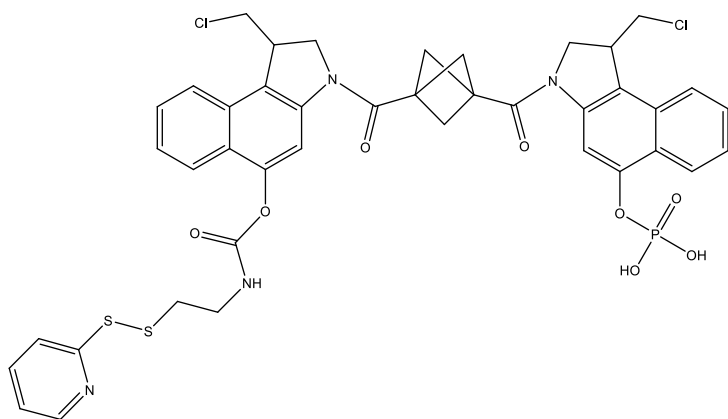




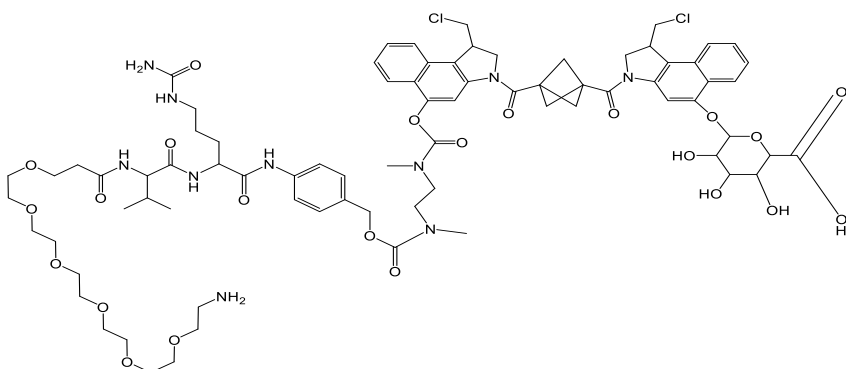
,



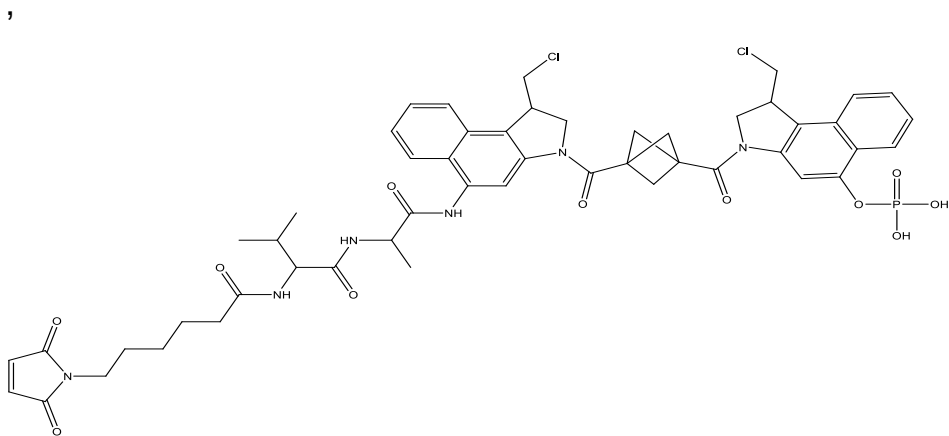
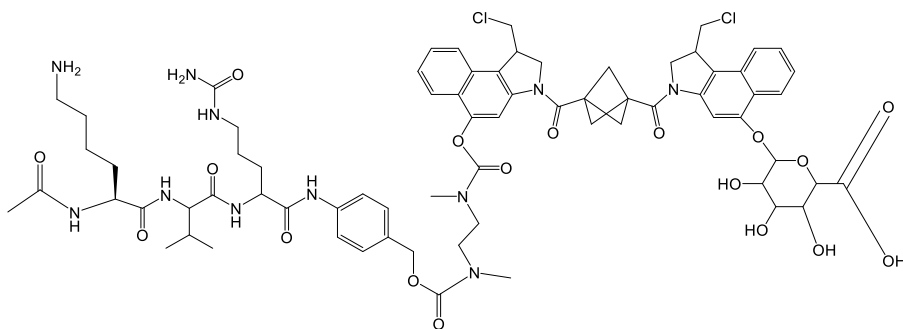
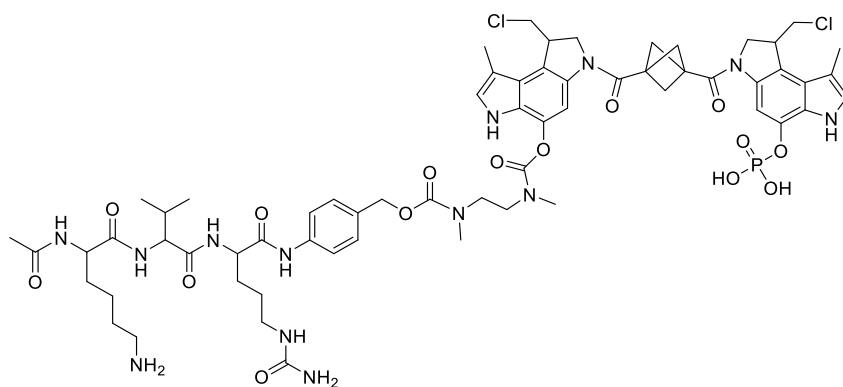
,

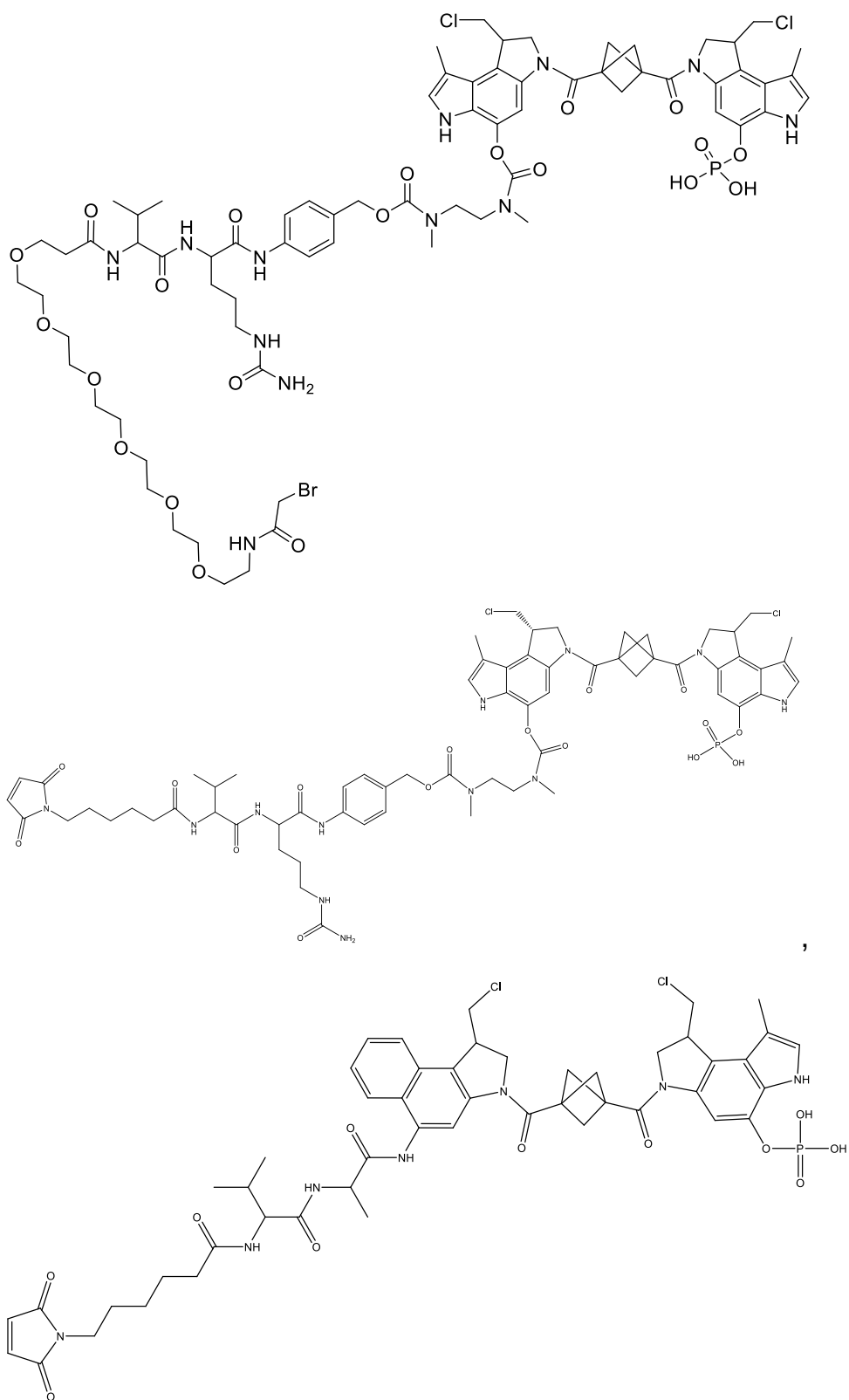


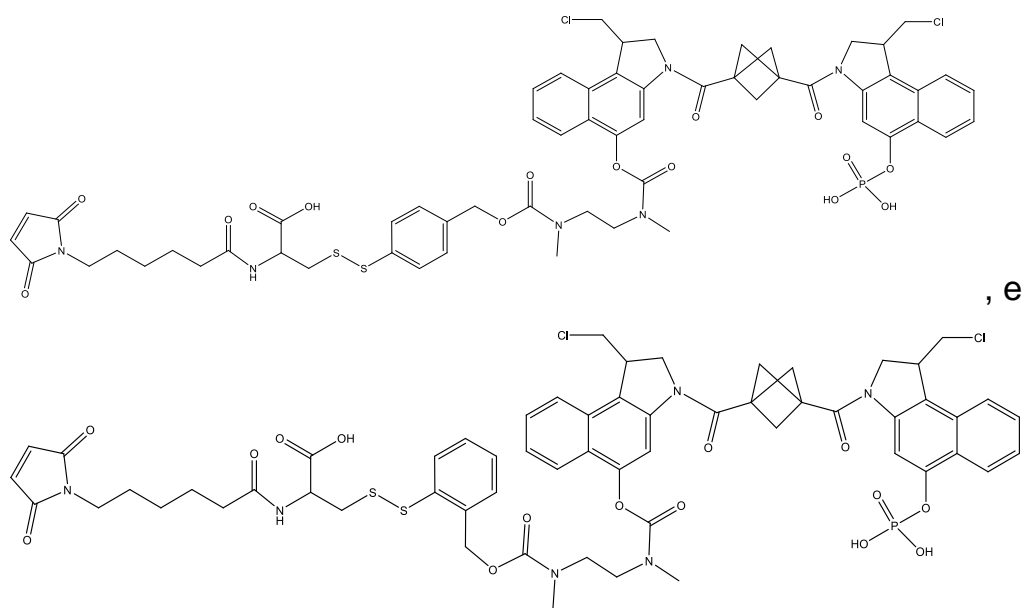
,



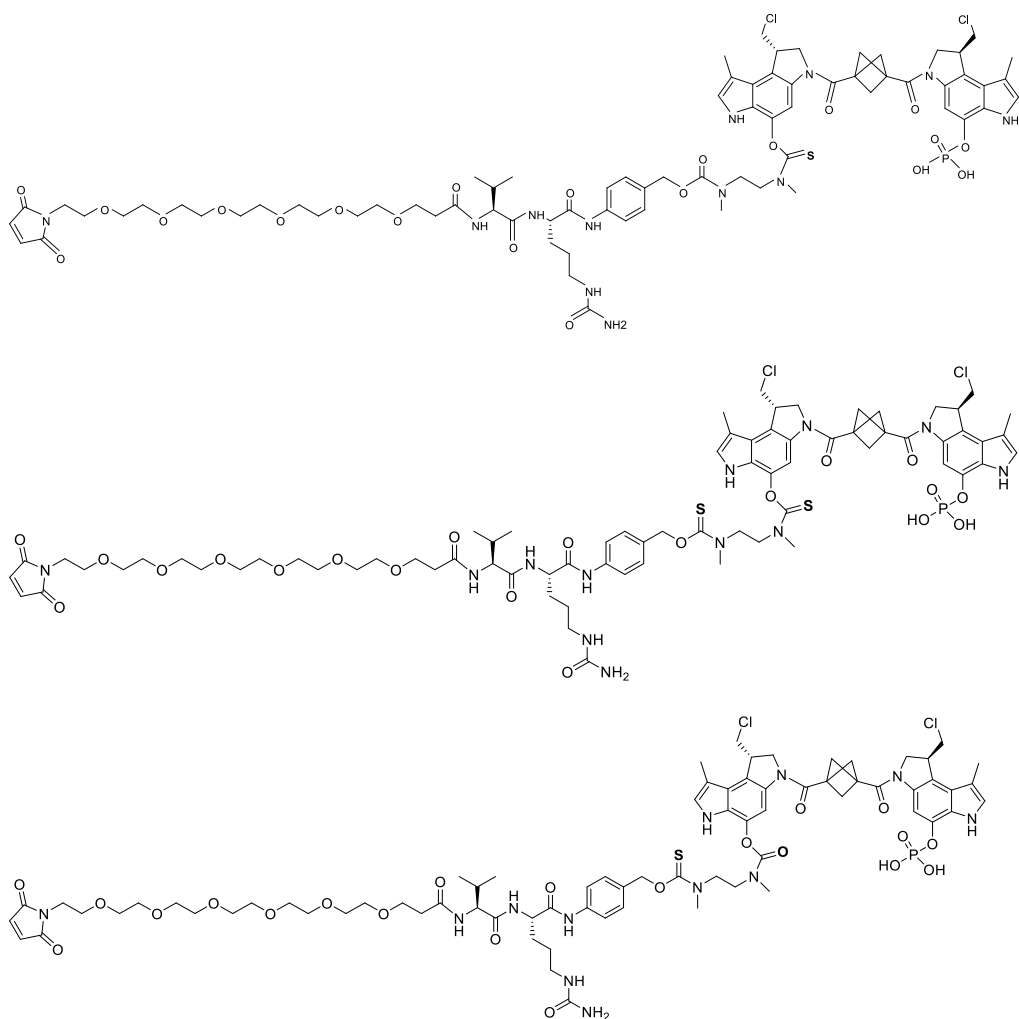
,

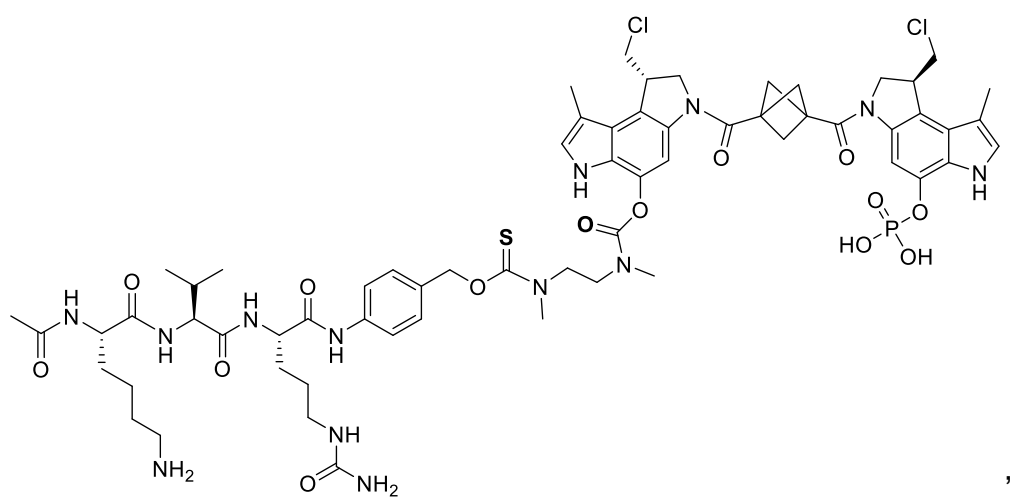
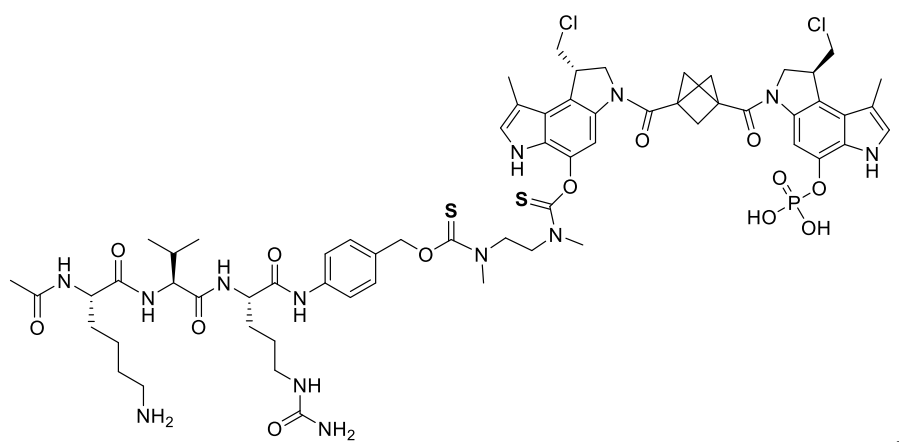
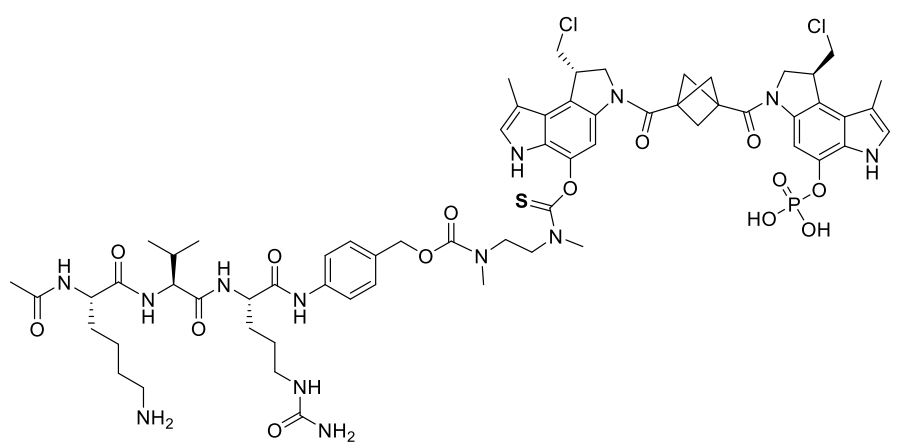


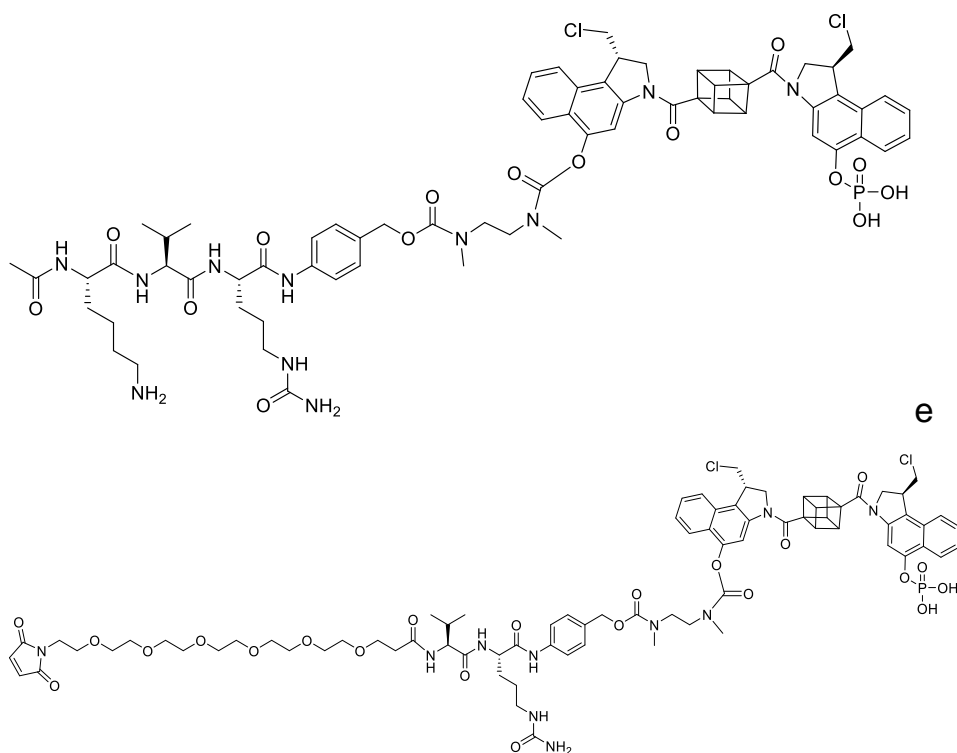




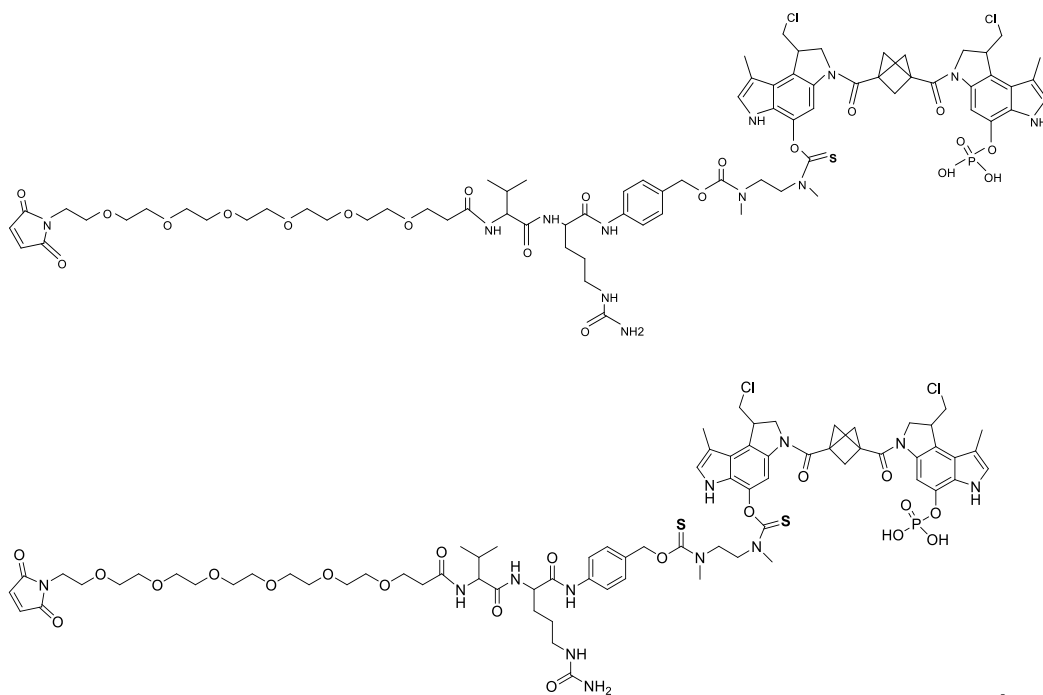
22. Composto, de acordo com a reivindicação 2, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é selecionado a partir de:

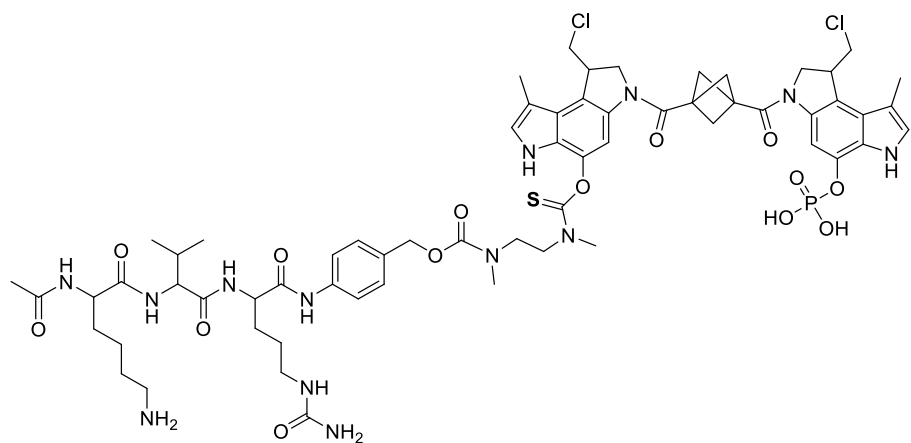
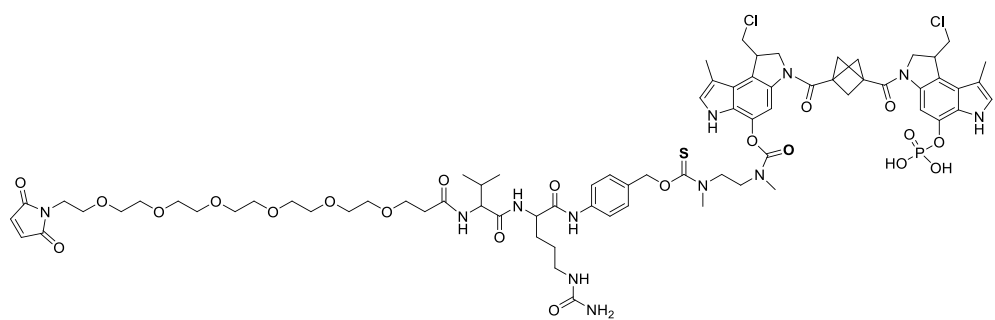




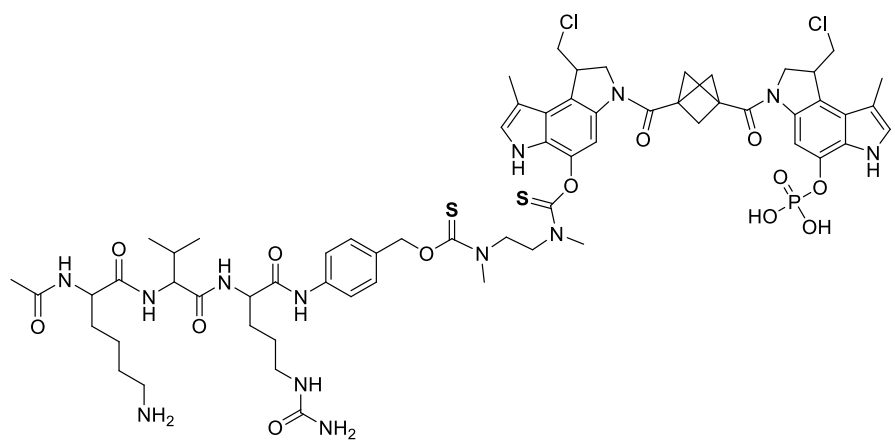


23. Composto, de acordo com a reivindicação 2, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de que é selecionado a partir de:

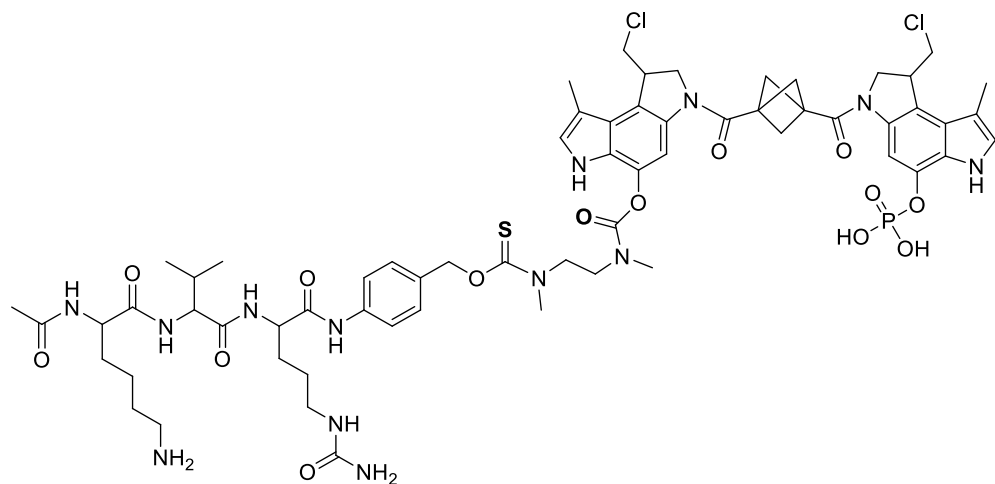




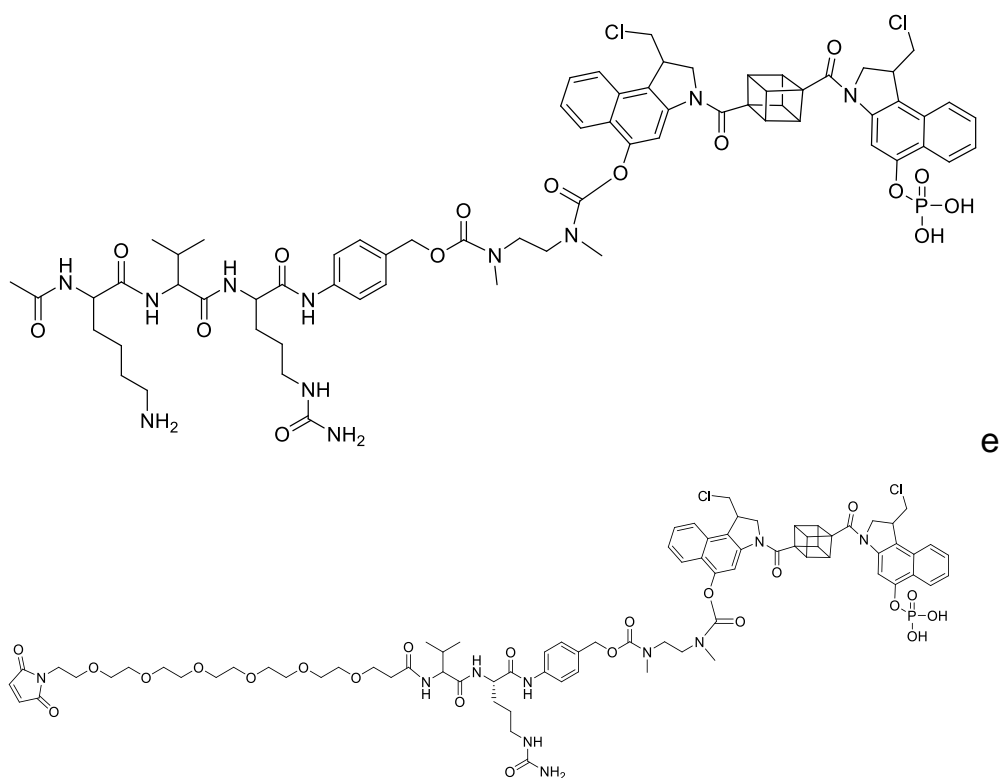
,



,



,



24. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 23, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e excipiente farmaceuticamente aceitável.

25. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 23, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que é para uso no tratamento de câncer.

26. Composto, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma composição farmacêutica para uso de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o dito câncer é câncer de bexiga, câncer de mama, câncer cervical, câncer de cólon, câncer endometrial, câncer nos rins, câncer de pulmão, câncer esofágico, câncer de ovários, câncer de próstata, câncer pancreático, câncer de pele, câncer de estômago (gástrico), câncer testicular, leucemias e linfomas.