

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 984 190**

51 Int. Cl.:

C07D 233/64 (2006.01)
A61K 47/68 (2007.01)
A61K 47/69 (2007.01)
C07C 233/90 (2006.01)
C07D 249/16 (2006.01)
C07H 17/02 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2019** **PCT/US2019/062302**
87 Fecha y número de publicación internacional: **28.05.2020** **WO20106780**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2019** **E 19827877 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2024** **EP 3883926**

54 Título: **Derivados de bis-octahidrofenantreno carboxamida y conjugados de proteínas de los mismos para su uso como agonistas de LXR**

30 Prioridad:

20.11.2018 US 201862769946 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.10.2024

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, NY 10591-6707, US

72 Inventor/es:

GROMADA, JESPER;
GUSAROVA, VIKTORIA;
HAN, AMY;
HAXHINASTO, SOKOL;
MURPHY, ANDREW, J.;
OLSON, WILLIAM y
SLEEMAN, MATTHEW

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 984 190 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de bis-octahidrofenantreno carboxamida y conjugados de proteínas de los mismos para su uso como agonistas de LXR

Campo

En el presente documento se proporcionan novedosas bis-octahidrofenantreno carboxamidas y conjugados de proteínas de las mismas, y dichos compuestos y conjugados para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades, trastornos y afecciones, que incluyen la administración de bis-octahidrofenantreno carboxamidas y conjugados de proteínas de las mismas.

Antecedentes

Los conjugados anticuerpo-fármaco (CAF) son anticuerpos que se unen a fármacos de molécula pequeña biológicamente activos, combinando así la especificidad de dirección de los anticuerpos con el modo de acción y la potencia de los fármacos de molécula pequeña. La utilidad terapéutica de los CAF ha sido validada en el tratamiento del cáncer y es un importante foco de estudio en curso. ADCETRIS® (brentuximab vedotin) y KADCYLA® (ado-trastuzumab emtansina) son dos CAF aprobados para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer y al menos cuarenta CAF se encuentran actualmente en desarrollo clínico.

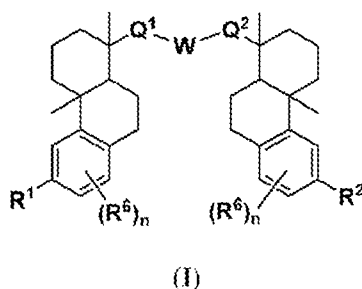
El receptor X hepático (LXR) incluye LXRα y LXRβ, que son factores de transcripción dependientes de ligando que controlan la expresión de genes implicados en la homeostasis del colesterol, los lípidos y la glucosa, la inflamación y la inmunidad innata. LXRα se expresa altamente en el hígado, el intestino, el tejido adiposo y los macrófagos diferenciados; y LXRβ se expresa de forma ubicua. Los LXR tienen varias funciones biológicas que incluyen (i) estimular la expresión de transportadores de colesterol, por ejemplo, ABCA1 y ABCG1, los cuales participan en la salida de colesterol celular; y (ii) regular negativamente la expresión del gen inflamatorio de los macrófagos mediante la represión de la activación de NF-κB. Los LXR también han sido implicados en aterosclerosis, trastornos proliferativos, trastornos neurodegenerativos e inflamación. Los trastornos proliferativos incluyen melanomas, cáncer de pulmón, carcinoma escamoso oral y cáncer de próstata. (Pencheva *et al.* 2004; Wu *et al.* 2015; Kaneko *et al.* 2015; Chuu *et al.* 2006). Los trastornos neurodegenerativos incluyen la enfermedad de Alzheimer y la expresión del gen de la mielina. (Terwel *et al.* 2011; Sandoval-Hernandez *et al.* 2016; Meffre *et al.* 2014). La inflamación incluye enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y artritis. (Anderson *et al.* 2011; Huang *et al.* 2015; Cui *et al.* 2012). Se sabe que los LXR de macrófagos incluyen actividad antiaterogénica. Se cree que los agonistas de LXR son capaces de (i) inhibir el inicio y retrasar la progresión de la aterosclerosis; (ii) mitigar la aterosclerosis y estabilizar las lesiones ateroscleróticas establecidas; y (iii) reducir el contenido de macrófagos de la lesión mediante apoptosis.

El potencial terapéutico de los moduladores de LXR de molécula pequeña está limitado por, por ejemplo, modulación no deseada de LXR en células no objetivo y/o baja biodisponibilidad. La modulación de LXR en células no objetivo puede provocar efectos secundarios indeseables y una baja biodisponibilidad puede manifestarse por innumerables razones, entre ellas, sin limitación, baja solubilidad que exacerba aún más las ventanas terapéuticas deficientes para el tratamiento. El desarrollo de CAF que comprendan moduladores de LXR permitiría la modulación de LXR específica del objetivo, evitando así los efectos secundarios causados por la modulación fuera del objetivo de LXR. De manera adicional, tales CAF proporcionarían una mejor modulación de objetivos biológicos, biodisponibilidad mejorada y ventana terapéutica mejorada. Por tanto, existe una necesidad continua de tratamientos eficaces para, por ejemplo, enfermedades metabólicas utilizando CAF de molécula pequeña de moduladores de LXR.

Sumario

En el presente documento se proporcionan compuestos útiles, por ejemplo, para el tratamiento de enfermedades metabólicas, incluyendo, sin limitación, dislipidemia. También se proporcionan en el presente documento compuestos útiles, por ejemplo, para el tratamiento de la inflamación o de una enfermedad neurodegenerativa.

En una realización, se proporcionan en el presente documento compuestos de Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o forma estereoisomérica de los mismos, en donde

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^3)-$, $-PO(NR^3NR^4)-$, $-NR^3-$ o $-N=$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$;

R^2 es $-N(H)R^4$;

cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido;

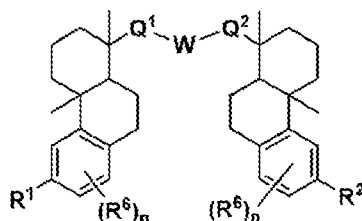
R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y

$-CH_2OH$ o al menos un nitrógeno primario o secundario;

cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O- PEG_{n1} , en donde cada n es un número entero de 0-14, y cada $n1$ es un número entero de 1-12; y

cada R^3 es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo.

En una realización, en el presente documento se proporcionan compuestos de acuerdo con la Fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o forma estereoisomérica de los mismos, en donde

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^3)-$, $-PO(NR^3NR^4)-$, $-NR^3-$ o $-N=$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$;

R^2 es $-N(H)R^4$;

cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo;

R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y

$-CH_2OH$ o al menos un nitrógeno primario o secundario;

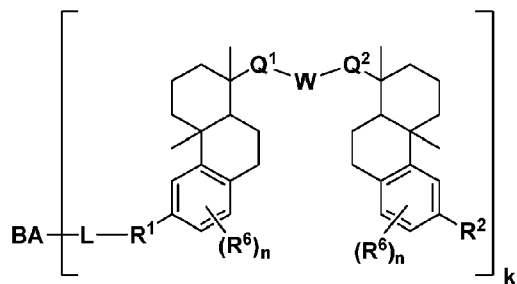
cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O- PEG_{n1} , en donde cada n es un número entero de 0-14, y cada $n1$ es un número entero de 1-12; y

cada R^3 es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo.

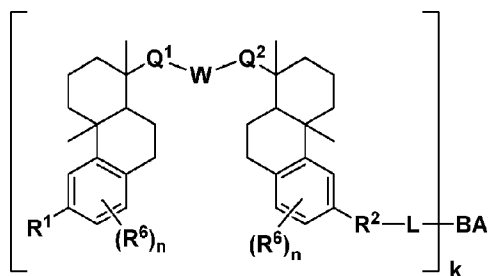
En otra realización, en el presente documento se expone es un enlazador-carga activa que tiene un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, anterior, unido a un enlazador.

En otra realización, en el presente documento se expone un conjugado anticuerpo-fármaco que tiene un compuesto de Fórmula I o un enlazador-carga activa, anterior, unido a un anticuerpo o a un fragmento de unión a antígeno del mismo.

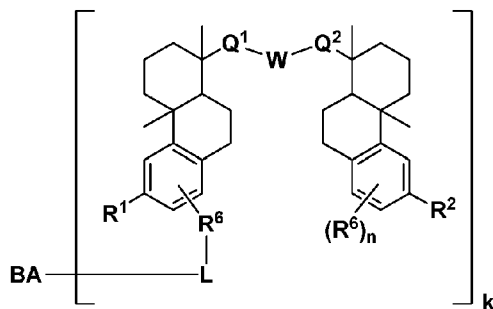
En una realización, en el presente documento se exponen compuestos de acuerdo con las Fórmulas A, B, C o D:



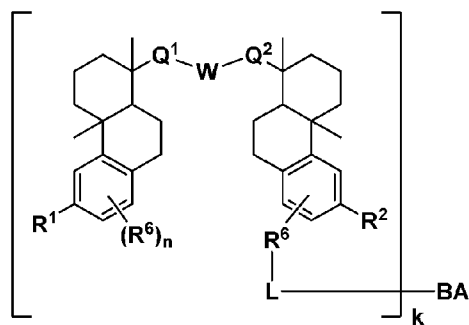
(A)



(B)



(C)



(D)

o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde

L es un enlazador;

BA es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo;

k es un número entero de 1 a 30;

10 cada uno de **Q¹** y **Q²** es independientemente -CH₂-, -C(O)-, -C(H)(OH)-, -C(OH)₂-, -SO₂-, -SO-, -PO(OR³)-, -PO(NR³NR⁴)-, -NR³- o -N=;

W es -CH₂-, -N(H)- o -O-;

15 **R¹** es -N(H)R⁴-, -N(H)R⁴-, -N(H)-, -N(R⁵)₂ o -N(R⁵)₂-;

R² es -N(H)R⁴-, -N(H)R⁴- o -N(H)-;

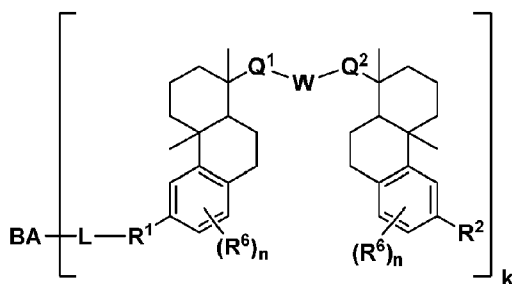
20 cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido o -alquileo-;

R⁵ es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un -OH y -CH₂OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

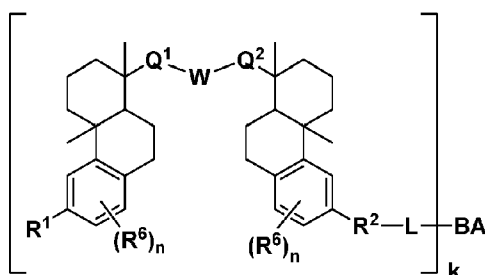
25 cada **R⁶** es independientemente halógeno, alquilo C₁₋₆, alquileo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, -CN, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O-PEG_{n1}, en donde cada n es un número entero de 0-14 y cada **n1** es un número entero de 1-12; y

cada **R³** es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo.

30 En otra realización, en el presente documento se exponen compuestos de acuerdo con las Fórmulas **A**, **B**, **C** o **D**:

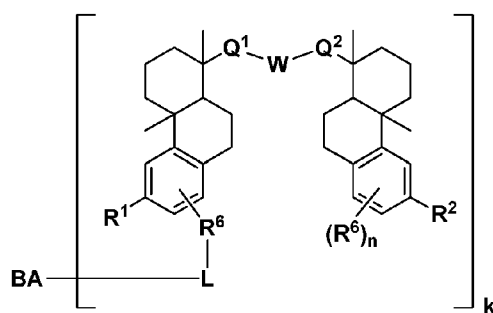


(A)

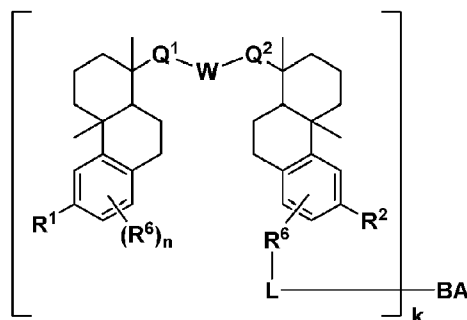


(B)

35



(C)



(D)

5 o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde

L es un enlazador;

BA es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo;

k es un número entero de 1 a 30;

10 cada uno de Q¹ y Q² es independientemente -CH₂-, -C(O)-, -C(H)(OH)-, -C(OH)₂-, -SO₂-, -SO-, -PO(OR³)-, -PO(NR³NR⁴)-, -NR³- o -N=;

W es -CH₂-, -N(H)- o -O-;

R¹ es -N(H)R⁴-, -N(H)R⁴-, -N(H)-, -N(R⁵)₂ o -N(R⁵)₂-;

R² es -N(H)R⁴-, -N(H)R⁴- o -N(H)-;

15 cada R⁴ es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo o -alquileo-;

R⁵ es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos uno -OH y -CH₂OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

20 cada R⁶ es independientemente halógeno, alquilo C₁₋₆, alquileo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, -CN, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O-PEG_{n1}, en donde cada n es un número entero de 0-14, y cada n1 es un número entero de 1-12; y cada R³ es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo.

25 En otra realización, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica, incluyendo un compuesto, enlazador-carga activa o conjugado anticuerpo-fármaco descrito en el presente documento y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

30 También se divulga un método para el tratamiento de la dislipidemia, una enfermedad metabólica, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa en un sujeto, incluyendo la administración al sujeto de una cantidad de tratamiento eficaz de un compuesto, enlazador-carga activa o conjugado anticuerpo-fármaco, o composición farmacéutica descrita en el presente documento.

En otra realización, en el presente documento se exponen métodos para preparar los compuestos, enlazador-cargas activas o conjugados de anticuerpo-fármaco, y composiciones descritas en el presente documento.

35 Breves descripciones de los dibujos

Las figuras 1 y 2 muestran esquemas de química sintética para cargas activas, compuestos y bis-octahidrofenantreno carboxamidas.

40

Las figuras 3-9 muestran esquemas de química sintética para enlazador-cargas activas, enlazador-cargas activas basados en ciclodextrina, enlazador-cargas activas a base de PEG₄-taurina y enlazador-cargas activas a base de maltosa.

5 Las figuras 10-12 muestran esquemas de química sintética para ciclodextrina-azidas, ácido-PEG₄-taurinas y maltosa-azidas.

La figura 13 muestra gráficos de la CE_{50} para la activación del eflujo de colesterol mediante un CAF anti-MSR1 que tiene una carga activa P2.

Descripción de ejemplos de realización

En el presente documento se proporcionan compuestos o cargas activas, enlazador-cargas activas, conjugados de anticuerpo y fármaco, composiciones y métodos útiles para tratar, por ejemplo, la dislipidemia, una enfermedad metabólica, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa, en un sujeto.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se utiliza en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar con respecto al valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, como se usa en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101, y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, etc.).

Aunque se pueden utilizar en la práctica o en el ensayo de la presente invención cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en el presente documento, a continuación se describen los métodos y materiales preferidos.

Definiciones

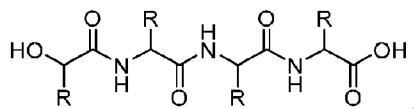
Al referirse a los compuestos o cargas activas, enlazador-cargas activas (LP) o conjugados de anticuerpo-fármaco proporcionados en el presente documento, los términos siguientes tienen los significados siguientes a menos que se indique de otro modo. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la materia. En el caso en el que exista una pluralidad de definiciones para un término o expresión en el presente documento, estas definiciones prevalecen a menos que se indique lo contrario.

Como se usa en el presente documento, "alquilo" se refiere a un resto de radical hidrocarburo monovalente y saturado. El alquilo está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico, es decir, cicloalquilo. Alquilo incluye, pero sin limitación, los radicales que tienen 1-20 átomos de carbono, es decir, alquilo C₁₋₂₀; 1-12 átomos de carbono, es decir, alquilo C₁₋₁₂; 1-8 átomos de carbono, es decir, alquilo C₁₋₈; 1-6 átomos de carbono, es decir, alquilo C₁₋₆; y 1-3 átomos de carbono, es decir, alquilo C₁₋₃. Los ejemplos de restos alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *s*-butilo, *t*-butilo, *i*-butilo, un resto pentilo, un resto hexilo y sus isómeros constitucionales, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Como se usa en el presente documento, "isómeros constitucionales" se refiere a compuestos que tienen la misma fórmula molecular, pero diferentes estructuras químicas resultantes de la forma en que están dispuestos los átomos. Los isómeros constitucionales ilustrativos incluyen *n*-propilo e isopropilo; *n*-butilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo; y *n*-pentilo, isopentilo y neopentilo, y similares.

Como se usa en el presente documento, "alquileo" se refiere a un grupo alquilo divalente. A menos que se especifique de otro modo, alquileo incluye, pero sin limitación, 1-20 átomos de carbono. El grupo alquileo está opcionalmente sustituido como se describe en el presente documento para alquilo. En algunas realizaciones, el alquileo no está sustituido.

Como se usa en el presente documento, el término "O-aminoácido" o "HO-aminoácido" designa un aminoácido en donde el grupo amino nativo en el extremo N de un aminoácido o una secuencia de aminoácidos ha sido reemplazado por un oxígeno o un grupo hidroxilo, respectivamente. Por ejemplo, "O-AAAA" u "HO-AAAA" pretende designar una secuencia de aminoácidos (AAAA) en donde el grupo amino nativo en el extremo N ha sido reemplazado por un oxígeno o un grupo hidroxilo, respectivamente (por ejemplo,



donde cada R es una cadena lateral de aminoácido). De manera similar, las expresiones "resto de O-aminoácido" o

"resto de HO-aminoácido" se refieren a la fracción química dentro de un compuesto que queda después de una reacción química. Por ejemplo, "resto de O-aminoácido" o "resto de HO-aminoácido" se refiere al producto de un acoplamiento de amida o de un acoplamiento peptídico de un O-aminoácido o un HO-aminoácido a un compañero de acoplamiento adecuado; en donde, por ejemplo, se expulsa una molécula de agua después del acoplamiento de amida o peptídico del O-aminoácido o de un HO-aminoácido, dando como resultado que el producto tenga incorporado en el mismo el resto de O-aminoácido o un resto de HO-aminoácido.

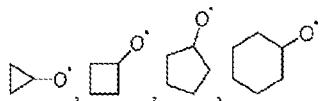
La designación de un aminoácido o resto de aminoácido sin especificar su estereoquímica pretende abarcar la forma L del aminoácido, la forma D del aminoácido o una mezcla racémica de los mismos.

Como se usa en el presente documento, "haloalquilo" se refiere a alquilo, como se ha definido anteriormente, en donde el alquilo incluye al menos un sustituyente seleccionado entre un halógeno, por ejemplo, flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I). Los ejemplos de haloalquilo incluyen, aunque sin limitación, $-\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CCl}_2\text{F}$ y $-\text{CCl}_3$.

Como se usa en el presente documento, "alquenilo" se refiere a una fracción de radical hidrocarbonado monovalente que contiene al menos dos átomos de carbono y uno o más dobles enlaces carbono-carbono no aromáticos. El alquenilo está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico. Alquenilo incluye, pero sin limitación, los radicales que tienen 2-20 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-20} ; 2-12 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-12} ; 2-8 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-8} ; 2-6 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-6} ; y 2-4 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-4} . Los ejemplos de fracciones de alquenilo incluyen, pero sin limitación, vinilo, propenilo, butenilo y ciclohexenilo.

Como se usa en el presente documento, "alquinilo" se refiere a una fracción de radical hidrocarbonado monovalente que contiene al menos dos átomos de carbono y uno o más triples enlaces carbono-carbono. El alquinilo está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico. Alquinilo incluye, pero sin limitación, los radicales que tienen 2-20 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-20} ; 2-12 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-12} ; 2-8 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-8} ; 2-6 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-6} ; y 2-4 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-4} . Ejemplos de restos alquinilo incluyen, pero sin limitación, etinilo, propinilo y butinilo.

Como se usa en el presente documento, "alcoxi" se refiere a una fracción de radical hidrocarbonado monovalente y saturado en donde el hidrocarbano incluye un enlace simple con un átomo de oxígeno y en donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo, $\text{CH}_3\text{CH}_2-\text{O}\cdot$ para etoxi. Los sustituyentes alcoxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno del sustituyente alcoxi. El alcoxi está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico, es decir, cicloalcoxi. Alcoxi incluye, pero sin limitación, que tiene 1-20 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-20} ; 1-12 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-12} ; 1-8 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-8} ; 1-6 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-6} ; y 1-3 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-3} . Los ejemplos de restos alcoxi incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *i*-propoxi, *n*-butoxi, *s*-butoxi, *t*-butoxi, *i*-butoxi, una fracción pentoxi y una fracción hexoxi, ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxi y ciclohexoxi (es decir,

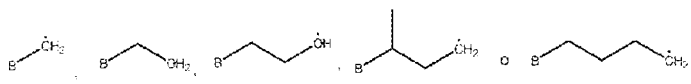


respectivamente).

Como se usa en el presente documento, "haloalcoxi" se refiere a alcoxi, como se ha definido anteriormente, en donde el alcoxi incluye al menos un sustituyente seleccionado entre un halógeno, por ejemplo, F, Cl, Br o I.

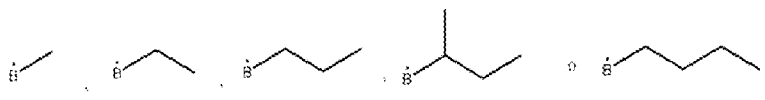
Como se usa en el presente documento, "arilo" se refiere a una fracción monovalente que es un radical de un compuesto aromático en donde los átomos del anillo son átomos de carbono. Arilo está opcionalmente sustituido y puede ser monocíclico o policíclico, por ejemplo, bicíclico o tricíclico. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, aunque sin limitación, los que tienen de 6 a 20 átomos de carbono del anillo, es decir, arilo C_{6-20} ; de 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo C_{6-15} y de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo C_{6-10} . Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero sin limitación, fenilo, naftilo, fluorenilo, azuleno, antrilo, fenantrilo y pirenilo.

Como se usa en el presente documento, "arilalquilo" se refiere a una fracción monovalente que es un radical de un compuesto alquilo, en donde el compuesto alquilo está sustituido con un sustituyente aromático, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace simple con un grupo alquilo y en donde el radical está localizado en el grupo alquilo. Un grupo arilalquilo se une a la estructura química ilustrada a través del grupo alquilo. Un arilalquilo puede estar representado por la estructura, por ejemplo,



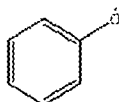
en donde B es una fracción aromática, por ejemplo, fenilo. Arilalquilo está opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo, puede sustituirse como se desvela en el presente documento. Los ejemplos de arilalquilo incluyen, aunque sin limitación, bencilo.

Como se usa en el presente documento, "alquilarilo" se refiere a una fracción monovalente que es un radical de un compuesto arilo, en donde el compuesto arilo está sustituido con un sustituyente alquilo, es decir, el compuesto de arilo incluye un enlace simple con un grupo alquilo y en donde el radical está localizado en el grupo arilo. Un grupo alquilarilo se une a la estructura química ilustrada a través del grupo arilo. Un alquilarilo puede estar representado por la estructura, por ejemplo,



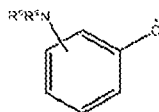
en donde B es una fracción aromática, por ejemplo, fenilo. Alquilarilo está opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo, puede sustituirse como se desvela en el presente documento. Ejemplos de alquilarilo incluyen, aunque sin limitación, toluílo.

Como se usa en el presente documento, "ariloxi" se refiere a una fracción monovalente que es un radical de un compuesto aromático en donde los átomos del anillo son átomos de carbono y en donde el anillo está sustituido con un radical oxígeno, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace simple con un átomo de oxígeno y en donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo,

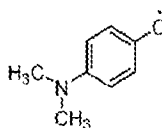


para fenoxi. Los sustituyentes ariloxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno. El ariloxi está opcionalmente sustituido. El ariloxi incluye, pero sin limitación, los radicales que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi C₆₋₂₀; de 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi C₆₋₁₅ y de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi C₆₋₁₀. Ejemplos de fracciones ariloxi incluyen, pero sin limitación, fenoxi, naftoxi y antroxí.

Como se usa en el presente documento, "**R^aR^bN**-ariloxi" se refiere a una fracción monovalente que es un radical de un compuesto aromático en donde los átomos del anillo son átomos de carbono y en donde el anillo está sustituido con al menos un **R^aR^bN**- sustituyente y al menos un radical oxígeno, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace simple a un **R^aR^bN**- sustituyente y un enlace simple a un átomo de oxígeno y en donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo,



sustituyentes **R^aR^bN**-ariloxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno. **R^aR^bN**-ariloxi está opcionalmente sustituido. **R^aR^bN**-ariloxi incluye, pero sin limitación, los que tienen de 6 a 20 átomos de carbono del anillo, por ejemplo, ariloxi C₆₋₂₀ (**R^aR^bN**)_{nn}-, de 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, por ejemplo, ariloxi C₆₋₁₅ (**R^aR^bN**)_{nn} y de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, por ejemplo, ariloxi C₆₋₁₀ (**R^aR^bN**)_{nn}-, en donde **nn** representa el número de **R^aR^bN**- sustituyentes. Un ejemplo de una fracción **R^aR^bN**-ariloxi incluye, pero sin limitaciones, 4-(dimetilamino)-fenoxi,



Como se usa en el presente documento, "arileno" se refiere a una fracción divalente de un compuesto aromático en donde los átomos del anillo son sólo átomos de carbono. El arileno está opcionalmente sustituido y puede ser monocíclico o policíclico, por ejemplo, bicíclico o tricíclico. Los ejemplos de fracciones de arileno incluyen, pero sin limitaciones, los que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno C₆₋₂₀; de 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno C₆₋₁₅ y de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno C₆₋₁₀.

Como se usa en el presente documento, "heteroalquilo" se refiere a un alquilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Como se usa en el presente documento, "heteroalquenilo" se refiere a un alquenilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Como se usa en el presente documento, "heteroalquinilo" se refiere a un alquinilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Los heteroátomos adecuados incluyen, aunque sin limitación, átomos de nitrógeno, oxígeno y azufre. El heteroalquilo está opcionalmente sustituido. Los ejemplos de fracciones de heteroarilo incluyen, aunque sin limitación, aminoalquilo, sulfonilalquilo y sulfinilalquilo. Los ejemplos de fracciones de heteroalquilo también incluyen, aunque sin limitación, metilamino, metilsulfonilo y metilsulfinilo. Como se usa en el presente documento, "heteroalquilenilo", "heteroalquenilenilo", y "heteroalquinilenilo" son formas divalentes de heteroalquilo, heteroalquenilo y heteroalquinilo, respectivamente.

Como se usa en el presente documento, "heteroarilo" se refiere a una fracción monovalente que es un radical de un compuesto aromático en donde los átomos del anillo contienen átomos de carbono y al menos un átomo de oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo. Los ejemplos de restos heteroarilo incluyen, pero sin limitaciones, los que tienen de 5 a 20 átomos en el anillo; de 5 a 15 átomos en el anillo; y de 5 a 10 átomos en el anillo. Heteroarilo está opcionalmente sustituido.

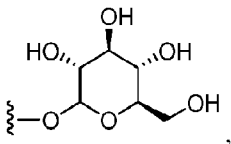
Como se usa en el presente documento, "heteroarileno" se refiere a un arileno en el que uno o más átomos del anillo aromático están reemplazados por un átomo de oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo. Heteroarileno está opcionalmente sustituido.

Como se usa en el presente documento, "heterocicloalquilo" se refiere a un cicloalquilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Los heteroátomos adecuados incluyen, aunque sin limitación, átomos de nitrógeno, oxígeno y azufre. El heterocicloalquilo está opcionalmente sustituido. Los ejemplos de fracciones de heterocicloalquilo incluyen, aunque sin limitación, morfolinilo, piperidinilo, tetrahidropiranilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, dioxolanilo, ditiolanilo, oxanilo o tianilo.

Como se usa en el presente documento, "ácido de Lewis" se refiere a una molécula o ion que acepta un par de electrones solitarios. Los ácidos de Lewis utilizados en los métodos descritos en el presente documento son aquellos distintos de los protones. Los ácidos de Lewis incluyen, aunque sin limitación, ácidos no metálicos, ácidos metálicos, ácidos de Lewis duros y ácidos de Lewis blandos. Los ácidos de Lewis incluyen, aunque sin limitación, ácidos de Lewis de aluminio, boro, hierro, estaño, titanio, magnesio, cobre, antimonio, fósforo, plata, iterbio, escandio, níquel y cinc. Los ácidos de Lewis ilustrativos incluyen, aunque sin limitación, AlBr_3 , AlCl_3 , BCl_3 , sulfuro de metilo de tricloruro de boro, BF_3 , éter metílico de trifluoruro de boro, sulfuro de metilo de trifluoruro de boro, trifluoruro de boro, tetrahidrofurano, trifluorometanosulfonato de dicitohexilboro, bromuro de hierro(III), cloruro de hierro(III), cloruro de estaño(II), cloruro de titanio (IV), isopropóxido de titanio (IV), $\text{Cu}(\text{OTf})_2$, CuCl_2 , CuBr_2 , cloruro de cinc, haluros de alquilaluminio ($\text{R}_n\text{AlX}_{3-n}$, en donde R es hidrocarbilo), $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, ZnCl_2 , $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, MgBr_2 , NiCl_2 , $\text{Sn}(\text{OTf})_2$, $\text{Ni}(\text{OTf})_2$ y $\text{Mg}(\text{OTf})_2$.

Como se usa en el presente documento, "heterocicloalquilo que contiene N", se refiere a un cicloalquilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos y en donde al menos un heteroátomo es un átomo de nitrógeno. Los heteroátomos adecuados además de nitrógeno, incluyen, pero sin limitaciones, átomos de oxígeno y azufre. el heterocicloalquilo que contiene N está opcionalmente sustituido. Los ejemplos de fracciones de heterocicloalquilo que contiene N incluyen, aunque sin limitación, morfolinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo o tiazolidinilo.

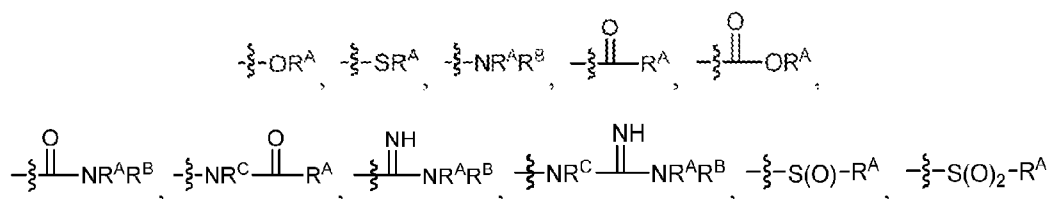
Como se usa en el presente documento, "O-glucosa" se refiere a una fracción monovalente unida mediante un átomo de oxígeno de glucosa exocíclico. Las fracciones de O-glucosa adecuadas incluyen, sin limitación,



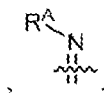
y similares.

Como se usa en el presente documento, "O-PEG_{n1}" se refiere a una fracción monovalente unida a través del átomo de oxígeno terminal, en donde **n1** es de 1 a 100. Por ejemplo, cuando **n1** es 1, O-PEG_{n1} es -O-CH₂CH₂OH; cuando **n1** es dos, O-PEG_{n1} es -O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂OH; y cuando **n1** es tres, O-PEG_{n1} es -O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂OH.

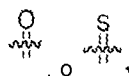
Como se usa en el presente documento, "opcionalmente sustituido", cuando se usa para describir una fracción de radical, por ejemplo, alquilo opcionalmente sustituido, significa que dicha fracción está opcionalmente unida a uno o más sustituyentes. Los ejemplos de dichos sustituyentes incluyen, aunque sin limitación, halo, ciano, nitro, haloalquilo opcionalmente sustituido, azido, epoxi, heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido,



5



oxo o

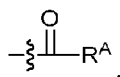


10

en donde R^A , R^B y R^C son, independientemente en cada caso, un átomo de hidrógeno, alquilo, alquenoilo, alquinilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heterocicloalquilo, o R^A y R^B junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo carbocíclico saturado o insaturado, en donde el anillo está opcionalmente sustituido y en donde uno o más átomos del anillo están opcionalmente sustituidos por un heteroátomo. En determinadas realizaciones, cuando una fracción de radical está opcionalmente sustituida con un heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o anillo carbocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido, los sustituyentes en el heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o anillo carbocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido, si están sustituidos, no están sustituidos con sustituyentes que además están opcionalmente sustituidos con sustituyentes adicionales. En algunas realizaciones, cuando un grupo descrito en el presente documento está sustituido opcionalmente, el sustituyente unido al grupo no está sustituido a menos que se especifique lo contrario.

Como se usa en el presente documento, "acilo" se refiere a

25



donde R^A es alquilo o alquilo opcionalmente sustituido. Como también se usa en el presente documento, "acilo opcionalmente sustituido" se refiere a cuando R^A está opcionalmente sustituido.

30

Como se usa en el presente documento, "agente de unión" se refiere a un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

Como se usa en el presente documento, "enlazador" se refiere a una fracción divalente, trivalente o multivalente que une covalentemente el agente de unión a uno o más compuestos descritos en el presente documento, por ejemplo compuestos de carga activa y agentes de mejora.

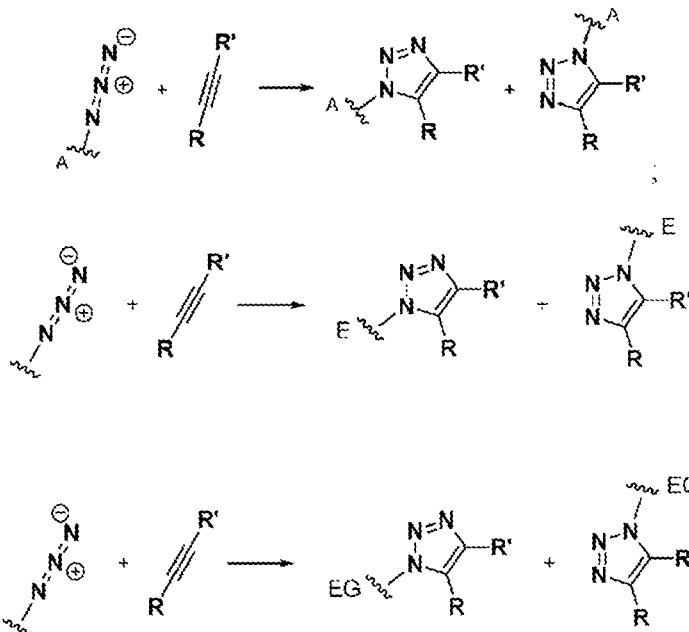
35

Como se usa en el presente documento, "condiciones de síntesis de amida" se refiere a condiciones de reacción adecuadas para efectuar la formación de una amida, por ejemplo, mediante la reacción de un ácido carboxílico, ácido carboxílico activado o haluro de acilo con una amina. En algunos ejemplos, las condiciones de síntesis de amida se refieren a condiciones de reacción adecuadas para efectuar la formación de un enlace amida entre un ácido carboxílico y una amina. En algunos de estos ejemplos, el ácido carboxílico se convierte primero en un ácido carboxílico activado antes de que el ácido carboxílico activado reaccione con una amina para formar una amida. Las condiciones adecuadas para efectuar la formación de una amida incluyen, aunque sin limitación, aquellas que usan reactivos para efectuar la reacción entre un ácido carboxílico y una amina, incluidos, aunque no de forma limitativa, diciclohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIC), hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio (BOP), hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyAOP), hexafluorofosfato de bromotripirrolidinofosfonio (PyBrOP), hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU), hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio (HATU), N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), hexafluorofosfato de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolidinio (CIP), 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT) y carbonildiimidazol (CDI). En algunos ejemplos, primero se convierte un ácido carboxílico en un éster carboxílico activado antes de tratar el éster carboxílico activado con una amina para formar un enlace amida. En determinadas realizaciones, el ácido carboxílico se trata con un reactivo. El reactivo activa el ácido carboxílico desprotonando el ácido carboxílico y luego formando un complejo de producto con

55

el ácido carboxílico desprotonado como resultado del ataque nucleofílico del ácido carboxílico desprotonado sobre el reactivo protonado. Los ésteres carboxílicos activados de determinados ácidos carboxílicos son posteriormente más susceptibles al ataque nucleofílico por una amina que el ácido carboxílico antes de su activación. Esto da como resultado la formación de enlaces amida. Así pues, el ácido carboxílico se describe como activado. Los reactivos

Como se usa en el presente documento, "regioisómero" "regioisómeros", o "mezcla de regioisómeros" se refiere al(los) producto(s) de 1,3-cicloadiciones o cicloadiciones de alquino-azida promovidas por deformación (SPAAC), también conocidas como reacciones de clic, que derivan de azidas adecuadas (por ejemplo, anticuerpos derivatizados de -N₃ o PEG-N₃) tratados con alquinos adecuados. En determinadas realizaciones, por ejemplo, los regioisómeros y las mezclas de regioisómeros se caracterizan por los productos de reacción de clic que se muestran a continuación:

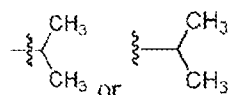


En determinadas realizaciones, se pueden utilizar más de una azida adecuada y más de un alquino adecuado dentro de un esquema sintético en el camino hacia un producto, donde cada par de azida-alquino puede participar en una o más reacciones de clic independientes para generar una mezcla de productos de reacción de clic regioisoméricos. Por ejemplo, un experto reconocerá que una primera azida adecuada puede reaccionar independientemente con un primer alquino adecuado y una segunda azida adecuada puede reaccionar independientemente con un segundo alquino adecuado, en camino hacia un producto, dando como resultado la generación de cuatro posibles regioisómeros de reacción de clic o una mezcla de los cuatro posibles regioisómeros de reacción de clic en una muestra de un CAF descrito en el presente documento. A modo de ejemplo adicional, un experto reconocerá que una primera azida adecuada puede reaccionar independientemente con un primer alquino adecuado y una segunda azida adecuada puede reaccionar independientemente con un segundo alquino adecuado, en camino hacia un producto, dando como resultado la generación de cuatro posibles regioisómeros de reacción de clic o una mezcla de los cuatro posibles regioisómeros de reacción de clic en una muestra de un LP descrito en el presente documento.

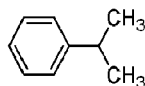
Como se usa en el presente documento, el término "resto" se refiere a la fracción química dentro de un compuesto que queda después de una reacción química. Por ejemplo, la expresión "resto de aminoácido" o "resto de *N*-alquilaminoácido" se refiere al producto de un acoplamiento de amida o de un acoplamiento de péptido de un aminoácido o un *N*-alquilaminoácido a un compañero de acoplamiento adecuado; en donde, por ejemplo, una molécula de agua es expulsada después del acoplamiento DE amida o peptídico del aminoácido o del *N*-alquilaminoácido, dando como resultado que el producto tenga el resto de aminoácido o resto de *N*-alquilaminoácido incorporado en el mismo.

Como se usa en el presente documento, "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad (por ejemplo, de un compuesto o carga activa) que es suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico a un paciente en el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno.

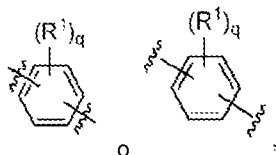
Ciertos grupos, fracciones, sustituyentes y átomos se representan con una línea ondulada que intersecta un enlace o enlaces para indicar el átomo a través del cual se unen los grupos, fracciones, sustituyentes, átomos. Por ejemplo, un grupo fenilo que está sustituido con un grupo propilo representado como:



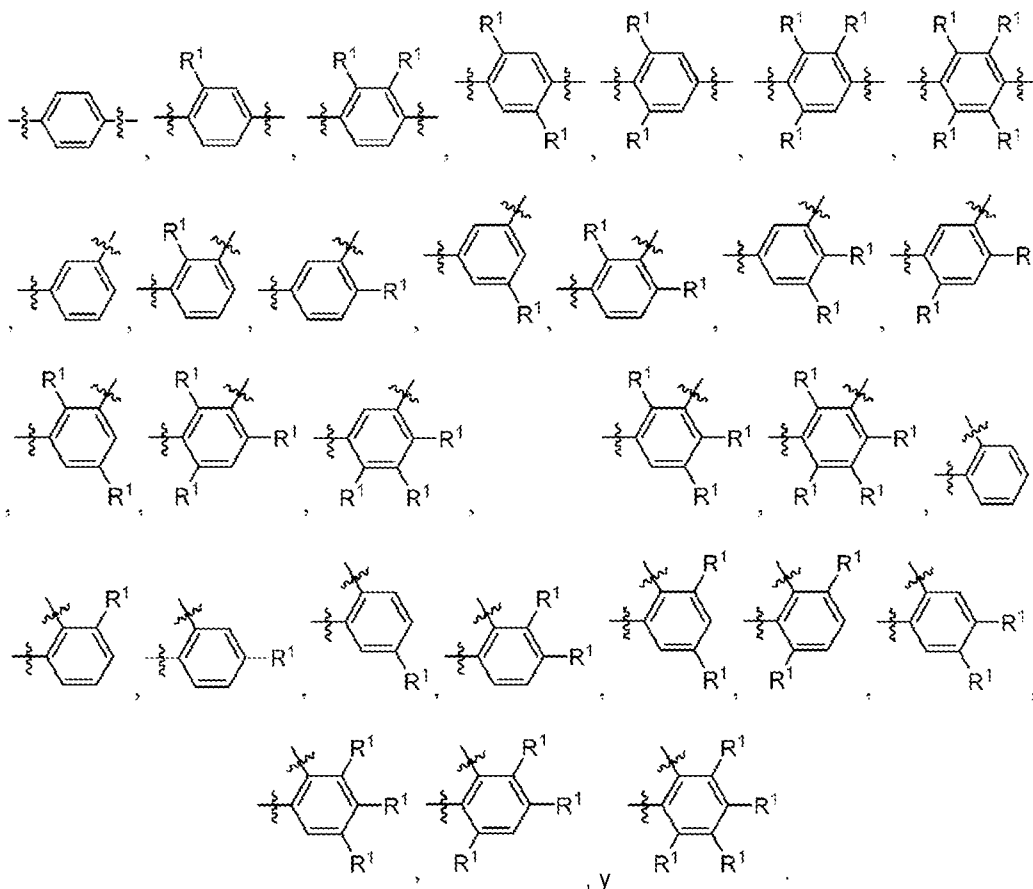
tiene la siguiente estructura:



Como se usa en el presente documento, las ilustraciones que muestran sustituyentes unidos a un grupo cíclico (por ejemplo, aromático, heteroaromático, anillo condensado y cicloalquilo o heterocicloalquilo saturado o insaturado) a través de un enlace entre átomos del anillo pretenden indicar, a menos que se especifique de otro modo, que el grupo cíclico puede estar sustituido con ese sustituyente en cualquier posición del anillo en el grupo cíclico o en cualquier anillo en el grupo del anillo fusionado, según técnicas establecidas en el presente documento o que son conocidas en el campo al que pertenece la presente divulgación. Por ejemplo, el grupo,



en donde el subíndice q es un número entero de 0 a 4 y en el que las posiciones del sustituyente R^1 se describen genéricamente, es decir, no unidos directamente a ningún vértice de la estructura de la línea de enlace, es decir, átomo de carbono del anillo específico, incluyen lo siguiente, ejemplos no limitantes de grupos en los que el sustituyente R^1 está unido a un átomo de carbono del anillo específico:



Como se usa en el presente documento, la expresión "enlazador reactivo", o la abreviatura "RL" se refiere a un grupo monovalente que incluye un grupo reactivo y un grupo espaciador, representado, por ejemplo, como $RG-SP-\text{[reactive group]}$, en

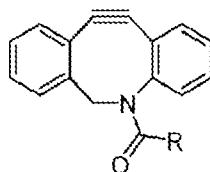
donde **RG** es el grupo reactivo y SP es el grupo espaciador. Como se describe en el presente documento, un enlazador reactivo puede incluir más de un grupo reactivo y más de un grupo espaciador. El grupo espaciador es cualquier fracción divalente que une el grupo reactivo con otro grupo, tal como una carga activa. Los enlazadores reactivos (**RL**), junto con las cargas activas a las que están unidos, proporcionan intermedios ("enlazador-cargas activas") útiles como

5 precursores sintéticos para la preparación de los conjugados de anticuerpos descritos en el presente documento. El enlazador reactivo incluye un grupo reactivo ("**RG**"), que es un grupo o fracción funcional que es capaz de reaccionar con una porción reactiva de otro grupo, por ejemplo, un anticuerpo, anticuerpo modificado, o fragmento de unión a

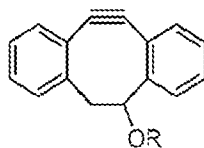
10 antígeno del mismo, o un grupo potenciador. La fracción resultante de la reacción del grupo reactivo con el anticuerpo, anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo, junto con el grupo de enlace, incluye la porción de "enlazador de agente de unión" ("**BL**") del conjugado, descrito en el presente documento. En determinadas realizaciones, el "grupo reactivo" es un grupo o fracción funcional (por ejemplo, maleimida o éster de *N*-hidroxisuccinimida (NHS)) que reacciona con un resto de cisteína o lisina de un anticuerpo o fragmento de unión a

15 antígeno del mismo. En determinadas realizaciones, el "grupo reactivo" es un grupo funcional o fracción que es capaz de sufrir una reacción química de clic (véase, por ejemplo, química clic, Huisgen Proc. Chem. Soc. 1961, Wang *et al.* J. Am. Chem. Soc. 2003 y Agard *et al.* J. Am. Chem. Soc. 2004). En algunas realizaciones de dicha reacción química de clic, el grupo reactivo es un alquino que es capaz de experimentar una reacción de 1,3-cicloaddición con una azida. Tales grupos reactivos adecuados incluyen, aunque sin limitación, alquinos tensionados, por ejemplo, los adecuados para cicloadiciones de alquino-azidas promovidas por deformación (SPAAC), cicloalquinos, por ejemplo, ciclooctinas, alquinos benzanillados y alquinos capaces de experimentar reacciones de 1,3-cicloaddición con alquinos en ausencia

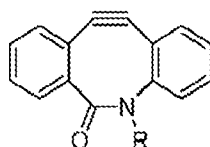
20 de catalizadores de cobre. Los alquinos adecuados también incluyen, aunque sin limitación, dibenzoazaciclooctina o



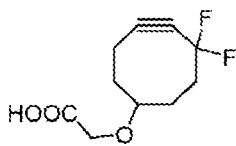
(DIBAC), dibenzociclooctina o



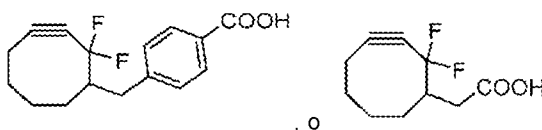
(DIBO), biarilazaciclooctinona o



(BARAC), ciclooctina difluorada o



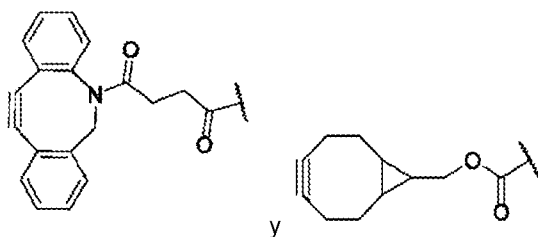
o



(DIFO), sustituido, por ejemplo, alquinos fluorados, aza-cicloalquinos, biciclo[6.1.0]nonino o

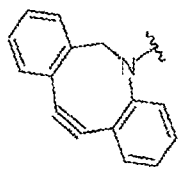


(BCN, donde **R** es alquilo, alcoxi o acilo) y derivados de los mismos. Los alquinos particularmente útiles incluyen

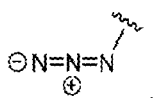


5 Los enlazador-cargas activas que incluyen dichos grupos reactivos son útiles para conjugar anticuerpos que han sido funcionalizados con grupos azido. Dichos anticuerpos funcionalizados incluyen anticuerpos funcionalizados con grupos azido-polietilenglicol. En determinadas realizaciones, dicho anticuerpo funcionalizado se obtiene tratando un anticuerpo que tiene al menos un resto de glutamina, por ejemplo, Gln295 de la cadena pesada, con un compuesto
10 que lleva un grupo amino y un grupo azida, en presencia de la enzima transglutaminasa.

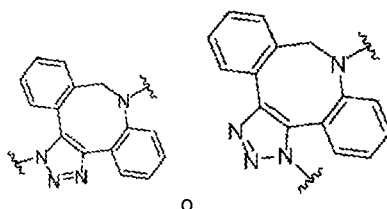
En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un alquino, por ejemplo,



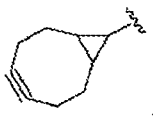
15 que puede reaccionar mediante química de clic con una azida, por ejemplo,



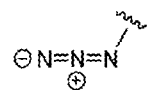
20 para formar un producto químico de clic, por ejemplo,



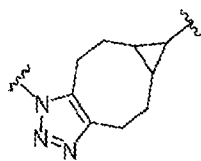
25 En algunos ejemplos, el grupo reacciona con una azida en un anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un alquino, por ejemplo,



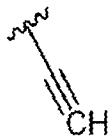
30 que puede reaccionar mediante química de clic con una azida, por ejemplo,



para formar un producto químico de clic, por ejemplo,

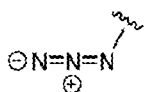


En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un alquino, por ejemplo,



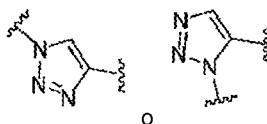
5

que puede reaccionar mediante química de clic con una azida, por ejemplo,



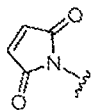
10

para formar un producto químico de clic, por ejemplo,



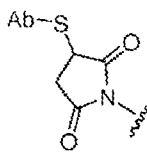
15

En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un grupo funcional, por ejemplo,



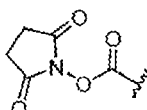
20

que reacciona con un resto de cisteína en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, para formar un enlace con el mismo, por ejemplo,



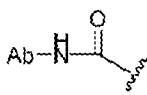
25

en donde **Ab** se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y S se refiere al átomo de S en un resto de cisteína a través del cual el grupo funcional se une al **Ab**. En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un grupo funcional, por ejemplo,



30

que reacciona con un resto de lisina en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, para formar un enlace con el mismo, por ejemplo,



35

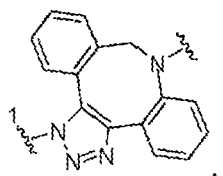
en donde **Ab** se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo y NH se refiere al átomo de NH en un resto de cadena lateral de lisina a través del cual el grupo funcional se une al **Ab**.

Como se usa en el presente documento, la expresión "fracción biodegradable" se refiere a una fracción que se degrada *in vivo* en componentes biocompatibles no tóxicos que pueden eliminarse del organismo mediante procesos biológicos ordinarios. En algunas realizaciones, una fracción biodegradable se degrada total o sustancialmente *in vivo* en el transcurso de aproximadamente 90 días o menos, aproximadamente 60 días o menos o aproximadamente 30 días o menos, donde el grado de degradación se basa en el porcentaje de pérdida de masa de la fracción biodegradable y en donde la degradación completa corresponde al 100 % de pérdida de masa. En las realizaciones de la invención definidas en el presente documento, una fracción biodegradable es un poliéster alifático, tal como poli(ε-caprolactona) (PCL), poli(3-hidroxibutirato) (PHB), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA) y sus copolímeros con ácido glicólico (es decir, poli(D,L-lactida-co-glicólido) (PLGA) (Vert M, Schwach G, Engel R y Coudane J (1998) J Control Release 53(1-3):85-92; Jain R A (2000) Biomaterials 21(23):2475-2490; Uhrich K E, Cannizzaro S M, Langer R S y Shakesheff K M (1999) Chemical Reviews 99(11):3181-3198; y Park T G (1995) Biomaterials 16(15):1123-1130).

Como se usa en el presente documento, las expresiones "cantidad eficaz" "cantidad fisiológicamente eficaz", o "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto que es suficiente para efectuar el tratamiento, cuando se administra a un sujeto que necesita dicho tratamiento. Una "cantidad fisiológicamente eficaz" de una sustancia activa indica que una cantidad eficaz de las sustancias activas tiene un efecto significativo, observable externamente en el paciente. Por lo tanto, una cantidad fisiológicamente eficaz afecta a una o más de las características (por ejemplo, fenotipo) en el paciente sin necesidad de equipamiento especial para determinar el efecto. Por ejemplo, una cantidad fisiológicamente eficaz de un compuesto divulgado en el presente documento tiene un efecto significativo, observable externamente sobre el comportamiento del paciente al reducir uno o más de los síntomas de la afección a tratar. En consecuencia, se puede determinar si se ha administrado una cantidad eficaz de la sustancia activa observando al paciente y observando si se han producido cambios en el paciente debido a la sustancia activa.

Como se usa en el presente documento, la expresión "enlazador de agente de unión", o "**BL**" se refiere a cualquier grupo o fracción divalente, trivalente o multivalente que se une, conecta o enlaza con un agente de unión (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) con un compuesto de carga activa expuesto en el presente documento (por ejemplo, bis-octahidrofenantreno carboxamidas) y, opcionalmente, con uno o más compuestos de cadena lateral. En general, los enlazadores de agentes de unión adecuados para los conjugados de anticuerpos descritos en el presente documento son aquellos que son lo suficientemente estables para aprovechar la semivida circulante del anticuerpo y, al mismo tiempo, capaces de liberar la carga activa tras la interiorización del conjugado mediada por antígeno. Los enlazadores pueden ser escindibles o no escindibles. Los enlazadores escindibles son enlazadores que se escinden mediante metabolismo intracelular tras la interiorización, por ejemplo, escisión por hidrólisis, reducción o reacción enzimática. Los enlazadores no escindibles son enlazadores que liberan una carga activa adjunta a través de la degradación lisosomal del anticuerpo tras la interiorización. Los enlazadores adecuados incluyen, aunque sin limitación, enlazadores lábiles al ácido, enlazadores lábiles a la hidrólisis, enlazadores escindibles enzimáticamente, enlazadores lábiles a la reducción, enlazadores autoinmolables y enlazadores no escindibles. Los enlazadores adecuados también incluyen, aunque sin limitación, los que son o comprenden péptidos, glucurónidos, succinimida-tioéteres, unidades de polietilenglicol (PEG), hidrazonas, unidades de mal-caproílo, unidades de dipéptidos, unidades de valina-citrulina y unidades de para-aminobencilo (PAB). En algunas realizaciones, el enlazador del agente de unión (**BL**) incluye una fracción que se forma por la reacción del grupo reactivo (**RG**) de un enlazador reactivo (**RL**) y porción reactiva del agente de unión, por ejemplo, el anticuerpo, anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

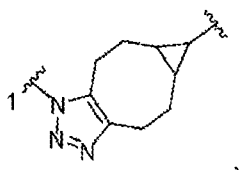
En algunos ejemplos, el **BL** incluye la siguiente fracción:



o el regioisómero triazolilo, en donde



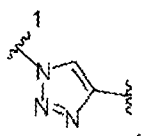
es el enlace con el agente de unión. En algunos ejemplos, el **BL** incluye la siguiente fracción:



en donde



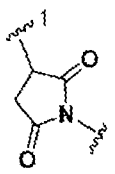
es el enlace con el agente de unión. En algunos ejemplos, el **BL** incluye la siguiente fracción:



o el regioisómero triazolilo, en donde



es el enlace con el agente de unión. En algunos ejemplos, el **BL** incluye la siguiente fracción:



en donde



es el enlace a la cisteína del anticuerpo o



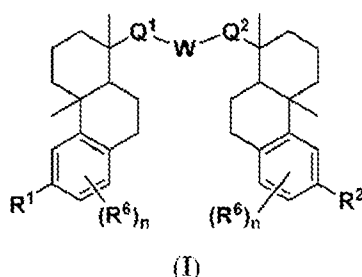
en donde



es el enlace a la lisina del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

Compuestos o cargas activas

En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto que tiene la estructura de Fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o forma estereoisomérica de los mismos, en donde

- 5 cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$ o $-C(OH)_2-$;
 W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;
 R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$;
 R^2 es $-N(H)R^4$;
 cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido,
 10 un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido;
 R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o
 heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y
 cuando está sustituido incluye al menos uno $-OH$ y $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario; y
 cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O-
 15 PEG_n , en donde cada n es un número entero de 0-14 y cada $n1$ es un número entero de 1-12.

- En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-CH_2-$, Q^2 es $-C(O)-$ y W es $-CH_2-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-CH_2-$,
 Q^2 es $-C(O)-$ y W es $-O-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-CH_2-$, Q^2 es $-C(O)-$ y W es $-NH-$. En cualquiera de
 20 las realizaciones de este párrafo, R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$ y R^2 es $-N(H)R^4$. En cualquiera de las realizaciones de este
 párrafo, R^1 es $-N(H)R^4$ y R^2 es $-N(H)R^4$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^1 es $-N(R^5)_2$ y R^2 es
 $-N(H)R^4$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno,
 un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo
 sustituido, acilo o acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente
 25 en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción
 biodegradable o alquilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es hidrógeno. En cualquiera de
 las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso, un resto de aminoácido. En
 cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso, un resto de N-
 alquilaminoácido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso,
 un resto peptídico. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso,
 30 una fracción biodegradable. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en
 cada caso, alquilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso,
 alquilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso,
 acilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso, acilo
 sustituido. En cualquier realización en este párrafo, un R^4 es hidrógeno y el otro R^4 es un resto de aminoácido. En
 35 cualquier realización en este párrafo, un R^4 es hidrógeno y el otro R^4 es un resto peptídico. En cualquier realización
 en este párrafo, un R^4 es hidrógeno y el otro R^4 es alquilo sustituido. En cualquier realización en este párrafo, un R^4
 es hidrógeno y el otro R^4 es acilo. En cualquier realización en este párrafo, un R^4 es hidrógeno y el otro R^4 es acilo
 sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o
 heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o
 40 tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y
 $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es
 alquilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es arilo. En cualquiera de las realizaciones de este
 párrafo, R^5 es arilalquilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo. En cualquiera de
 las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este
 45 párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno y oxígeno.
 En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye un nitrógeno.
 En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye un oxígeno.
 En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye dos heteroátomos
 seleccionados entre nitrógeno y oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo
 50 y heterocicloalquilo incluye dos átomos de nitrógeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es
 heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye dos átomos de oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este
 párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye un nitrógeno y un oxígeno. En cualquiera de las
 realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye tres heteroátomos seleccionados
 entre nitrógeno y oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es heterocicloalquilo y
 55 heterocicloalquilo incluye tres átomos de nitrógeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es
 heterocicloalquilo y heterocicloalquilo incluye dos átomos de nitrógeno y un átomo de oxígeno. En cualquiera de las
 realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un heteroátomo seleccionado entre

nitrógeno y oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un nitrógeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos átomos de nitrógeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos átomos de oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un nitrógeno y un oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye tres átomos de nitrógeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos átomos de nitrógeno y un átomo de oxígeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente e incluye al menos un -OH y -CH₂OH. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente e incluye al menos un -OH y -CH₂OH. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente e incluye al menos un -OH y -CH₂OH. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente, e incluye al menos un nitrógeno primario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente, e incluye al menos un nitrógeno primario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente, e incluye al menos un nitrógeno primario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente, e incluye al menos un nitrógeno secundario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye dos heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente, e incluye al menos un nitrógeno secundario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^5 es un heterocicloalquilo sustituido e incluye tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, como anteriormente, e incluye al menos un nitrógeno secundario. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, -CN, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O-PEG_{n1}, en donde cada n es un número entero de 0-14 y cada $n1$ es un número entero de 1-12. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente halógeno. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente alquilo C₁₋₆. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente alcoxi C₁₋₆. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es -CN. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente una O-glucosa. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente un resto de O-aminoácido. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es un número entero de 1-12. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 1. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 2. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 3. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 4. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 5. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 6. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 7. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 8. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 9. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 10. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 11. En cualquier realización en este párrafo, cada R^6 es independientemente un O-PEG_{n1}, en donde cada $n1$ es 12. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, -CN, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O-PEG_{n1}, en donde cada n es un número entero de 0-14 y cada $n1$ es un número entero de 1-12 y cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, en una realización, un R^6 es halógeno y el otro R^6 es alquilo C₁₋₆. Se han contemplado otras realizaciones de combinación de R^6 ilustrativos, como apreciaría un experto en la materia. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, los aminoácidos adecuados como restos de aminoácidos o para combinarse como restos peptídicos incluyen alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico y ácido glutámico, y cualquier combinación de los mismos como restos peptídicos, como apreciaría un experto en la materia. Los expertos en la técnica reconocerán que el resto de aminoácido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo, restos de L-aminoácidos o restos de D-aminoácidos. Los expertos en la técnica reconocerán que los restos peptídicos pueden ser aquirales o quirales, por ejemplo, incluyendo DL-aminoácidos racémicos o D- o L-aminoácidos no racémicos y mezclas diastereoméricas de los mismos. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, los restos arilalquilo adecuados incluyen, bencilo, fenetilo, fenilpropilo, α -metilbencilo y cada estereoisómero del mismo, y 2-fenilpropilo y cada estereoisómero del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es bencilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es fenetilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es fenilpropilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es α -metilbencilo y cada estereoisómero del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es (R)- α -metilbencilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es (S)- α -metilbencilo. En cualquiera de las realizaciones

de este párrafo, arilalquilo es 2-fenilpropilo (es decir, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{F})\text{CH}_2-$) y cada estereoisómero del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es (*R*)-2-fenilpropilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, arilalquilo es (*S*)-2-fenilpropilo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, halógeno se selecciona entre el grupo que consiste en flúor, cloro, bromo y yodo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, halógeno es flúor.

5 En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, halógeno es cloro. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, halógeno es bromo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, halógeno es yodo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, el alquilo C_{1-6} se selecciona entre el grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y hexilo e isómeros constitucionales de los mismos. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es metilo o $-\text{CH}_3$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es etilo o $-\text{CH}_2\text{CH}_3$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es propilo o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es butilo o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es pentilo o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es hexilo o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alcoxi C_{1-6} se selecciona entre el grupo que consiste en metoxi, etoxi, propiloxi, butiloxi, pentiloxi y hexiloxi e isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es metoxi o $-\text{OCH}_3$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es etoxi o $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es propiloxi o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es butiloxi o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es pentiloxi o isómeros constitucionales del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, alquilo C_{1-6} es hexiloxi o isómeros constitucionales del mismo.

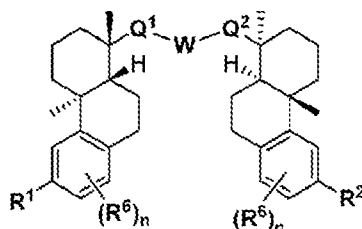
En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{O})-$ y W es $-\text{CH}_2-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{O})-$ y W es $-\text{O}-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{O})-$ y W es $-\text{NH}-$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{O})-$ y W es $-\text{CH}_2-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{O})-$ y W es $-\text{O}-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{O})-$ y W es $-\text{NH}-$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{CH}_2-$ y W es $-\text{CH}_2-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{CH}_2-$ y W es $-\text{O}-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{CH}_2-$ y W es $-\text{NH}-$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$ y W es $-\text{CH}_2-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$ y W es $-\text{O}-$. En una realización de Fórmula I, Q^1 es $-\text{C}(\text{O})-$, Q^2 es $-\text{C}(\text{H})(\text{OH})-$ y W es $-\text{NH}-$. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

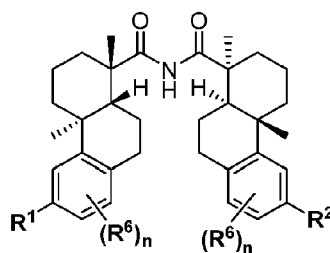
En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa que tiene la estructura de Fórmula (II):



(II)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa que tiene la estructura de Fórmula (III):



(III)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

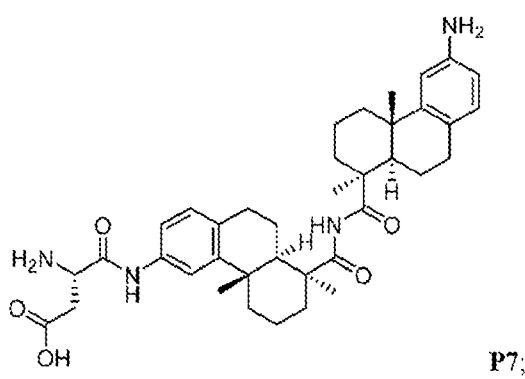
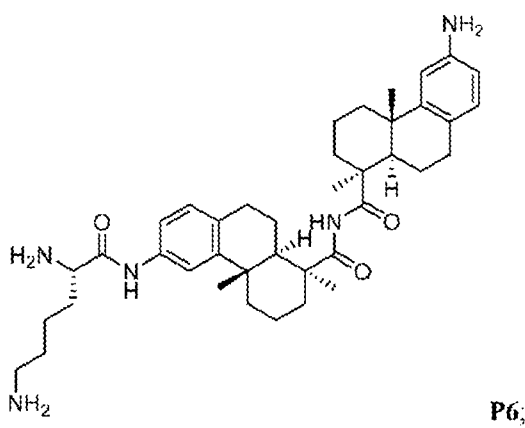
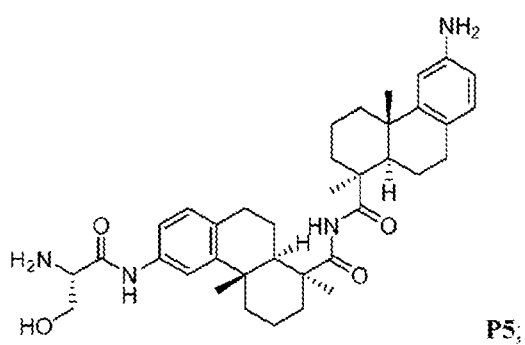
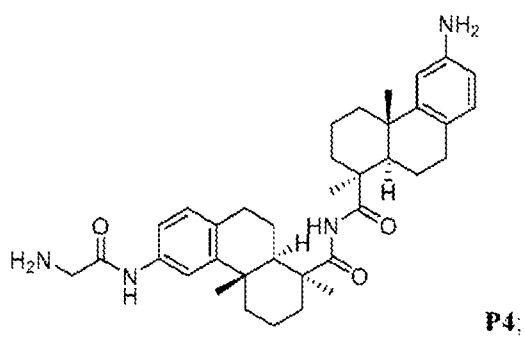
En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -N(H)**R⁴**. En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -N(**R⁵**)₂. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

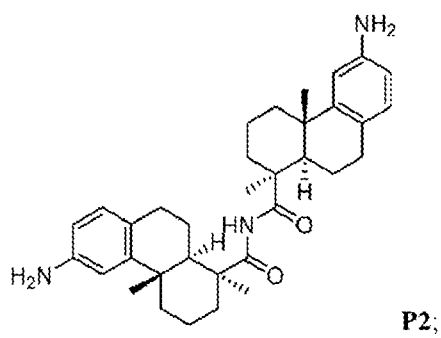
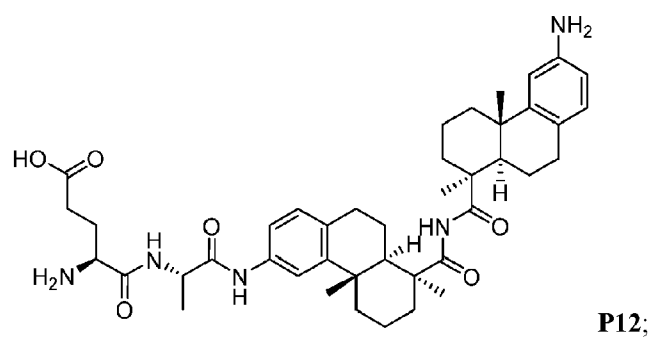
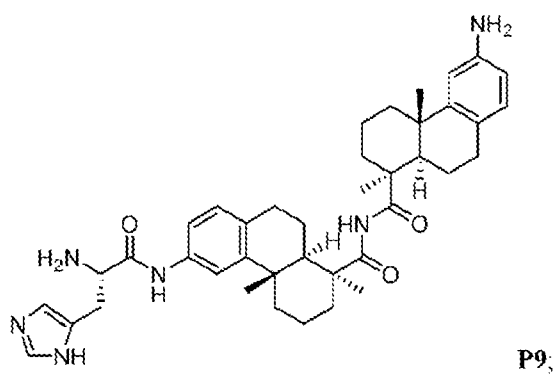
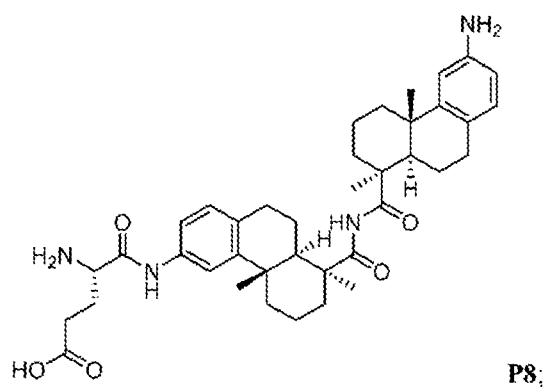
En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, donde **R¹** es

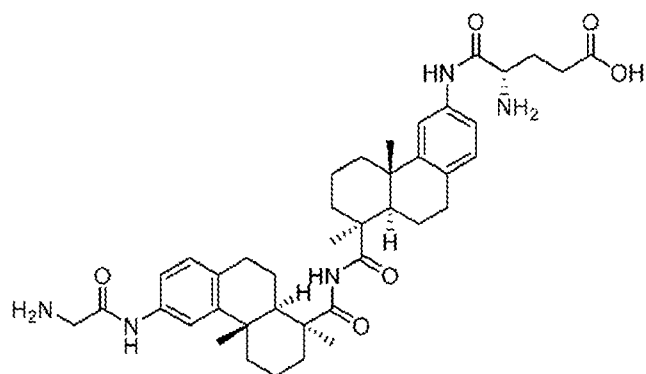
-NH₂; y **R⁴** es un resto de aminoácido. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es un resto de N-alquilaminoácido. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es un resto peptídico. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es una fracción biodegradable. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es alquilo. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es alquilo sustituido. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es acilo. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa de Fórmulas I, II o III, en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, los restos de aminoácidos adecuados son los descritos anteriormente en el contexto de la Fórmula I. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, los restos peptídicos adecuados son los descritos anteriormente en el contexto de la Fórmula I. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es un resto de aminoácido y el resto de aminoácido se selecciona entre el grupo que consiste en alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, y ácido glutámico. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa en donde **R¹** es -NH₂; y **R⁴** es un resto peptídico, en donde el resto peptídico comprende restos de aminoácidos seleccionados entre el grupo que consiste en alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, y ácido glutámico. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **R⁶** es como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I.

En algunas realizaciones, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa en donde **R¹** y **R²** son -N(H)**R⁴**. En una realización, en el presente documento se expone un compuesto o carga activa en donde **R¹** y **R²** son -N(H)**R⁴** y **R⁴** es, independientemente en cada caso, un resto de aminoácido; y el resto de aminoácido se selecciona entre el grupo que consiste en alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, y ácido glutámico.

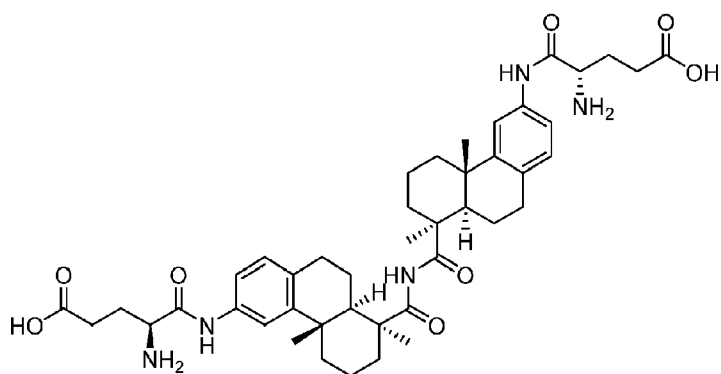
En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan compuestos o cargas activas seleccionadas entre el grupo que consiste en:





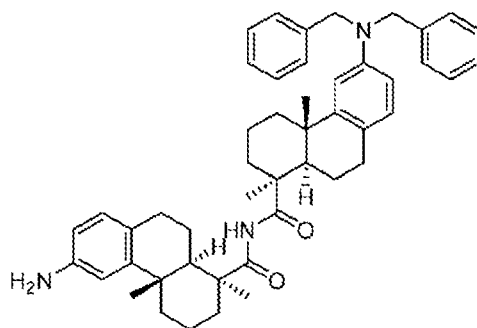


P10;

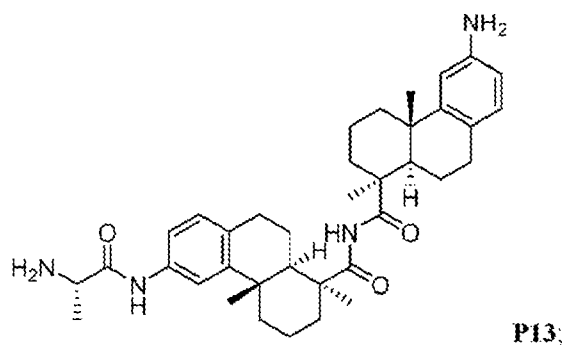


P11;

5 y



P3;

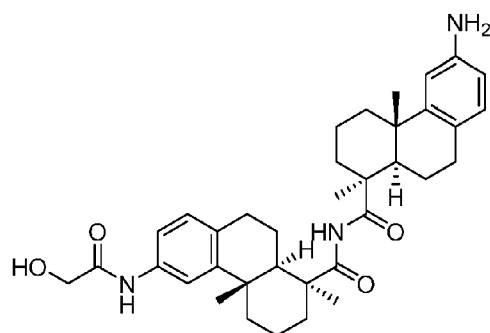


P13;

10

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

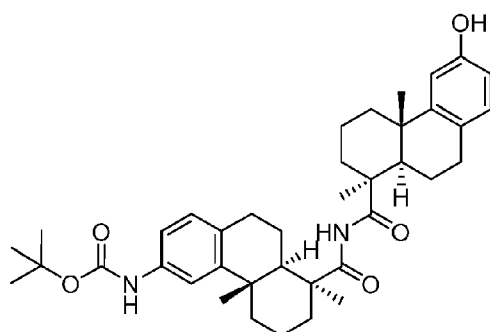
En una realización, en el presente documento se proporciona un compuesto que tiene la siguiente estructura,



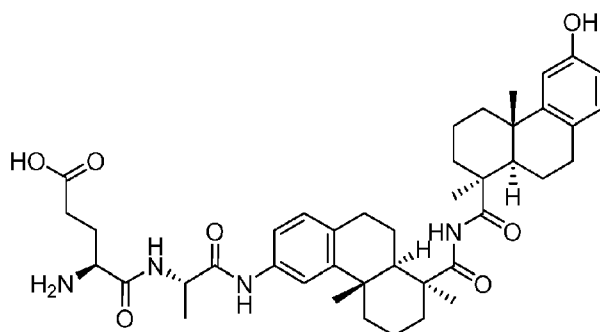
P14;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

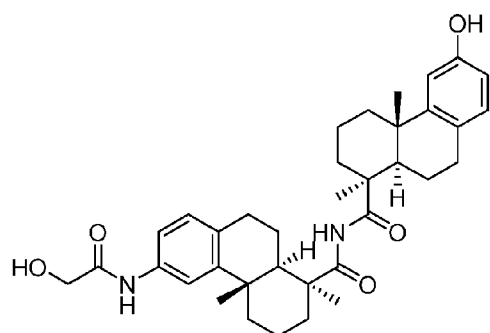
- 5 Además en el presente documento se proporcionan compuestos o cargas activas seleccionadas entre el grupo que consiste en:



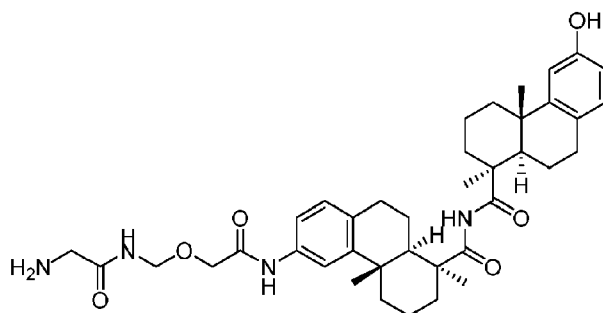
P15;



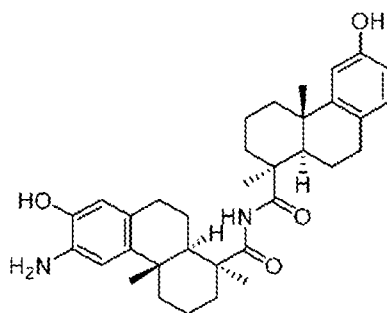
P16;



P17;

**P18;**

y

**P19.***Agentes de unión*

La divulgación proporciona ejemplos de agentes de unión para cualquiera de los conjugados proporcionados en la presente divulgación. Estos incluyen, aunque sin limitación, anticuerpos, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento, receptores virales, interleucinas o cualquier otra molécula o sustancia de unión celular o de unión a péptidos. Sin embargo, se apreciará que cuando el agente de unión es distinto de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, el conjugado queda fuera del alcance de las reivindicaciones.

En los conjugados definidos por las reivindicaciones, el agente de unión es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. El anticuerpo puede tener cualquier forma conocida por los expertos en la técnica. El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier molécula o complejo molecular de unión a antígeno que comprende al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) que se une específicamente a o interacciona con un antígeno concreto. El término "anticuerpo" incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM). Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C_H1, C_H2 y C_H3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C_L1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR, del inglés *complementarity determining regions*), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L comprende tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En realizaciones diferentes de la presente divulgación, las FR de los anticuerpos (o porción de unión a antígeno de los mismos) adecuadas para los compuestos o cargas activas del presente documento pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana o pueden estar modificadas de forma natural o artificial. Una secuencia de aminoácidos consenso puede definirse basándose en un análisis en paralelo de dos o más CDR. El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "parte de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo y similares, como se usa en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Pueden obtenerse fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo, por ejemplo, a partir de moléculas de anticuerpos completos utilizando cualquier técnica estándar adecuada, tales como digestión proteolítica o técnica(s) de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables y, opcionalmente, constantes del anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o se puede adquirir fácilmente de, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, fagotecas de anticuerpos) o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o mediante técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar, añadir o eliminar

aminoácidos, etc. Algunos ejemplos no limitativos de fragmentos de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas de Fv monocatenario (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades mínimas de reconocimiento que consisten en los restos de aminoácido que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una CDR aislada tal como un péptido CDR3) o un péptido restringido FR3-CDR3-FR4. Otras moléculas genomanipuladas, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos con dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos con CDR injertados, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), agentes inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP) y dominios IgNAR variables de tiburón, también se incluyen dentro de la expresión "fragmento de unión al antígeno", como se utiliza en el presente documento. Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que está adyacente a o en fase con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado con un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden situarse uno con respecto al otro en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener los dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Como alternativa, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico. En determinadas realizaciones, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido de manera covalente a al menos un dominio constante. Configuraciones no limitantes, ilustrativas, de dominios variables y constantes que pueden encontrarse dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención incluyen: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; y (xiv) V_L-C_L. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluidas cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una región bisagra o enlazadora completa o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que dan lugar a una unión flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula polipeptídica. Como ocurre con las moléculas de anticuerpo completas, los fragmentos de unión a antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión a antígeno multiespecífico de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno diferente o a un epítipo distinto en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluyendo los formatos de anticuerpo biespecífico ilustrativos que se divulgan en el presente documento, puede adaptarse para su uso en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente divulgación mediante técnicas habituales disponibles en la técnica. En determinadas realizaciones descritas en el presente documento, los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos humanos. La expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la presente divulgación pueden incluir restos de aminoácido no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de estirpe germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y, en particular, en la CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que secuencias de CDR procedentes de la estirpe germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se han injertado en secuencias marco humanas. La expresión "anticuerpo humano" no incluye moléculas naturales que normalmente existen sin modificación o intervención/manipulación humana, en un organismo vivo de origen natural, no modificado. Los anticuerpos de la presente divulgación pueden, en algunas realizaciones, ser anticuerpos humanos recombinantes. La expresión "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresados, se crean o se aíslan por medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora (que se describe con más detalle más adelante), anticuerpos aislados de un recombinante, biblioteca de anticuerpo humano combinatorio (que se describe en más detalle posteriormente), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados mediante cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En determinadas realizaciones, sin embargo, tales anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se utiliza un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque proceden de secuencias V_H y V_L de la línea germinal humana, y están relacionadas con ella, no pueden existir de forma natural dentro del repertorio de la estirpe germinal de anticuerpos humanos *in vivo*. Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que se asocian a la heterogeneidad de bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción de cuatro cadenas estable de aproximadamente 150-160 kDa en donde los dímeros se mantienen juntos mediante un enlace disulfuro intercatenario de la cadena pesada. En una segunda forma, los dímeros no están unidos a través de enlaces disulfuro intercatenarios y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta por una cadena ligera y pesada acopladas covalentemente (semianticuerpo). Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de la purificación por afinidad. La frecuencia de aparición de la segunda forma en diferentes isotipos de IgG inalterada se debe, aunque no de forma limitativa, a diferencias estructurales asociadas al isotipo de la región bisagra del anticuerpo.

Una sustitución de un único aminoácido en la región bisagra de la bisagra de IgG4 humana puede reducir significativamente la aparición de la segunda forma (Angal *et al.* (1993) *Molecular Immunology* 30:105) hasta los niveles normalmente observados usando una bisagra de IgG1 humana. La presente divulgación abarca anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región bisagra, la región C_H2 o la región C_H3, que puede ser deseable, por ejemplo, en la producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada. Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden ser anticuerpos aislados. Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o eliminado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en donde el anticuerpo existe de forma natural o se produce de forma natural, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente divulgación. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo *in situ* dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que se han sometido a al menos una etapa de purificación o aislamiento. De acuerdo con determinadas realizaciones, un anticuerpo aislado puede carecer sustancialmente de otro material celular y/o agentes químicos. Los anticuerpos usados en el presente documento pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos en las regiones marco y/o CDR de los dominios variables de cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias de la estirpe germinal correspondientes de las que derivan los anticuerpos. Dichas mutaciones pueden determinarse fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento con secuencias de la línea germinal disponibles, por ejemplo, en bases de datos públicas de secuencias de anticuerpos. La presente divulgación incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que proceden de cualquiera de las secuencias de aminoácidos desveladas en el presente documento, en donde uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones marco y/o CDR están mutados en el resto o restos correspondientes de la secuencia de la línea germinal de la que procede el anticuerpo, o en el resto o restos correspondientes de otra secuencia de la línea germinal humana, o en una sustitución de aminoácidos conservadora del resto o restos de la línea germinal correspondientes (dichos cambios de secuencia se denominan en conjunto en el presente documento "mutaciones de la línea germinal"). Un experto en la materia, partiendo de las secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera desveladas en el presente documento, puede producir numerosos anticuerpos y fragmentos de unión a antígenos que comprendan una o más mutaciones individuales de la línea germinal o combinaciones de las mismas. En determinadas realizaciones, todos los restos de la región marco y/o CDR dentro de los dominios V_H y/o V_L se retromutan a los restos encontrados en la secuencia de la estirpe germinal original de la que se obtuvo el anticuerpo. En otras realizaciones, únicamente determinados restos retromutan a la secuencia de línea germinal original, por ejemplo, únicamente los restos mutados encontrados dentro de los 8 primeros aminoácidos de FR1 o dentro de los 8 últimos aminoácidos de FR4, o únicamente los restos mutados encontrados dentro de CDR1, CDR2 o CDR3. En otras realizaciones, uno o más del resto o restos marco y/o CDR están mutados en el resto o restos correspondientes de una secuencia de línea germinal diferente (es decir, una secuencia de línea germinal que es diferente de la secuencia de línea germinal de la cual se obtuvo originalmente el anticuerpo). De manera adicional, los anticuerpos de la presente divulgación pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de la estirpe germinal dentro de las regiones marco conservadas y/o las CDR, por ejemplo, en donde determinados restos individuales mutan al resto correspondiente de una secuencia de la línea germinal particular, mientras que otros restos determinados, que difieren de los de la secuencia de la línea germinal original, se mantienen o mutan al resto correspondiente de una secuencia de línea germinal distinta. Una vez obtenidos, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que contienen una o más mutaciones de la estirpe germinal pueden probarse con respecto a una o más propiedades deseadas tales como, especificidad de unión mejorada, mayor afinidad de unión, propiedades biológicas antagonistas o agonistas mejoradas o potenciadas (según sea el caso) e inmunogenicidad reducida, etc. Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno obtenidos de esta manera general están abarcados en la presente divulgación. Los anticuerpos útiles para los compuestos o cargas activas del presente documento también incluyen anticuerpos que comprenden variantes de cualquiera de HCVR, LCVR y/o CDR divulgadas en el presente documento que tienen una o más sustituciones conservativas. El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico que interacciona con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como parátipo. Un único antígeno puede tener más de un epítipo. Por lo tanto, distintos anticuerpos pueden unirse a distintas áreas de un antígeno y pueden tener distintos efectos biológicos. Los epítipos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítipo conformacional se produce mediante aminoácidos yuxtapuestos espacialmente de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítipo lineal es uno producido por restos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. En determinadas realizaciones, un epítipo puede incluir fracciones de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera. En determinadas realizaciones, la cadena ligera variable es una cadena ligera kappa. En determinadas realizaciones, la cadena ligera es una cadena ligera lambda. En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgA. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgD. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgE. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgG. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgM. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgG1. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgG2. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgG3. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgG4. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgA1. En algunas realizaciones, la cadena pesada es una IgA2.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fv. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab. En algunas

realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un fragmento F(ab')₂. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab'. En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un fragmento scFv (sFv). En algunas realizaciones, el fragmento de anticuerpo es un fragmento scFv-Fc.

- 5 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo humano.

- 10 El anticuerpo puede tener especificidad de unión por cualquier antígeno que los expertos en la técnica consideren adecuado. En determinadas realizaciones, el antígeno es una molécula transmembrana (por ejemplo, un receptor) o un factor de crecimiento. Los antígenos ilustrativos incluyen, aunque sin limitación, moléculas tales como receptores secuestrantes de clase A, incluido el receptor secuestrante A (SR-A o MSR1), receptor de macrófagos con estructura
- 15 colagenosa (MARCO), receptor secuestrante con lectina de tipo C (SRCL) y receptor secuestrante A-5 (SCARA5), COLEC12, receptores secuestrantes de macrófagos de clase B, incluidos CD36, LIMP2, SRBI, SRBII, receptor secuestrante de clase D CD68 y glicoproteína de membrana lisosomal (LAMP), receptor secuestrante de clase E que incluye el receptor 1 de lipoproteína de baja densidad oxidado similar a la lectina LOX-1 y Dectina-1, receptores
- 20 secuestrantes de clase F, incluido el receptor secuestrante expresado por células endoteliales I (SREC-I) y SREC-II, así como múltiples dominios similares al factor de crecimiento epidérmico (EGF) (MEGF)10, ligando de quimiocina CXCL del receptor secuestrante de clase G 16 (CXCL16), receptores secuestrantes de clase H que incluyen fasciclin, tipo EGF, receptor secuestrante que contiene dominio de unión y similar a EGF de tipo lámina 1 (FEEL-1) y 2 (FEEL-2), receptor secuestrante de clase I CD163 y receptor secuestrante de clase J para productos finales de glicación
- 25 avanzada (RAGE), otros miembros de la superfamilia de lectinas de tipo C, incluidos DEC205, CD206, Dectina-2, Mincle, DC-SIGN y DNGR-1, y otras proteínas de membrana tales como el miembro relacionado con la familia B7, incluido V-set, y el dominio Ig que contiene 4 (VSIG4), receptor del factor estimulante de colonias 1 (CSF1R), receptor de asialoglicoproteína (ASGPR) y proteína similar al precursor de beta amiloide 2 (APLP-2). En algunas realizaciones, el antígeno es PRLR o HER2. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo anti-PRLR o anti-HER2. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo anti-MSR1. En el presente documento se describen anticuerpos
- 30 anti-MSR1 ilustrativos.

- Los enlazadores de agente de unión pueden unirse al agente de unión, por ejemplo, anticuerpo o molécula de unión a antígeno, a través de una unión en un aminoácido particular dentro del anticuerpo o molécula de unión al antígeno. Las uniones de aminoácidos ilustrativas que se pueden utilizar en el contexto de este aspecto de la divulgación
- 35 incluyen, por ejemplo, lisina (véanse, por ejemplo, US 5,208,020; US 2010/0129314; Hollander *et al.*, Bioconjugate Chem., 2008, 19:358-361; el documento WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; y US 2012/0585592), cisteína (véanse, por ejemplo, US 2007/0258987; el documento WO 2013/055993; el documento WO 2013/055990; el documento WO 2013/053873; el documento WO 2013/053872; el documento WO 2011/130598; US 2013/0101546; y US 7.750.116), selenocisteína (véanse, por ejemplo, el documento WO 2008/122039; y Hofer *et al.*, Proc. Natl. Acad.
- 40 Sci., EE.UU., 2008, 105:12451-12456), formil-glicina (véanse, por ejemplo, Carrico *et al.*, Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322; Agarwal *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., EE.UU., 2013, 110:46-51 y Rabuka *et al.*, Nat. Protocols, 2012, 10:1052-1067), aminoácidos no naturales (véase, por ejemplo, los documentos WO 2013/068874 y WO 2012/166559) y aminoácidos ácidos (véase, por ejemplo, WO 2012/05982). Los enlazadores también se pueden conjugar con una proteína de unión a antígeno mediante la unión a carbohidratos (véase, por ejemplo, los documentos US
- 45 2008/0305497, WO 2014/065661 y Ryan *et al.*, Food & Agriculture Immunol., 2001, 13:127-130).

En algunos ejemplos, el agente de unión es un anticuerpo o molécula de unión a antígeno, y el anticuerpo está unido al enlazador a través de un resto de lisina. En algunas realizaciones, el anticuerpo o molécula de unión a antígeno se une al enlazador a través de un resto de cisteína.

- 50 Los enlazadores también se pueden conjugar con uno o más restos de glutamina mediante conjugación quimioenzimática basada en transglutaminasa (véase, por ejemplo, Dennler *et al.*, Bioconjugate Chem. 2014, 25, 569-578) y el documento WO 2017/147542). Por ejemplo, en presencia de transglutaminasa, uno o más restos de glutamina de un anticuerpo pueden acoplarse a un compuesto de amina primaria. Brevemente, en algunas
- 55 realizaciones, se trata un anticuerpo que tiene un resto de glutamina (por ejemplo, un resto Gln295) con un compuesto de amina primaria, descrito con más detalle a continuación, en presencia de la enzima transglutaminasa. Los compuestos de amina primaria incluyen, por ejemplo, cargas activas o enlazador-cargas activas, que proporcionan directamente conjugados de anticuerpos y fármacos mediante acoplamiento mediado por transglutaminasa. Los compuestos de amina primaria también incluyen enlazadores y espaciadores que están funcionalizados con grupos
- 60 reactivos que pueden tratarse posteriormente con compuestos adicionales para la síntesis de conjugados de anticuerpos y fármacos. Los anticuerpos que comprenden restos de glutamina se pueden aislar de fuentes naturales o diseñarse para que comprendan uno o más restos de glutamina. Las técnicas para diseñar restos de glutamina en una cadena polipeptídica de anticuerpo (anticuerpos modificados con glutaminilo o moléculas de unión a antígeno) están dentro del conocimiento de los profesionales en la técnica. En determinadas realizaciones, el anticuerpo está
- 65 aglicosilado.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende un resto de glutamina en una o más posiciones de la cadena pesada numeradas 295 en el sistema de numeración EU. En la presente divulgación, esta posición se denomina glutamina 295, Gln295 o Q295. Los expertos reconocerán que este es un resto de glutamina conservado en la secuencia natural de muchos anticuerpos. En otras realizaciones útiles, el anticuerpo se puede diseñar para que comprenda un resto de glutamina. Las técnicas para modificar una secuencia de anticuerpo para incluir un resto de glutamina están dentro del conocimiento de los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Ausubel *et al.* Current Protoc. Mol. Biol.).

En determinadas realizaciones, el anticuerpo o un anticuerpo modificado con glutaminilo o molécula de unión a antígeno comprende al menos un resto de glutamina en al menos una secuencia de cadena polipeptídica. En determinadas realizaciones, el anticuerpo o un anticuerpo modificado con glutaminilo o una molécula de unión a antígeno comprende dos polipéptidos de cadena pesada, cada uno con un resto Gln295. En realizaciones adicionales, el anticuerpo o un anticuerpo modificado con glutaminilo o molécula de unión a antígeno comprende uno o más restos de glutamina en un sitio distinto de una cadena pesada 295. En el presente documento se incluyen anticuerpos de esta sección que portan mutaciones de Asn297Gln (N297Q) descritas en el presente documento. En el presente documento se incluyen anticuerpos de esta sección que portan restos Gln55 (Q55). Como se describe en el presente documento, la numeración de restos se realiza según el sistema de numeración EU.

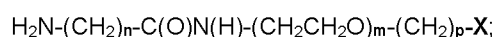
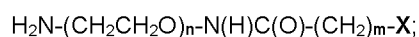
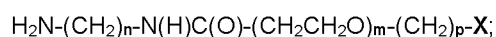
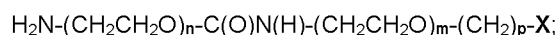
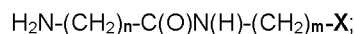
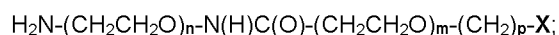
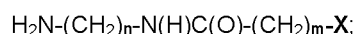
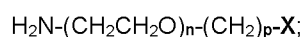
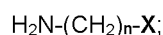
Compuestos de amina primaria

En determinadas realizaciones, los compuestos de amina primaria útiles para el acoplamiento mediado por transglutaminasa de un anticuerpo (o compuesto de unión a antígeno) que comprende una glutamina pueden ser cualquier compuesto de amina primaria considerado útil por el profesional experto. En general, el compuesto de amina primaria tiene la fórmula H_2N-R , donde R puede ser cualquier grupo compatible con el anticuerpo y las condiciones de reacción. En determinadas realizaciones, R es alquilo, alquilo sustituido, heteroalquilo o heteroalquilo sustituido.

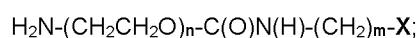
En algunas realizaciones, el compuesto de amina primaria comprende un grupo reactivo o un grupo reactivo protegido. Los grupos reactivos útiles incluyen azidas, alquinos, cicloalquinos, tioles, alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos, ésteres, hidrazidas, anilinas y aminas. En determinadas realizaciones, el grupo reactivo se selecciona entre el grupo que consiste en azida, alquino, sulfhidrido, cicloalquino, aldehído y carboxilo.

En determinadas realizaciones, el compuesto de amina primaria es conforme a la fórmula $H_2N-LL-X$, donde LL es un espaciador divalente y X es un grupo reactivo o grupo reactivo protegido. En realizaciones particulares, LL es un grupo polietilenglicol (PEG) divalente. En determinadas realizaciones, X se selecciona entre el grupo que consiste en -SH, -N₃, alquino, aldehído y tetrazol. En realizaciones particulares, X es -N₃.

En determinadas realizaciones, el compuesto de amina primaria es conforme a una de las siguientes fórmulas:



y

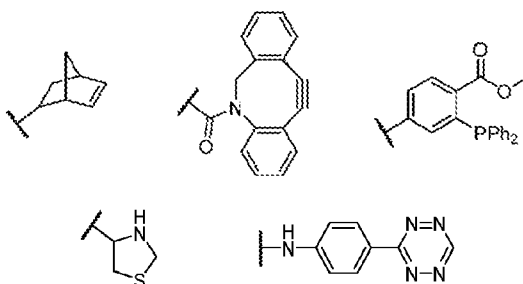


donde n es un número entero seleccionado de 1 a 12;

m es un número entero seleccionado de 0 a 12;

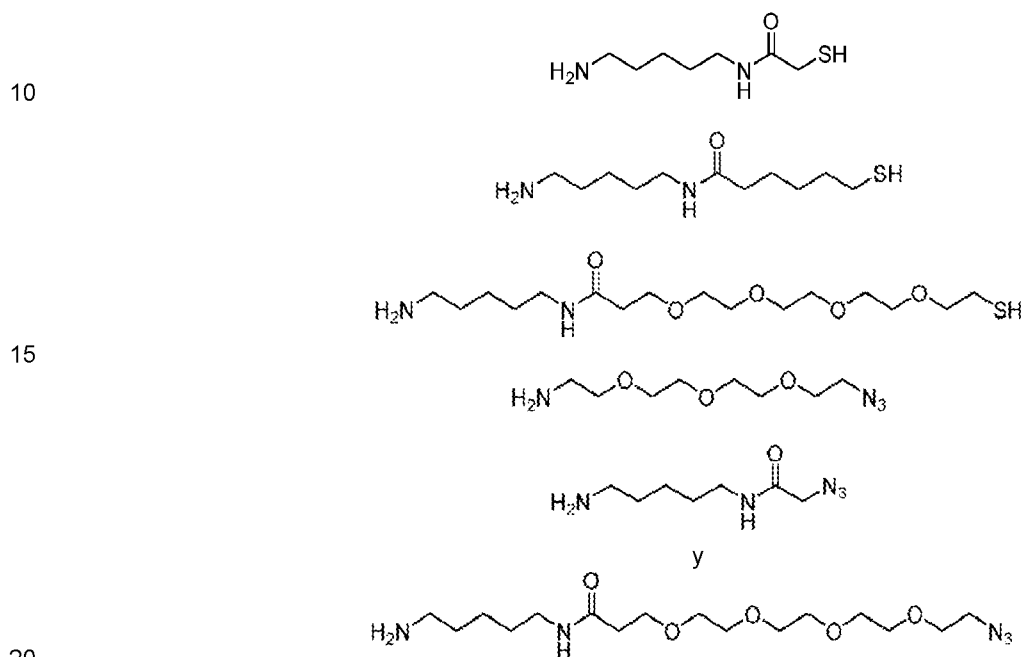
p es un número entero seleccionado de 0 a 2;

y X se selecciona entre el grupo que consiste en -SH, -N₃, -C=CH, -C(O)H, tetrazol y cualquiera de



5 En lo anterior, cualquiera de los grupos alquilo (es decir, $-\text{CH}_2-$) pueden estar sustituidos opcionalmente, por ejemplo, con alquilo C_{1-8} , metilformilo o $-\text{SO}_3\text{H}$. En determinadas realizaciones, los grupos alquilo no están sustituidos.

En determinadas realizaciones, el compuesto de amina primaria se selecciona entre el grupo que consiste en:



En realizaciones particulares, el compuesto de amina primaria es



En los ejemplos siguientes se proporcionan condiciones ilustrativas para las reacciones anteriores.

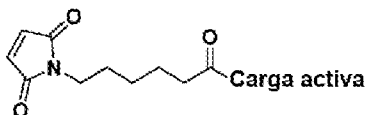
Enlazadores

30 En determinadas realizaciones, la porción de enlazador **L** de los conjugados descritos en el presente documento es una fracción, por ejemplo, una fracción divalente, que une covalentemente un agente de unión a un compuesto de carga activa descrito en el presente documento. En otros casos, el enlazador **L** es una fracción trivalente o multivalente que une covalentemente un agente de unión a un compuesto de carga activa descrito en el presente documento. Se pueden encontrar enlazadores adecuados, por ejemplo, en Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins; Phillips, G. L., Ed.; Springer Verlag: Nueva York, 2013; Antibody-Drug Conjugates; Ducry, L., Ed.; Humana Press, 2013; Antibody-Drug Conjugates; Wang, J., Shen, W.-C. y Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015. Los compuestos de carga activa son compuestos de las Fórmulas I, II y III anteriores y sus restos después de la unión o incorporación con el enlazador **L**, en donde la combinación de compuestos o cargas activas con el enlazador **L** son enlazador-cargas activas (LP). Los expertos en la técnica reconocerán que ciertos grupos funcionales del compuesto o fracciones de carga activa son convenientes para unirse a enlazadores y/o agentes de unión. Dichos grupos incluyen aminas, hidroxilos, fosfatos y azúcares.

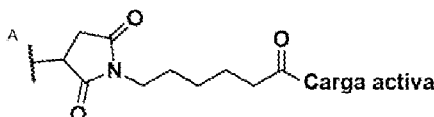
En determinadas realizaciones, los enlazadores son estables en condiciones fisiológicas. En determinadas realizaciones, los enlazadores son escindibles, por ejemplo, capaces de liberar al menos el compuesto o parte de carga activa en presencia de una enzima o en un intervalo o valor de pH concreto. En algunas realizaciones, un

enlazador comprende una fracción escindible mediante enzima. Las fracciones escindibles por enzimas ilustrativas incluyen, aunque sin limitación, enlaces peptídicos, enlaces éster, hidrazonas y enlaces disulfuro. En algunas realizaciones, el enlazador comprende un enlazador escindible con catepsina.

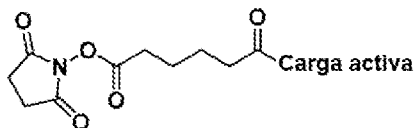
- 5 En algunas realizaciones, el enlazador comprende una fracción no escindible. En algunas realizaciones, el enlazador no escindible se obtiene de



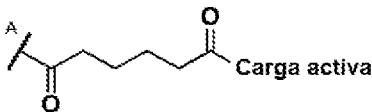
o un resto del mismo. En algunas realizaciones, el enlazador no escindible-carga activa es



- 10 o un regioisómero del mismo. En algunas realizaciones, el enlazador no escindible se obtiene de



- 15 o un resto del mismo. En algunas realizaciones, el enlazador no escindible-carga activa es



o un regioisómero del mismo. En una realización, el enlazador es ciclohexanocarboxilato de maleimida o ácido 4-(N-maleimidometil)ciclohexanocarboxílico (MCC). En las estructuras,



indica un enlace a un agente de unión. En las estructuras, en algunos ejemplos,



indica un resto químico de clic que resulta de la reacción de, por ejemplo, un agente de unión y una carga activa del enlazador.

- 30 En algunas realizaciones, los enlazadores adecuados incluyen, aunque sin limitación, aquellos que están unidos químicamente a dos restos de cisteína de un único agente de unión, por ejemplo, anticuerpo. Dichos enlazadores pueden servir para imitar los enlaces disulfuro del anticuerpo que se rompen como resultado del proceso de conjugación.

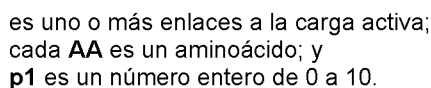
- 35 En algunas realizaciones, el enlazador comprende uno o más aminoácidos. Los aminoácidos adecuados incluyen L- o D-α-aminoácidos naturales, no naturales, estándar, no estándar, proteinogénicos, no proteinogénicos. En algunas realizaciones, el enlazador comprende alanina, valina, glicina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano, fenilalanina, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, histidina o citrulina, un derivado de los mismos o combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, una o más cadenas laterales de los aminoácidos están unidas a un grupo de cadena lateral, descrito a continuación.
- 40 En algunas realizaciones, el enlazador comprende valina y citrulina. En algunas realizaciones, el enlazador comprende lisina, valina y citrulina. En algunas realizaciones, el enlazador comprende lisina, valina y alanina. En algunas realizaciones, el enlazador comprende valina y alanina.

- 45 En algunas realizaciones, el enlazador comprende un grupo autoinmolable. El grupo autoinmolable puede ser cualquier grupo conocido por los expertos. En realizaciones particulares, el grupo autoinmolable es *p*-aminobencilo (PAB) o un derivado del mismo. Los derivados útiles incluyen *p*-aminobenciloxycarbonilo (PABC). Los expertos reconocerán que un grupo autoinmolable es capaz de llevar a cabo una reacción química que libera los átomos

En algunas realizaciones, el enlazador es:



SP¹ es un espaciador;
SP² es un espaciador;



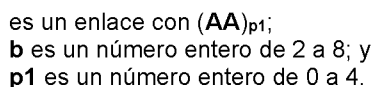
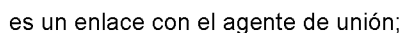
25

30

35



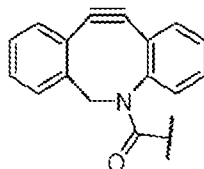
40



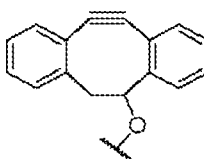
55

hidroxisuccinimida o porciones de maleimida que son capaces de reaccionar con el agente de unión.

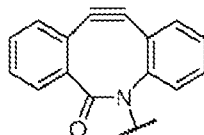
En determinadas realizaciones, los grupos reactivos incluyen, aunque sin limitación, alquinos. En determinadas realizaciones, los alquinos son alquinos capaces de sufrir reacciones de 1,3-cicloaddición con azidas en ausencia de catalizadores de cobre, tales como alquinos tensionados. Los alquinos tensionados son adecuados para cicloadiciones de alquino-azida promovidas por tensión (SPAAC), cicloalquinos, por ejemplo, ciclooctinas, y alquinos benzanillados. Los alquinos adecuados incluyen, aunque sin limitación, dibenzoazaciclooctina o



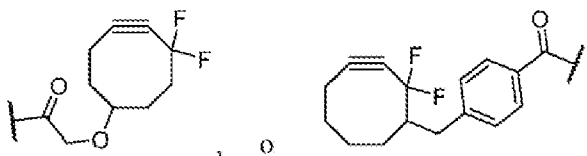
10 (DIBAC), dibenzociclooctina o



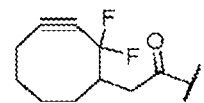
15 (DIBO), biarilazaciclooctinona o



20 (BARAC), ciclooctina difluorada o



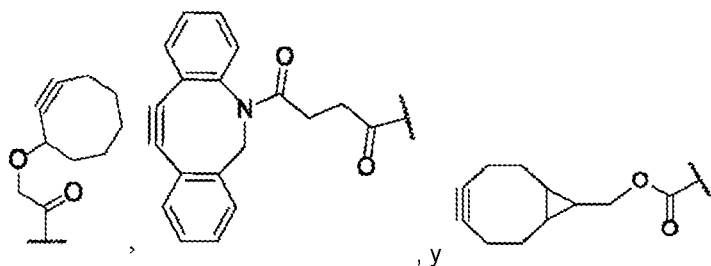
o



25 (DIFO), sustituido, por ejemplo, alquinos fluorados, aza-cicloalquinos, biciclo[6.1.0]nonino o



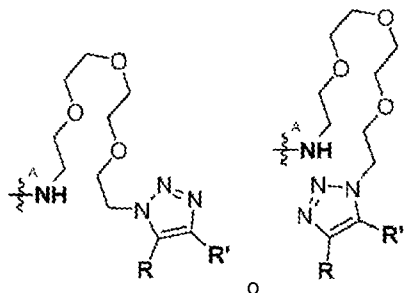
30 (BCN) y derivados de los mismos. Los alquinos particularmente útiles incluyen



En determinadas realizaciones, el agente de unión se une directamente a **RG'**. En determinadas realizaciones, el agente de unión está unido a **RG'** a través de un espaciador, por ejemplo **SP⁴**, a continuación. En realizaciones particulares, el agente de unión está unido a **RG'** mediante un espaciador PEG. Como se analiza a continuación en detalle, en determinadas realizaciones, el agente de unión se prepara funcionalizándolo con uno o más grupos azido.

5 Cada grupo azido es capaz de reaccionar con **RG** para formar **RG'**. En realizaciones particulares, el agente de unión se derivatiza con -PEG-N₃ unido a un resto de glutamina. Los agentes de unión derivatizados de -N₃ ilustrativos, métodos para su preparación y métodos para su uso al reaccionar con **RG** se proporcionan en el presente documento. En determinadas realizaciones, **RG** es un alquino adecuado para participar en 1,3-cicloadiciones, y **RG'** es una fracción 1,2,3-triazolilo formada a partir de la reacción de **RG** con un agente de unión funcionalizado con azido. A modo de

10 ejemplo adicional, en determinadas realizaciones, **RG'** está unido al agente de unión como se muestra en



o una mezcla de cada regioisómero. Cada **R** y **R'** es como se describe en el presente documento.

El espaciador **SP²** es una fracción que conecta la fracción (**AA**)_{p1} a la carga activa. Los espaciadores adecuados incluyen, aunque sin limitación, los descritos anteriormente como espaciadores **SP¹**. Los espaciadores **SP²** más adecuados incluyen, aunque sin limitación, aquellos que comprenden alquileno o poliéter, o ambos. Los extremos de los espaciadores **SP²**, por ejemplo, la porción del espaciador unida directamente a la carga activa o a un **AA**, pueden ser fracciones derivadas de fracciones reactivas que se utilizan con fines de acoplamiento de la carga activa o **AA** al espaciador **SP²** durante la síntesis química del conjugado. En algunos ejemplos, los extremos de los espaciadores **SP²**, por ejemplo, la porción del espaciador **SP²** unido directamente a la carga activa o a un **AA**, pueden ser restos de fracciones reactivas que se utilizan con fines de acoplamiento de la carga activa o un **AA** al espaciador durante la síntesis química del conjugado.

En algunas realizaciones, el espaciador **SP²** se selecciona entre el grupo que consiste en -O-, -N(**R⁶ⁱ**)-, -**R⁴ⁱ**-, -**R⁵ⁱ**-, -**OR⁵ⁱ**- y -OP(O)(**OR⁶ⁱ**)O-, en donde:

R⁴ⁱ es -**Z'**-**Y**-**X**-;

X se selecciona entre el grupo que consiste en -O- y -N(**H**)-

Y se selecciona entre el grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (incluido, sin limitación, sustitución oxo, es decir, =O), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido;

Z'' se selecciona entre el grupo que consiste en -O- y -N(**H**)-

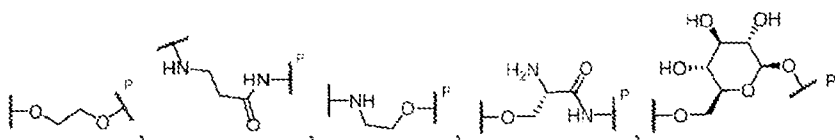
R⁵ⁱ es heterocicloalquileno o heterocicloalquileno sustituido, en donde cada heterocicloalquileno o heterocicloalquileno sustituido incluye uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, incluyendo al menos dos fracciones seleccionadas entre el grupo que consiste en -O-, -N(**H**)- y

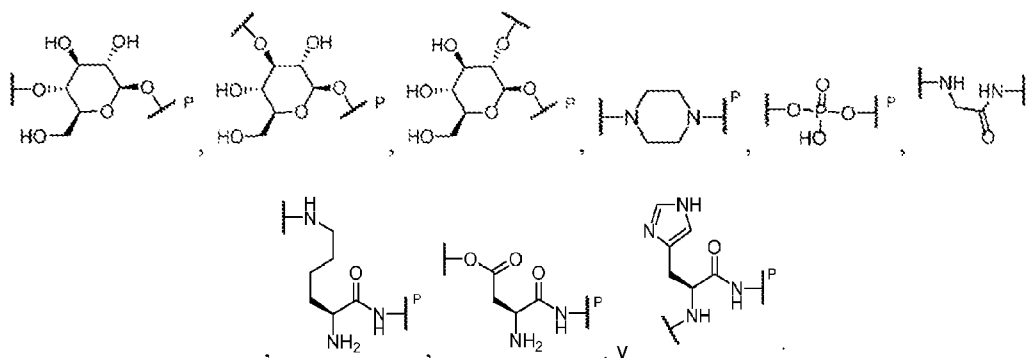


útiles para unirse al resto de la molécula; y

cada **R⁶ⁱ** es -H, un resto de aminoácido, un péptido o alquilo.

En determinadas realizaciones, el espaciador **SP²** se selecciona entre el grupo que consiste en -O-, -N(**H**)-,





5

En determinadas realizaciones, cada uno



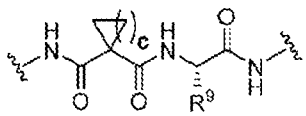
10 es un enlace a la carga activa, y cada



es un enlace con $(AA)_{p1}$.

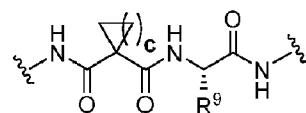
15

En las fórmulas anteriores, cada **AA** es un aminoácido u, opcionalmente, un resto *p*-aminobenciloxicarbonilo (PABC) o



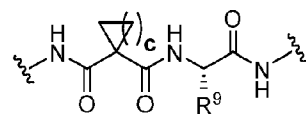
20

en donde **c** es 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Si hay PABC presente, preferentemente sólo está presente un PABC. Preferentemente, el resto de PABC, si está presente, está unido a un **AA** terminal en el grupo $(AA)_{p1}$, proximal a la carga activa. Si



25

está presente, preferentemente **c** es 2. Preferentemente, el



30

resto, si está presente y **c** es 2, está unido a un **AA** terminal en el grupo $(AA)_{p1}$, distal a la carga activa. Los aminoácidos adecuados para cada **AA** incluyen L- o D- α -aminoácidos naturales, no naturales, estándar, no estándar, proteinogénicos, no proteinogénicos. En algunas realizaciones, el enlazador **AA** comprende alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano, fenilalanina, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, histidina o citrulina, un derivado de estos o una combinación de estos. En

35

determinadas realizaciones, una o más cadenas laterales de los aminoácidos están unidas a un grupo de cadena lateral, descrito a continuación. En algunas realizaciones, **p1** es cero. En algunas realizaciones, **p1** es dos. En algunas realizaciones, el $(AA)_{p1}$ es valina-citrulina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es citrulina-valina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es valina-alanina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es alanina-valina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es valina-glicina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es glicina-valina. En algunas realizaciones, **p1** es tres. En

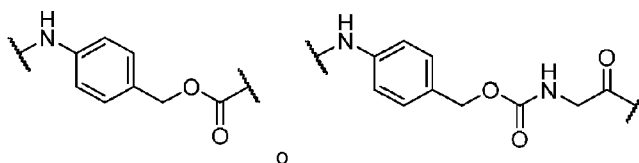
40

algunas realizaciones, el $(AA)_{p1}$ es valina-citrulina-PABC. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es citrulina-valina-PABC. En algunas realizaciones, el $(AA)_{p1}$ es lisina-valina-citrulina-PABC. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es glutamato-valina-citrulina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es glutamina-valina-citrulina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es lisina-valina-alanina. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es lisina-valina-citrulina. En algunas realizaciones, **p1** es cuatro. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es glutamato-valina-citrulina-PAB. En algunas realizaciones, $(AA)_{p1}$ es glutamina-

45

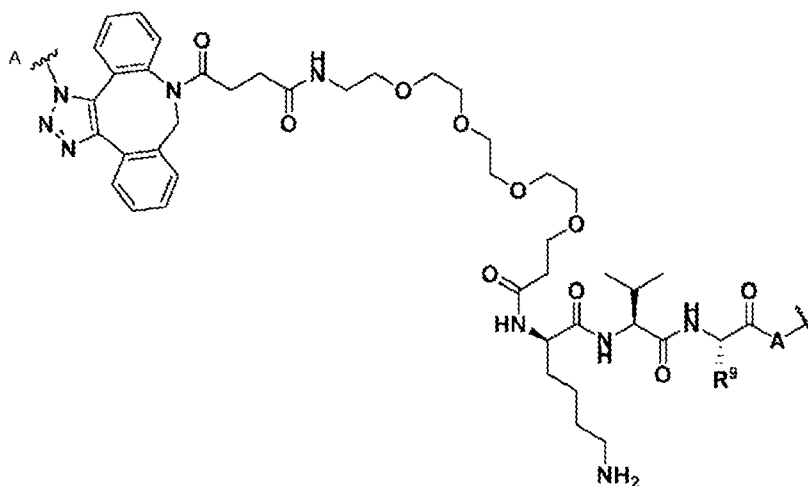
valina-citrulina-PABC. Los expertos reconocerán PABC como un resto de *p*-aminobenciloxicarbonilo con las siguientes

estructuras ilustrativas:

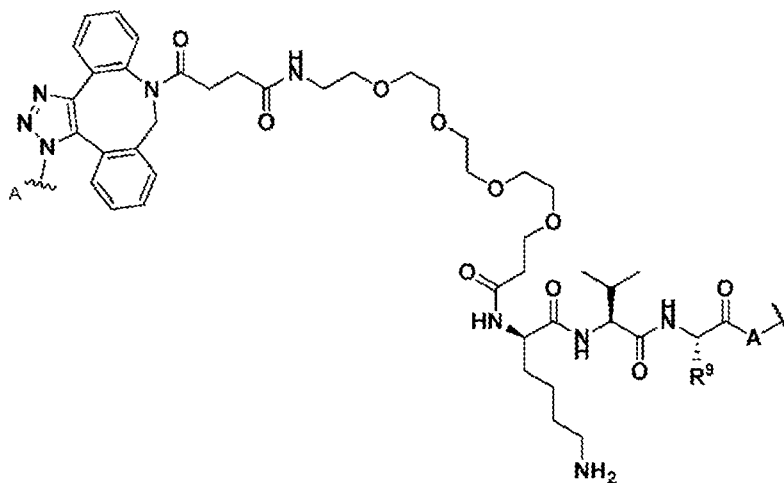


5 Se ha demostrado que el resto de PABC facilita la escisión de ciertos enlazadores *in vitro* e *in vivo*.

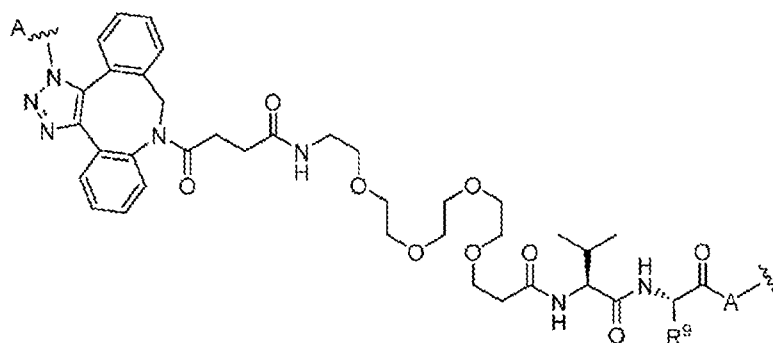
En algunas realizaciones, el enlazador es: o



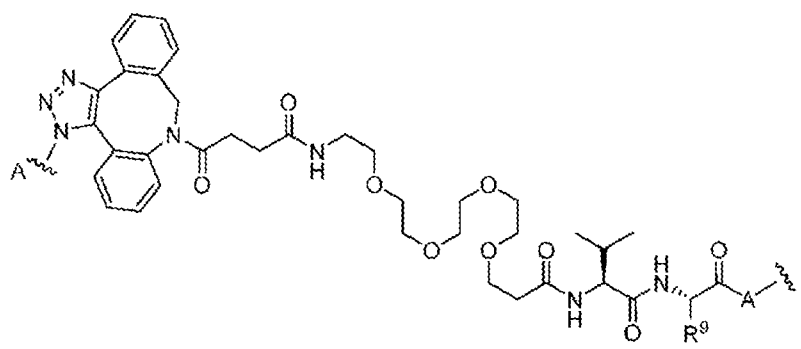
10



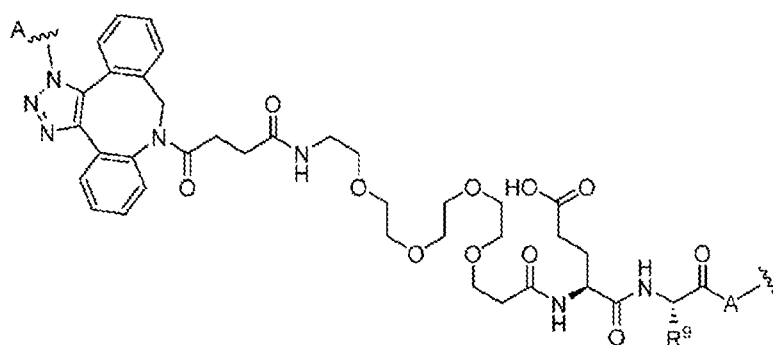
○



15

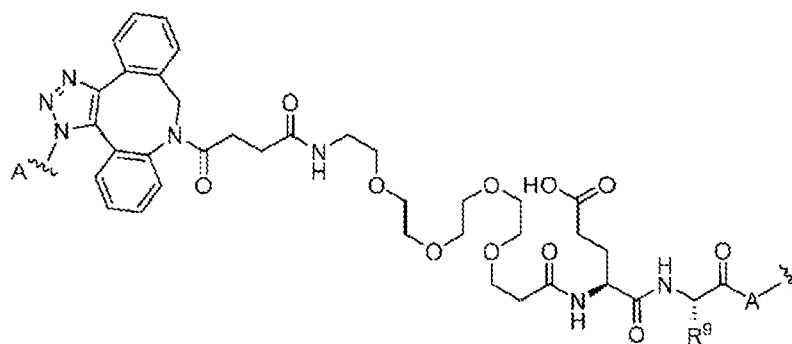


o



5

o



10

en donde:

cada uno

15



es un enlace con el agente de unión;

cada uno

20

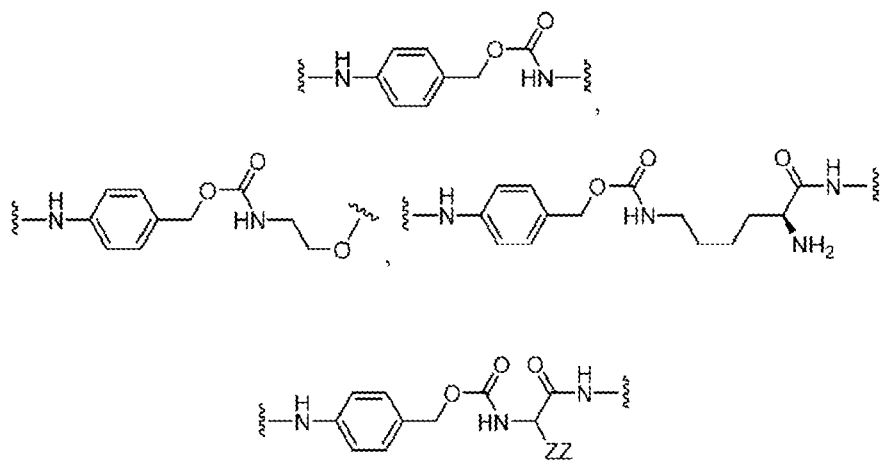


es un enlace con la carga activa;

25

cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

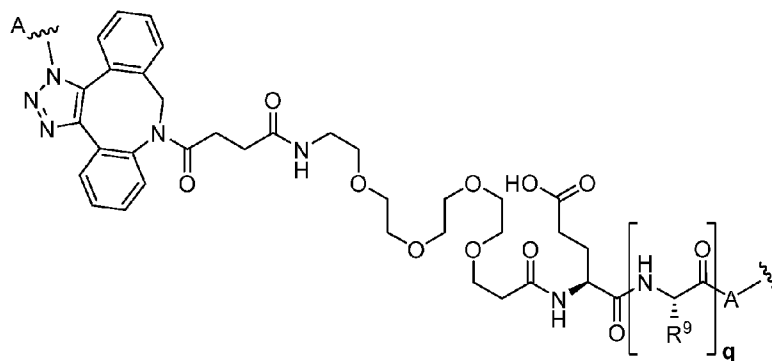
cada A es $-O-$, $-N(H)-$,



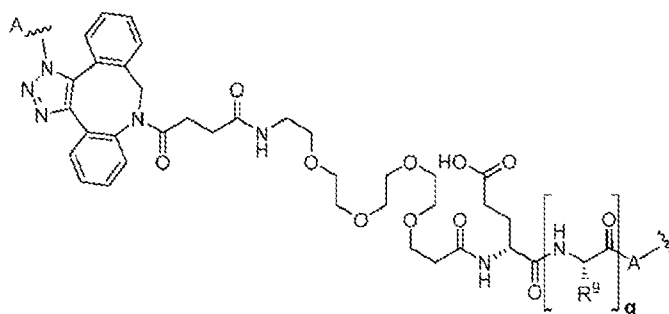
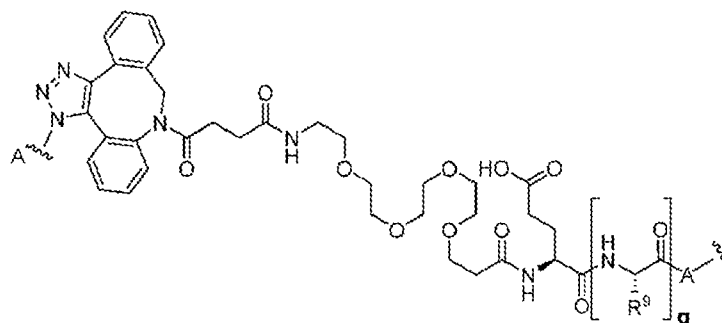
5 o

10 donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆. Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

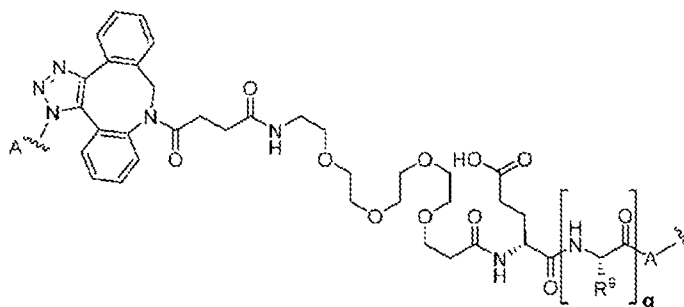
15 En algunas realizaciones, el enlazador es:



20 o



o



5

en donde:

cada uno

10



es un enlace con el agente de unión;

cada uno

15

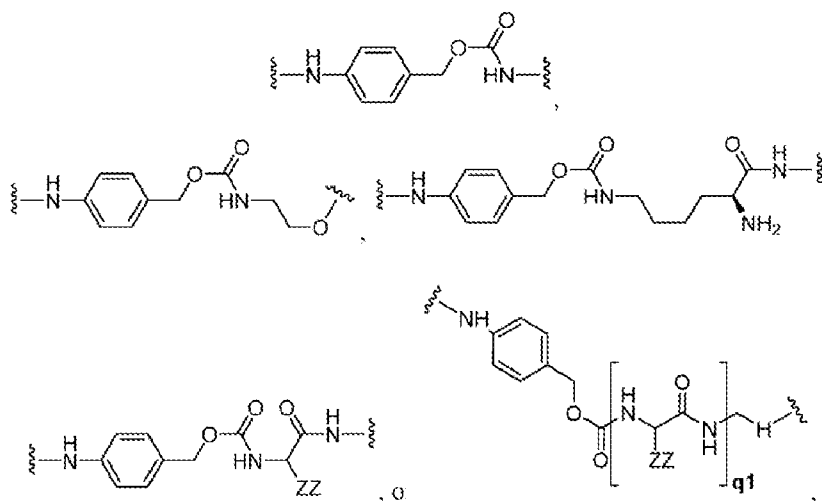


es un enlace con la carga activa;

20

cada R^9 es $-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; q es un número entero de uno a tres; ycada A es $-O-$, $-N(H)-$,

25

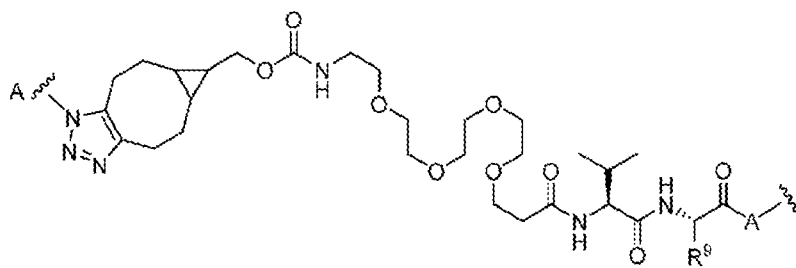
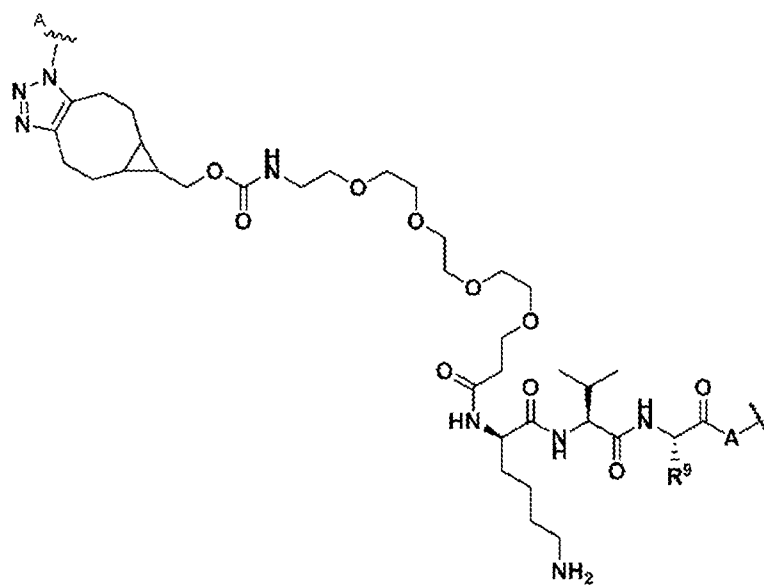


30

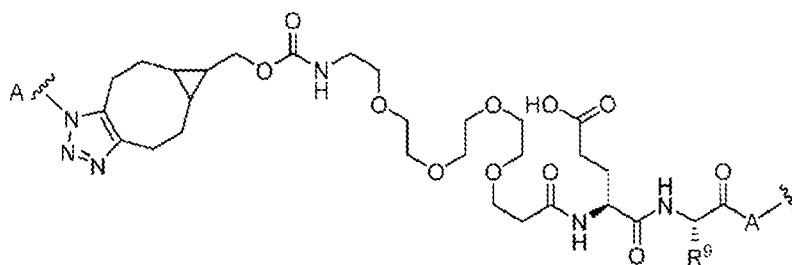
donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento; $q1$ es un número entero de uno a cinco; y H es $-O-$ o $-NH-$. Por ejemplo, en una realización, ZZ es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, ZZ es heteroalquilo C_{1-6} . En una realización, H es $-O-$. En una realización, H es $-NH-$. Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

35

En algunas realizaciones, el enlazador es:



or



5

en donde:

10

cada uno



es un enlace con el agente de unión;

15

cada uno

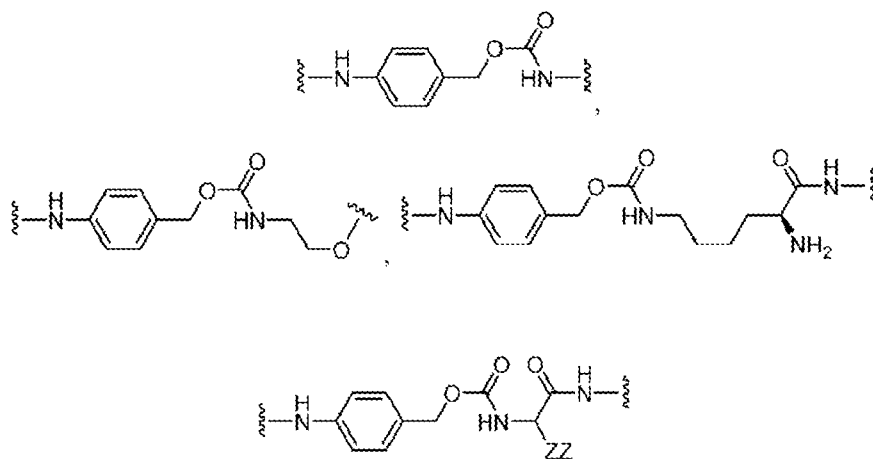


20

es un enlace con la carga activa;

cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

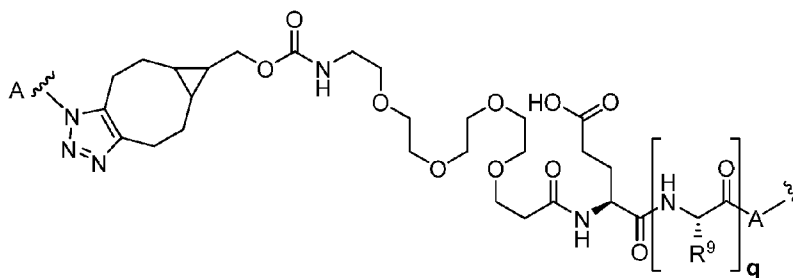
cada A es $-O-$, $-N(H)-$,



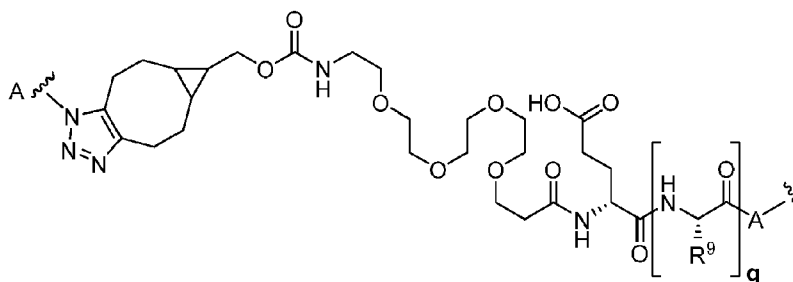
5 o

10 donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

15 En algunas realizaciones, el enlazador es:



20 o



en donde:

25 cada uno

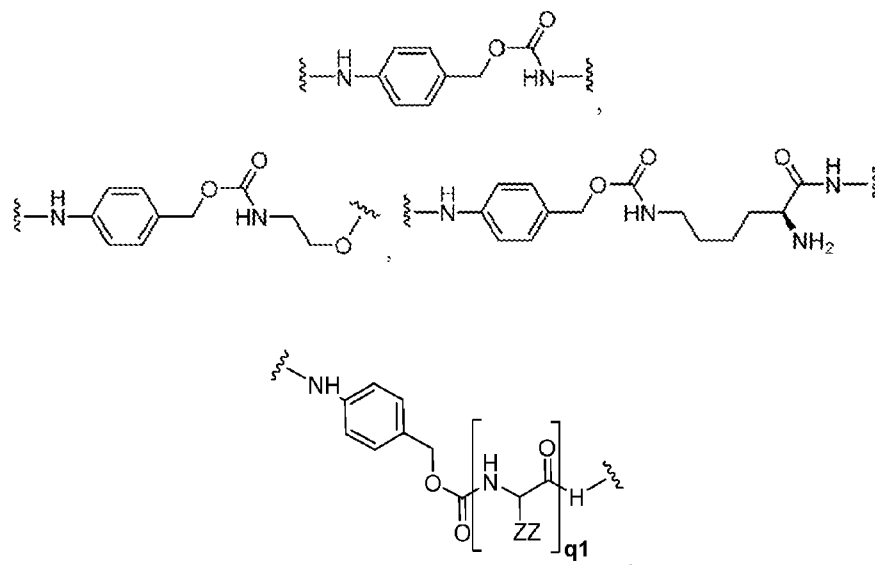


30 es un enlace con el agente de unión;
cada uno



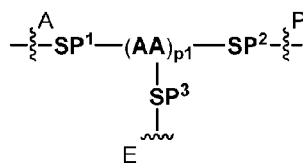
35 es un enlace con la carga activa;
cada R^9 es $-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$;
 q es un número entero de uno a tres; y

cada A es -O-, -N(H)-,



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento; **q1** es un número entero de uno a cinco; y **H** es -O- o -NH-. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆. En una realización, **H** es -O-. En una realización, **H** es -NH-. Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el grupo **(AA)_{p1}** se puede modificar con uno o más grupos de mejora. Ventajosamente, el grupo potenciador puede unirse a la cadena lateral de cualquier aminoácido en **(AA)_{p1}**. Los aminoácidos útiles para unir grupos de mejora incluyen lisina, asparagina, aspartato, glutamina, glutamato y citrulina. El enlace al grupo potenciador puede ser un enlace directo a la cadena lateral de aminoácidos o el enlace puede ser indirecto a través de un grupo espaciador y/o reactivo. Los espaciadores y grupos reactivos útiles incluyen cualquiera de los descritos anteriormente. El grupo potenciador puede ser cualquier grupo que los expertos en la técnica consideren útil. Por ejemplo, el grupo potenciador puede ser cualquier grupo que imparta un efecto beneficioso al compuesto, carga activa, carga activa del enlazador o conjugado de anticuerpo que incluye, aunque no de forma limitativa, efectos biológicos, bioquímicos, sintéticos, solubilizantes, de formación de imágenes, detección y de reactividad, y similares. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es una ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. El grupo potenciador es capaz de mejorar la solubilidad del resto del conjugado. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico está sustituido o no sustituido. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En algunas realizaciones, el enlazador es:



en donde:

- 5 **SP¹** es un espaciador;
SP² es un espaciador;
SP³ es un espaciador, unido a un **AA** de **(AA)_{p1}**;



- 10 es uno o más enlaces al agente de unión;



- 15 es uno o más enlaces a la carga activa;



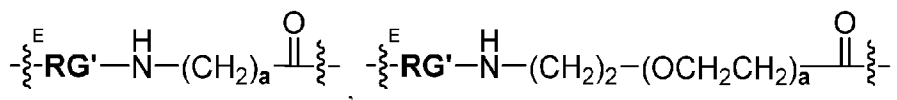
- 20 es uno o más enlaces al grupo potenciador **EG**;
 cada **AA** es un aminoácido; y
p1 es un número entero de 1 a 10.

Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

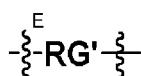
El grupo espaciador **SP¹** es como se ha descrito anteriormente. El grupo espaciador **SP²** es como se ha descrito anteriormente. Cada grupo **(AA)_{p1}** es como se ha descrito anteriormente.

30 El espaciador **SP³** es una fracción que conecta la fracción **(AA)_{p1}** al grupo potenciador (**EG**). Los espaciadores **SP³** adecuados incluyen, aunque sin limitación, aquellos que comprenden alquileo o poliéter, o ambos. Los extremos de los espaciadores **SP³**, es decir, la porción del espaciador **SP³** unido directamente al grupo potenciador o a un **AA**, pueden ser fracciones derivadas de fracciones reactivas que se utilizan con fines de acoplamiento del grupo potenciador o un **AA** al espaciador **SP³** durante la síntesis química del conjugado. En algunos ejemplos, los extremos de los espaciadores **SP³**, es decir, la porción del espaciador unida directamente al grupo potenciador o a un **AA**, pueden ser restos de fracciones reactivas que se utilizan con fines de acoplamiento del grupo potenciador o un **AA** al espaciador durante la síntesis química del conjugado. En determinadas realizaciones, **SP³** es un espaciador, unido a uno y sólo uno **AA** de **(AA)_{p1}**. En determinadas realizaciones, el espaciador **SP³** está unido a la cadena lateral de un

40 En algunas realizaciones, el espaciador **SP³** es:



45 o



en donde:

50 **RG'** es un resto de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo **RG** con un agente potenciador **EG**;



es un enlace con el agente potenciador;



5

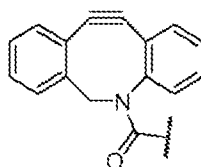
es un enlace con **(AA)_{p1}**;

a es un número entero de 2 a 8; y

p1 es un número entero de 1 a 4.

- 10 El grupo reactivo **RG** puede ser cualquier grupo reactivo conocido por los expertos en la técnica como capaz de formar uno o más enlaces con el agente potenciador. El grupo reactivo **RG** es una fracción que comprende una porción en su estructura que es capaz de reaccionar con el grupo potenciador para formar un compuesto de fórmula **LPa**, **LPb**, **LPc**, **LPd**, **LPa'**, **LPb'**, **LPc'**, **LPd'**, **A**, **B**, **C**, **D**, **A'**, **B'**, **C'**, **D'** o **A''**. Después de la conjugación con el grupo potenciador, el grupo reactivo se convierte en el resto de grupo reactivo (**RG'**). El grupo reactivo **RG** puede ser cualquier grupo reactivo descrito anteriormente. Los grupos reactivos ilustrativos incluyen, aunque sin limitación, los que comprenden haloacetilo, isotiocianato, succinimida, N-hidroxisuccinimida o porciones de maleimida que son capaces de reaccionar con el agente de unión.

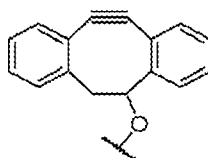
- 20 En determinadas realizaciones, los grupos reactivos incluyen, aunque sin limitación, alquinos. En determinadas realizaciones, los alquinos son alquinos capaces de sufrir reacciones de 1,3-cicloadiición con azidas en ausencia de catalizadores de cobre, tales como alquinos tensionados. Los alquinos tensionados son adecuados para cicloadiciones de alquino-azida promovidas por tensión (SPAAC), cicloalquinos, por ejemplo, ciclooctinas, y alquinos benzanillados. Los alquinos adecuados incluyen, aunque sin limitación, dibenzoazaciclooctina o



(DIBAC),

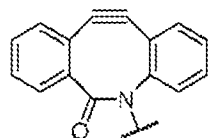
25

dibenzociclooctina o



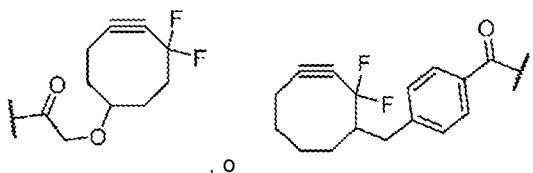
30

(DIBO), biarilazaciclooctinona o



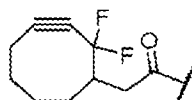
35

(BARAC), ciclooctina difluorada o



40

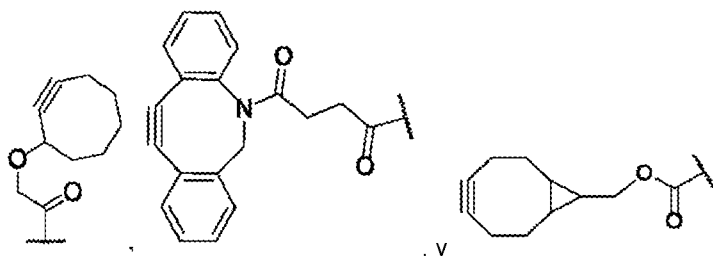
o



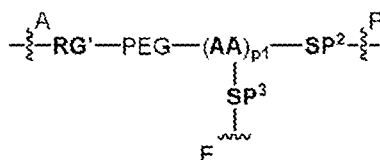
(DIFO), sustituido, por ejemplo, alquinos fluorados, aza-cicloalquinos, biciclo[6.1.0]nonino o



(BCN) y derivados de los mismos. Los alquinos particularmente útiles incluyen



En algunas realizaciones, el enlazador es:



en donde:

RG' es un resto de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo **RG** con un agente de unión;

PEG es -NH-PEG4-C(O)-;

SP² es un espaciador;

SP³ es un espaciador, unido a un resto de **AA** de **(AA)_{p1}**;



es uno o más enlaces al agente de unión;



es uno o más enlaces a la carga activa;



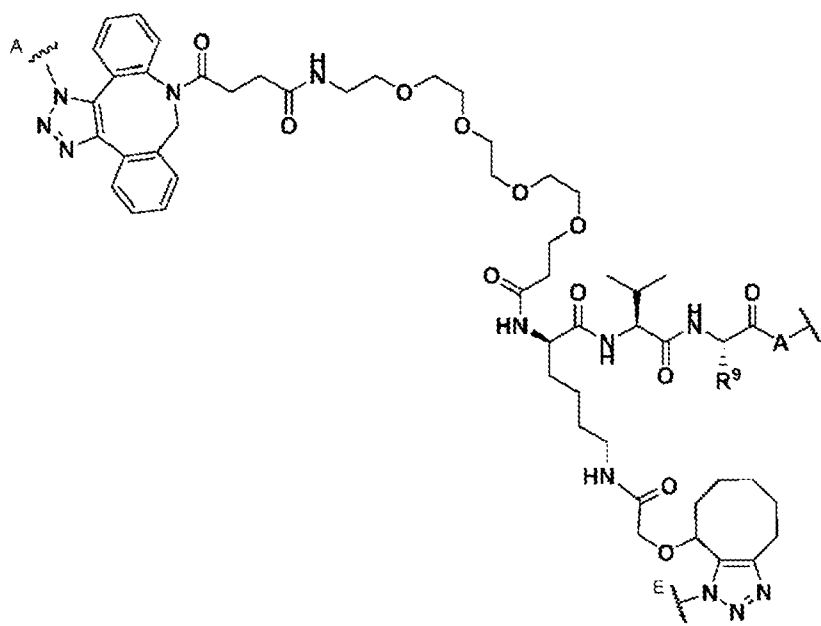
es uno o más enlaces al grupo potenciador **EG**;

cada **AA** es un resto de aminoácido; y

p1 es un número entero de 1 a 10.

Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

En determinadas realizaciones, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

5 cada uno



10 es un enlace con el agente de unión;
cada uno



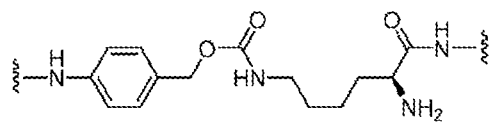
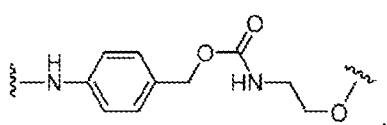
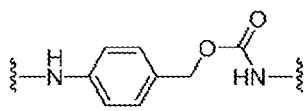
15 es un enlace con la carga activa;
cada uno



20 es un enlace con el agente potenciador;

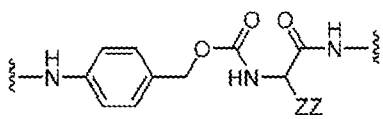
25 cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

cada A es $-O-$, $-N(H)-$,

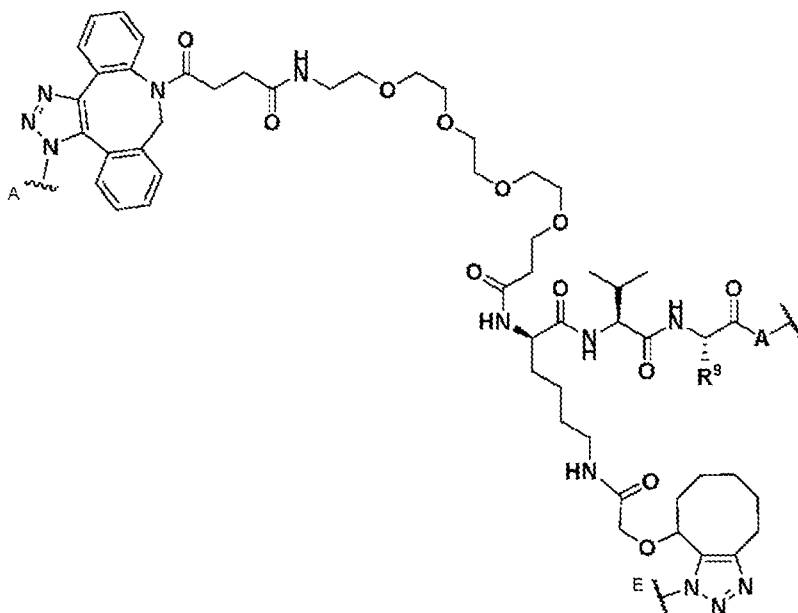


30

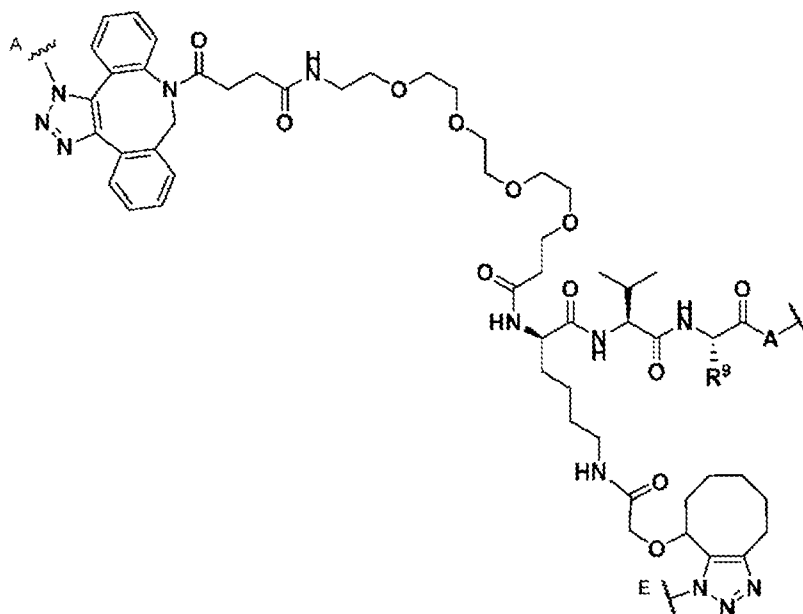
o



5

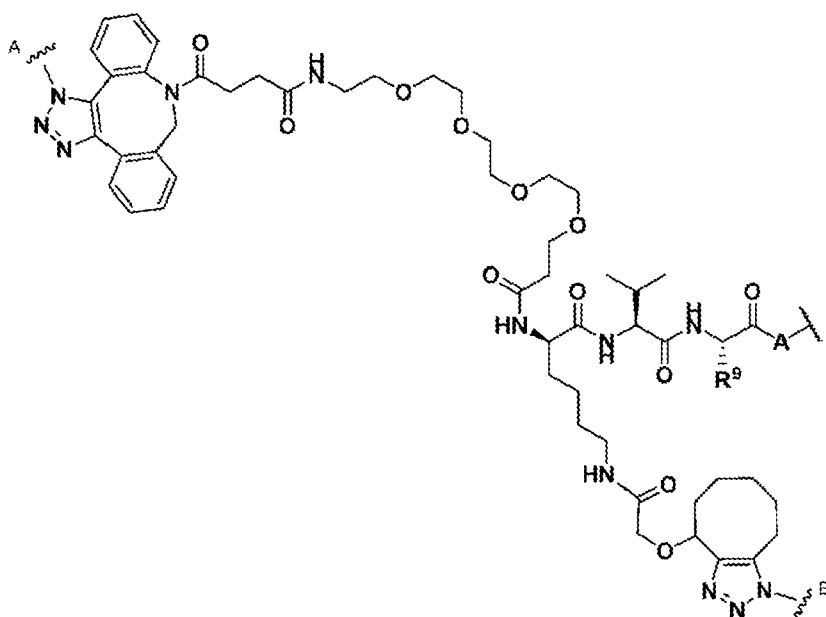


10



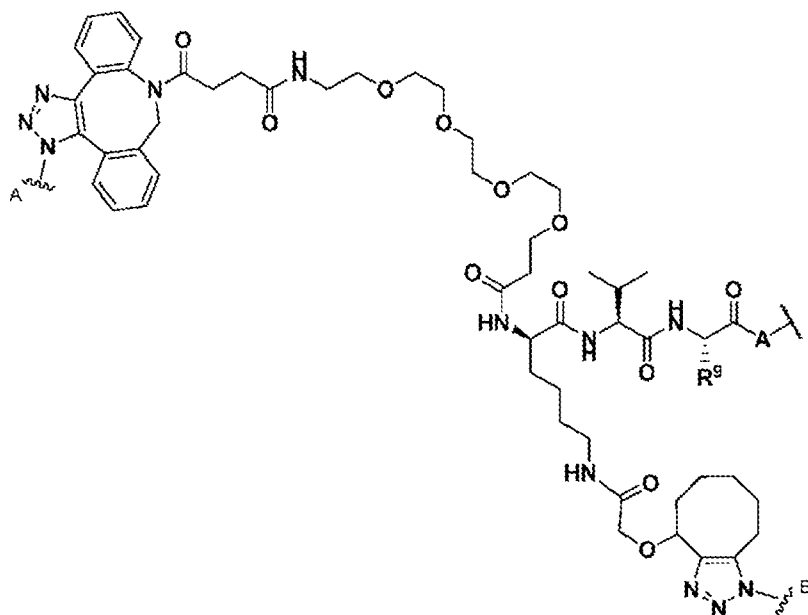
15

20



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el enlazador es:

5



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo. Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5, y $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-$

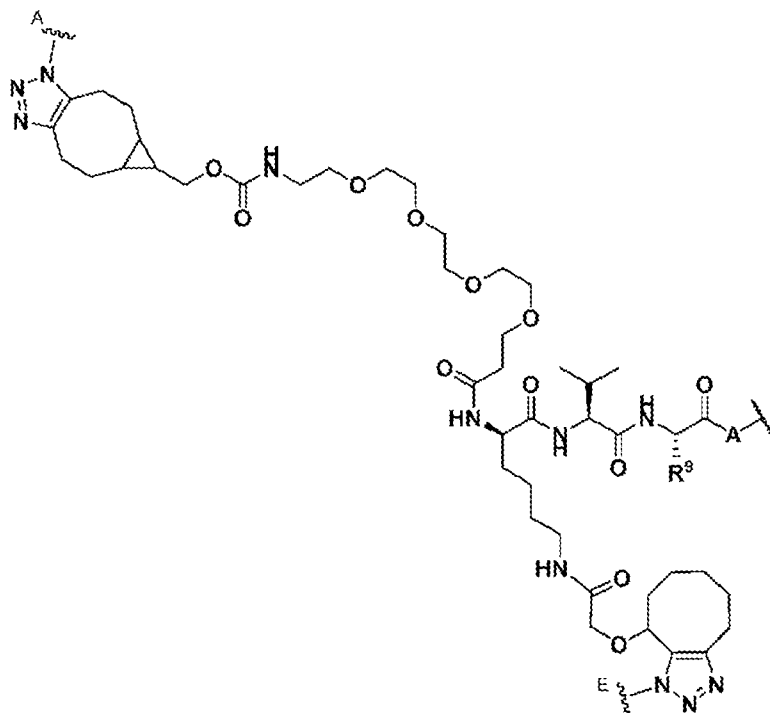
10

15

20

C(O)NH-(CH₂)₁₋₅SO₃H, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es -(CH₂CH₂O)_{m2}-C(O)NH-(CH₂)₁₋₅SO₃H, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es -(CH₂)_{n2}-N((CH₂)₁₋₅C(O)NH(CH₂)₁₋₅SO₃H)₂, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es -(CH₂)_{n2}-C(O)N((CH₂)₁₋₅C(O)NH(CH₂)₁₋₅SO₃H)₂, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es -(CH₂CH₂O)_{m2}-C(O)N((CH₂)₁₋₅C(O)NH(CH₂)₁₋₅SO₃H)₂, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada uno



es un enlace con el agente de unión;

cada uno



es un enlace con el agente potenciador;

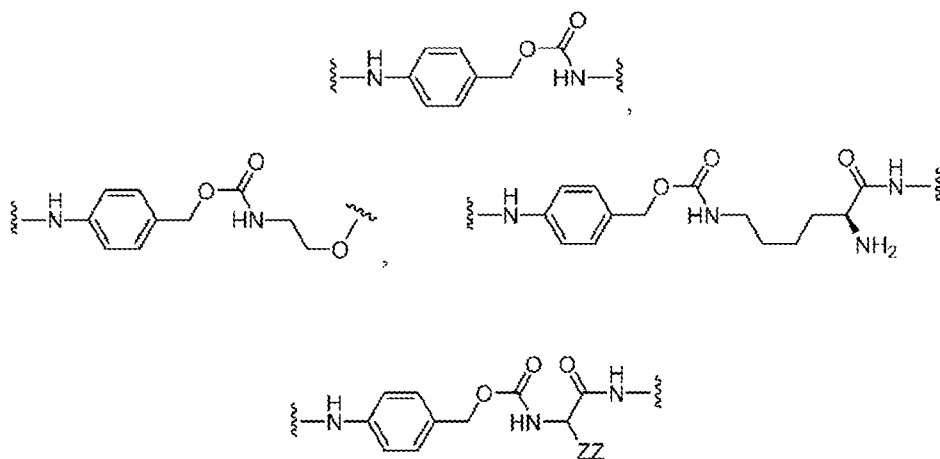
cada uno



es un enlace con la carga activa;

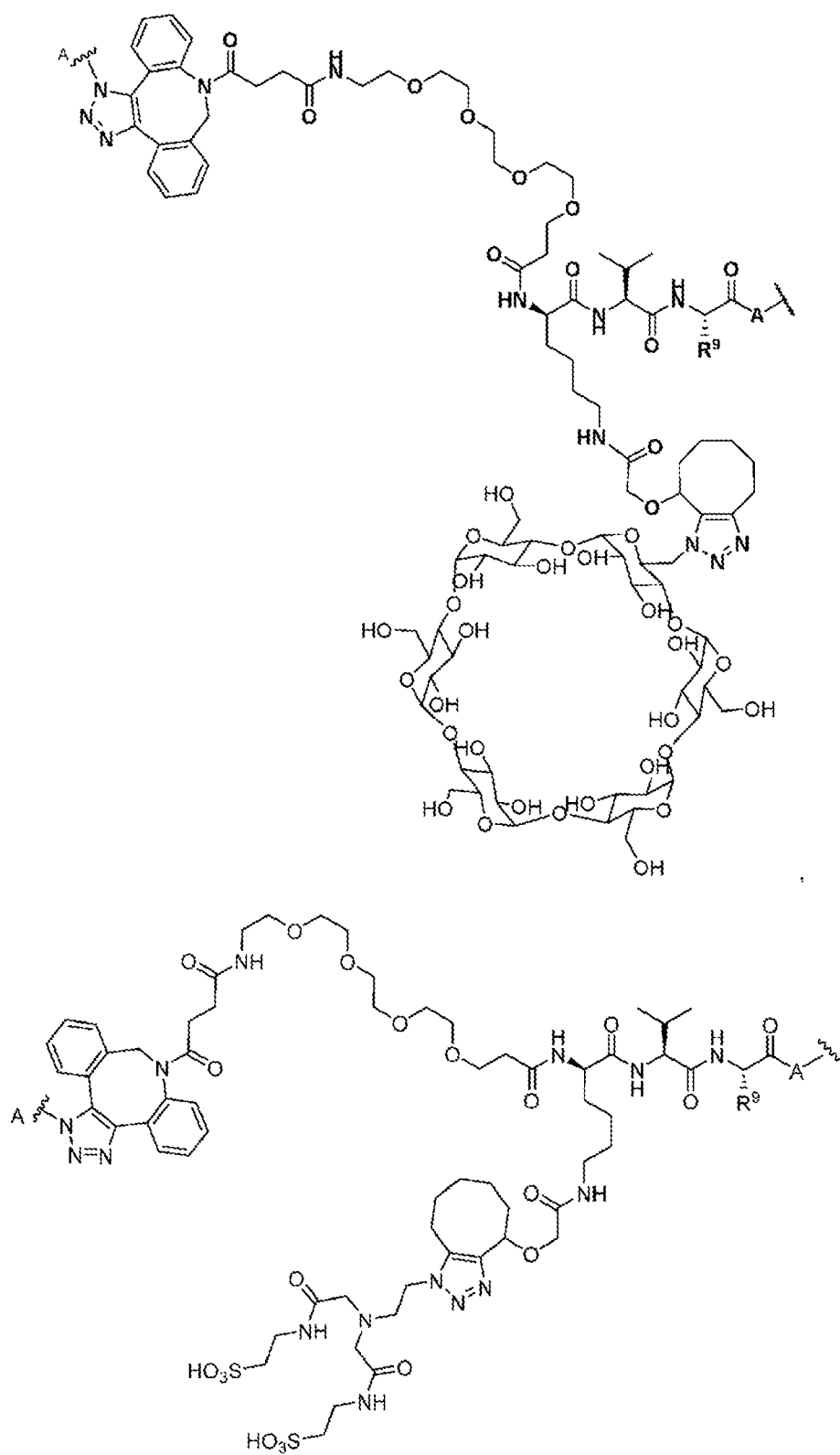
cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

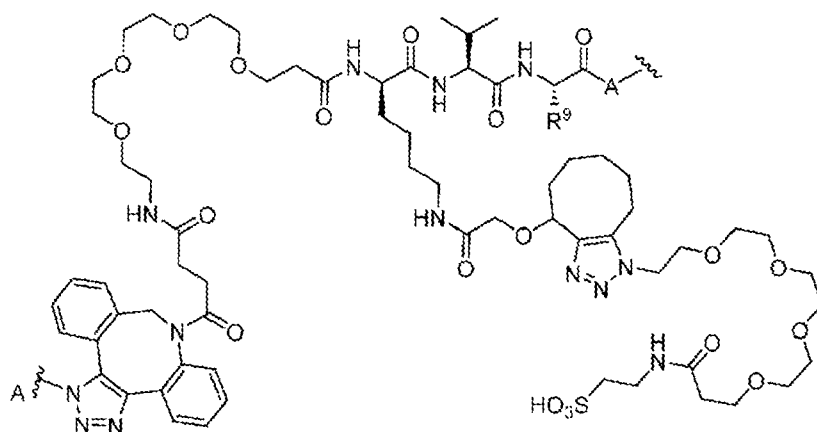
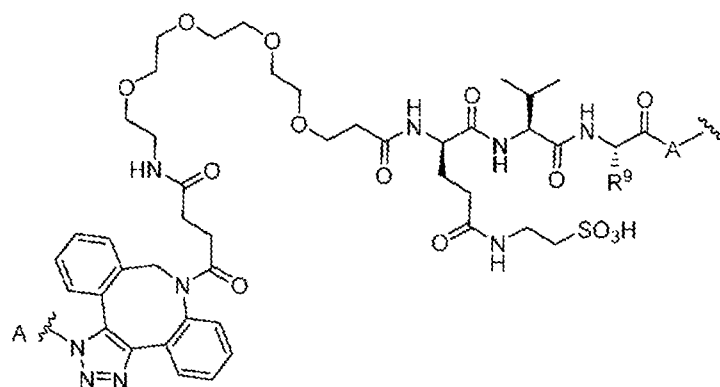
cada **A** es -O-, -N(H)-,



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1.5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el enlazador es:





5 o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada uno

10



es un enlace con el agente de unión;

cada uno

15



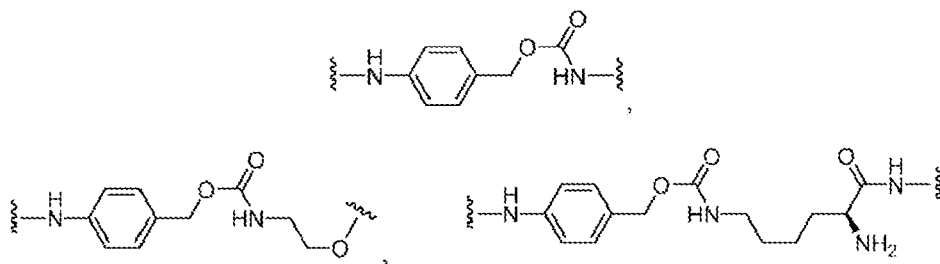
es un enlace con la carga activa;

20

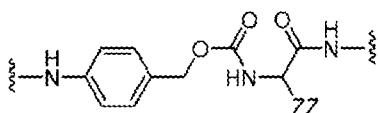
R⁹ es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

A es -O-, -N(H)-,

25

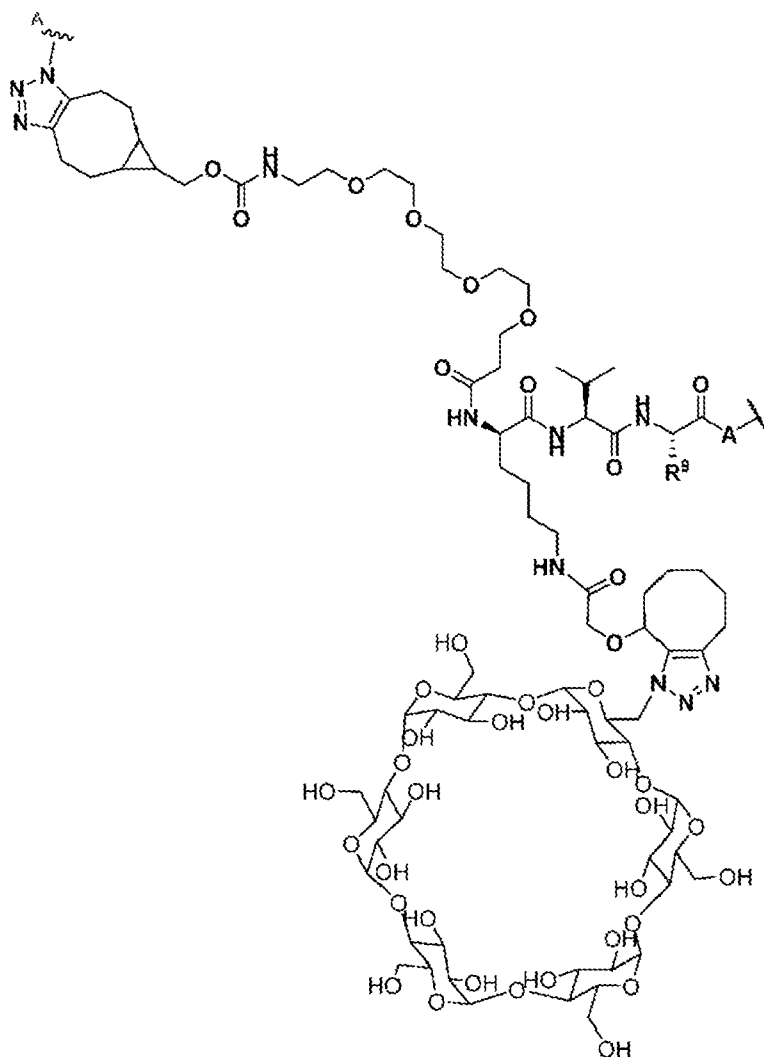


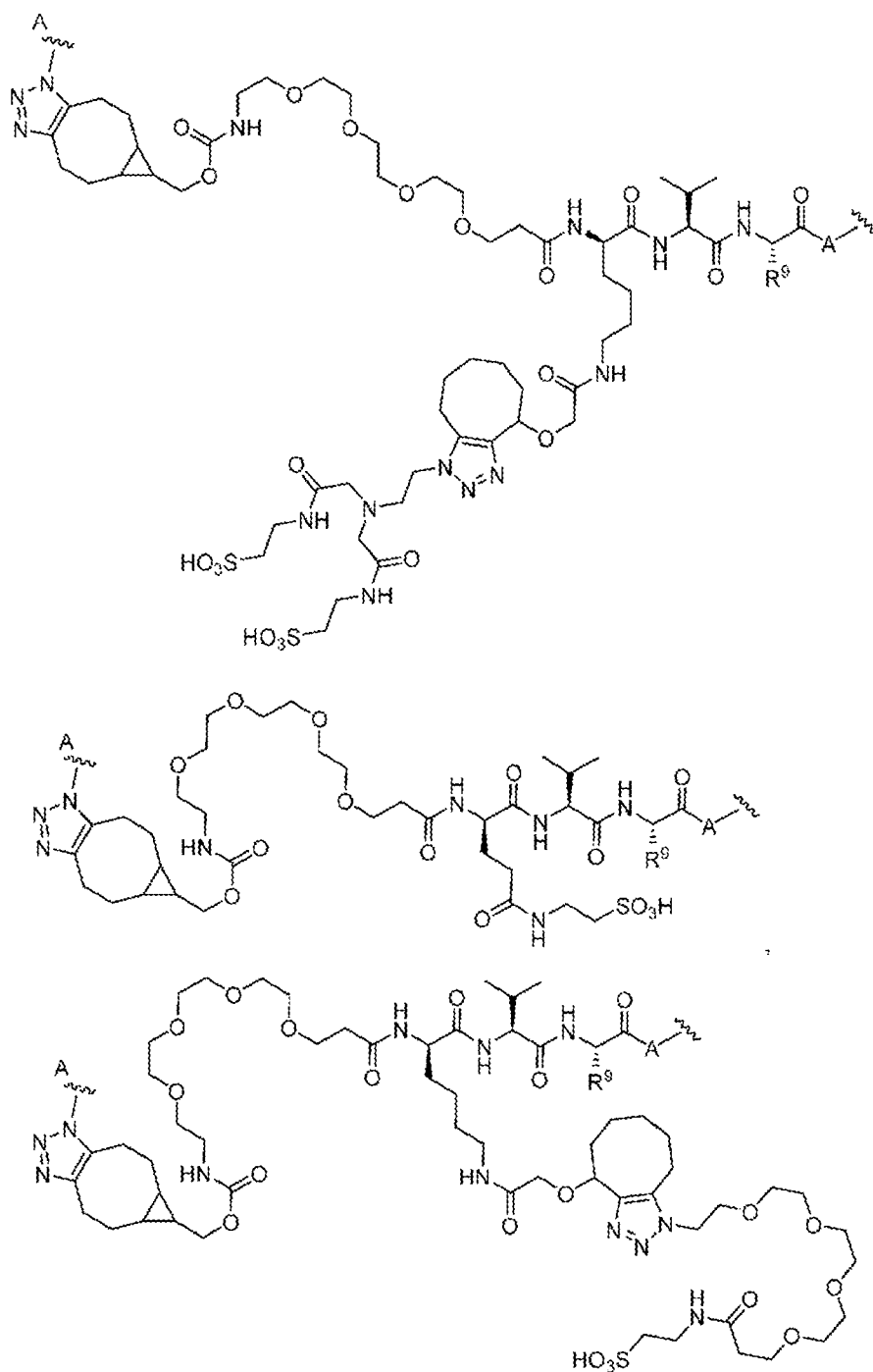
o



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

En algunas realizaciones, el enlazador es:





5 o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada uno

10

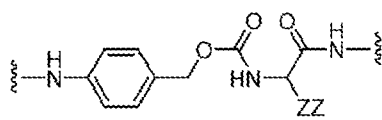
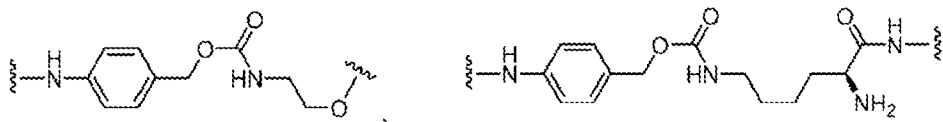
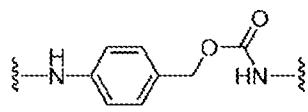


es un enlace con el agente de unión;
cada uno

15

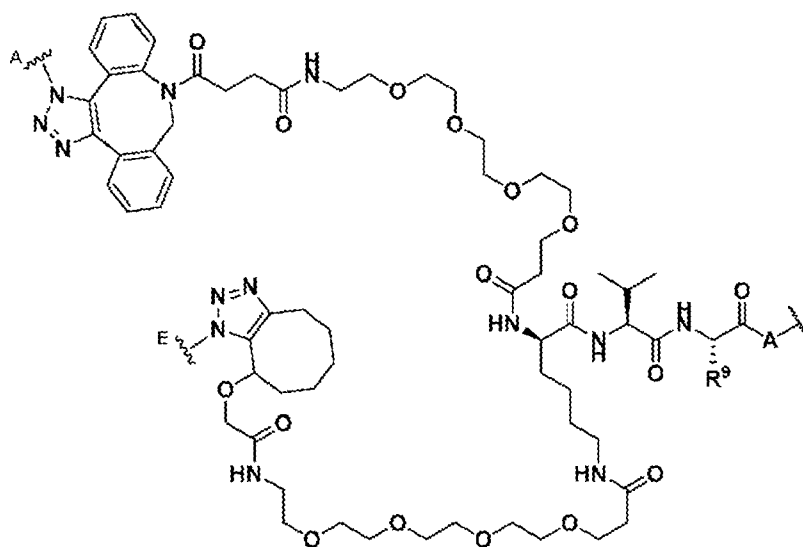


es un enlace con la carga activa;
 R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y
 A es $-O-$, $-N(H)-$,



donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, ZZ es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, ZZ es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada uno



es un enlace con el agente de unión;

cada uno



es un enlace con la carga activa;

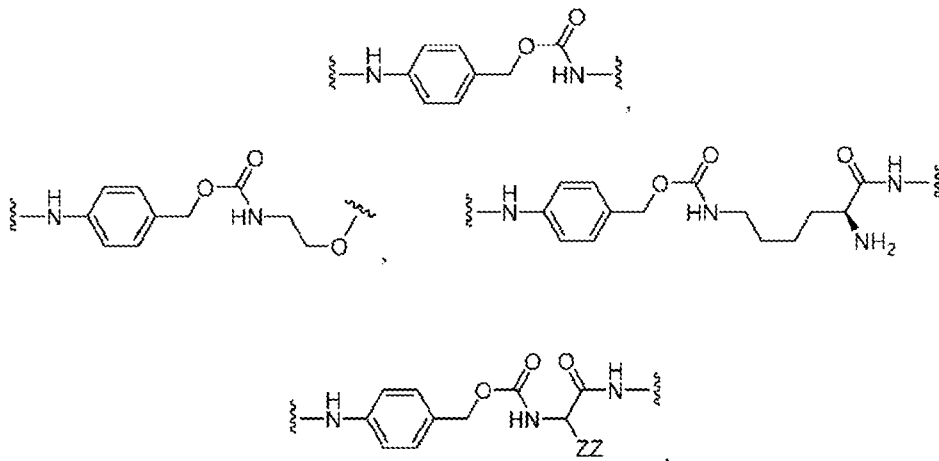
cada uno



es un enlace con el grupo potenciador;

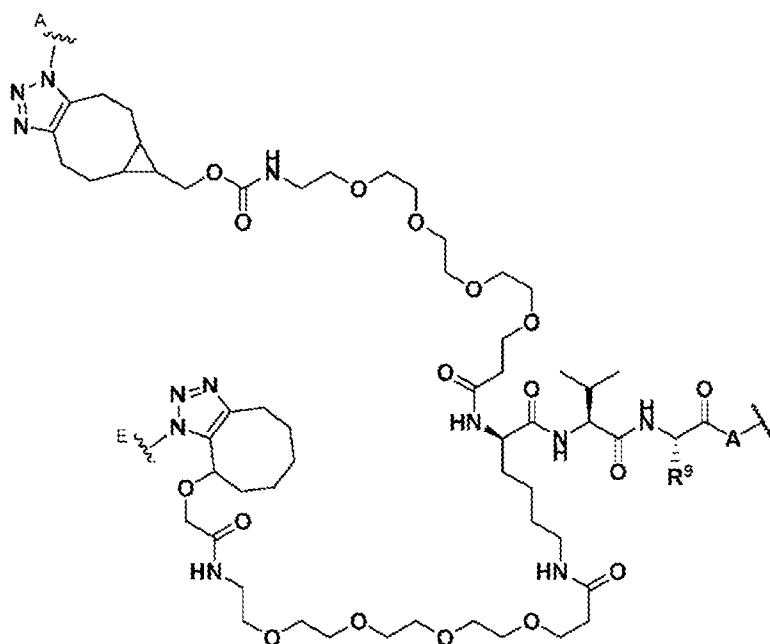
cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

cada **A** es -O-, -N(H)-,



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆. Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

5 cada uno

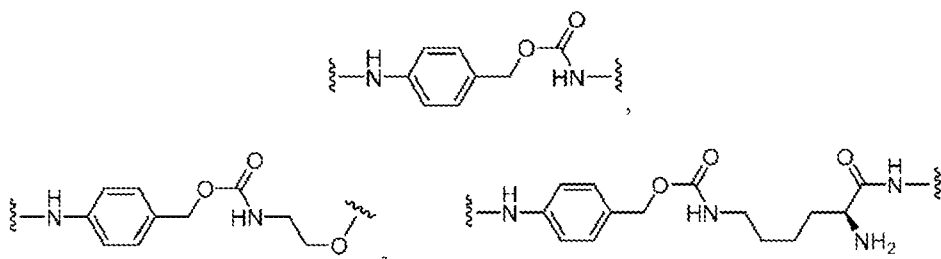


10 es un enlace con el agente de unión;
cada uno



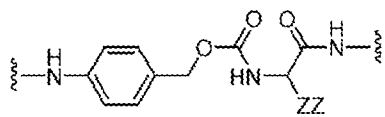
15 es un enlace con la carga activa;
cada R^9 es $-\text{CH}_3$ o $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; y
cada **A** es $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,

20



o

25

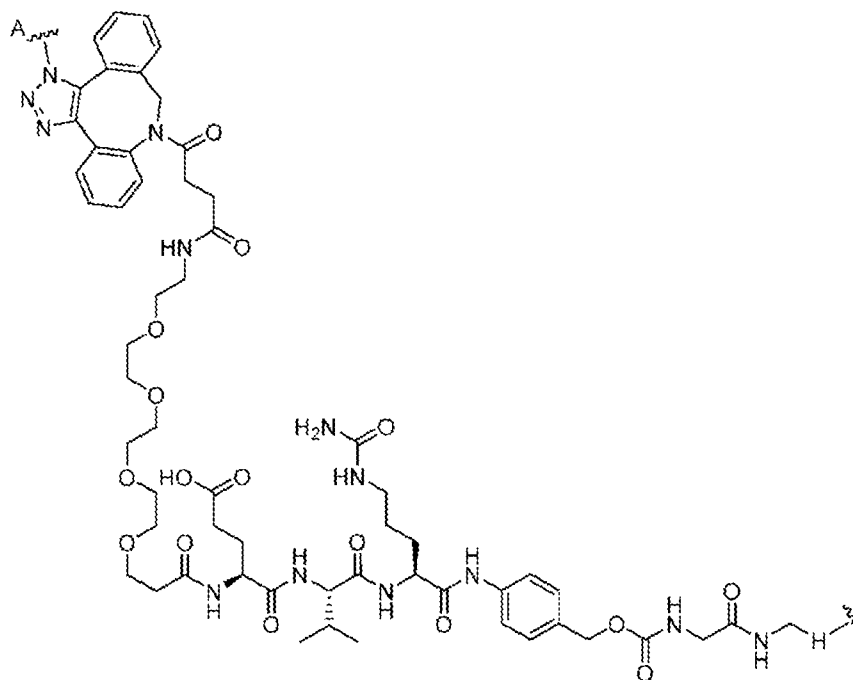


30

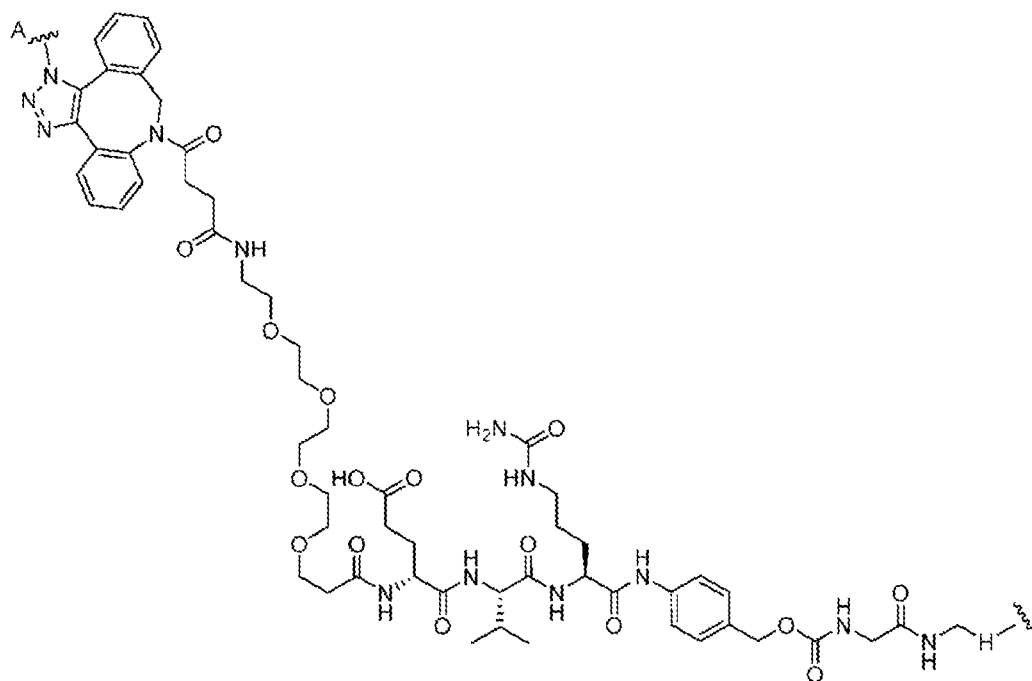
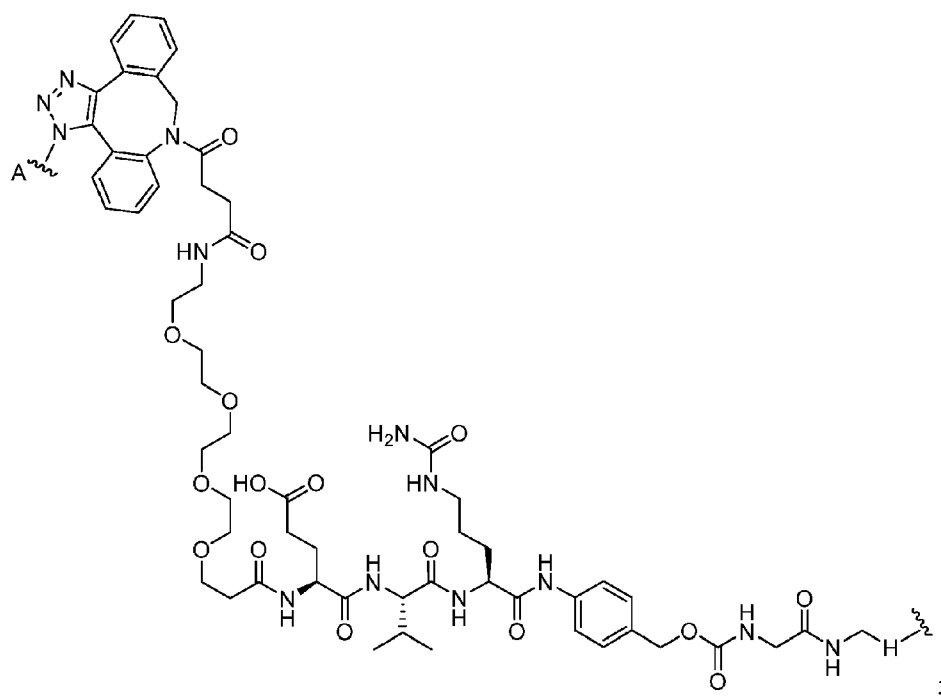
donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En

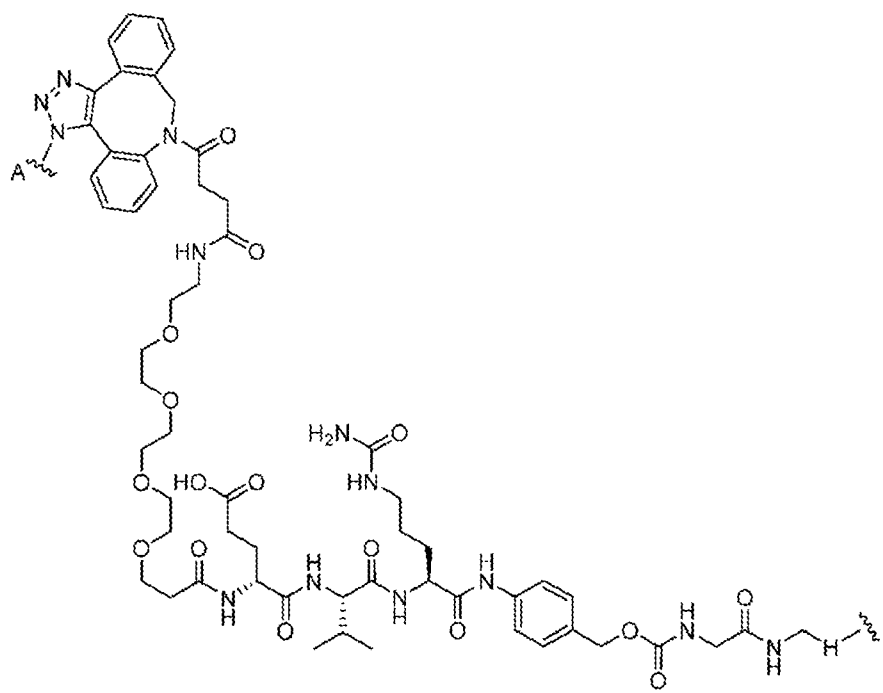
determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5, y $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1.5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



o





o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

5 cada uno

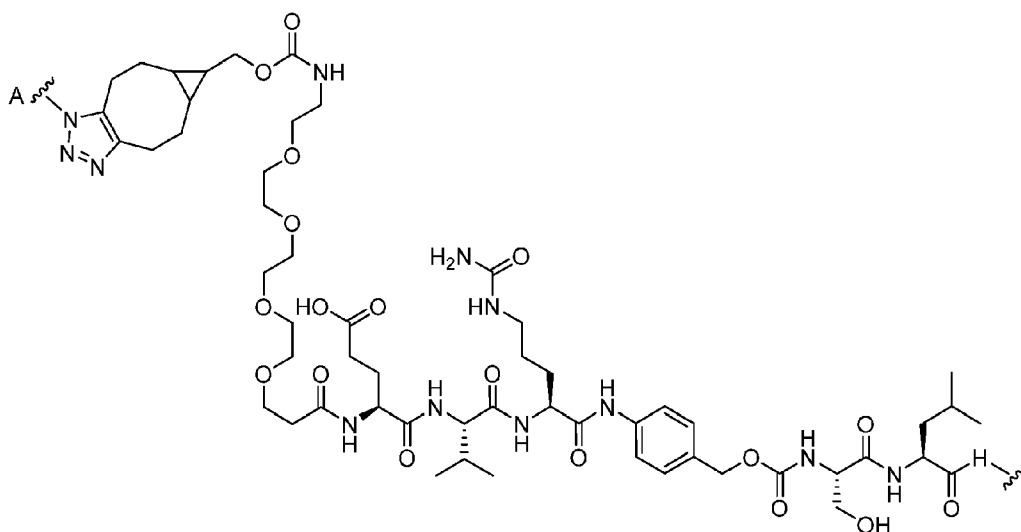


10 es un enlace con el agente de unión;
cada uno

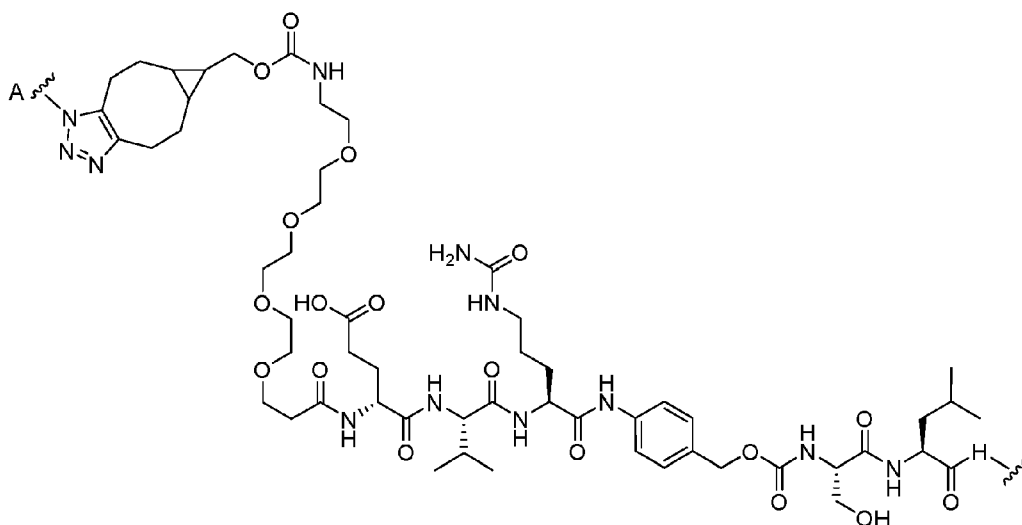


15 es un enlace con la carga activa; y **H** es -O- o -NH-.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



20
o



en donde:

5 cada uno

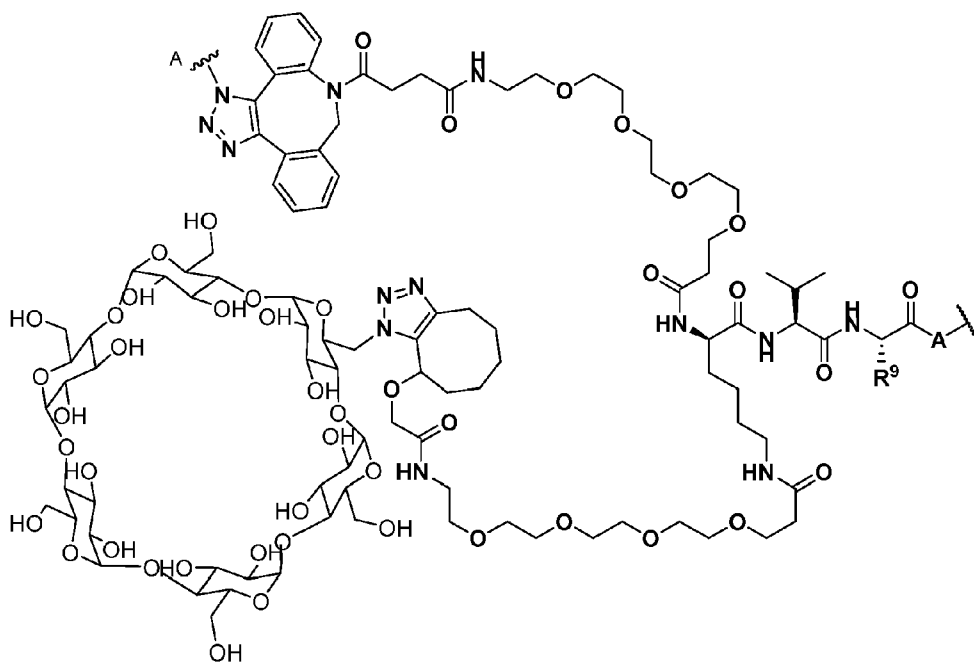


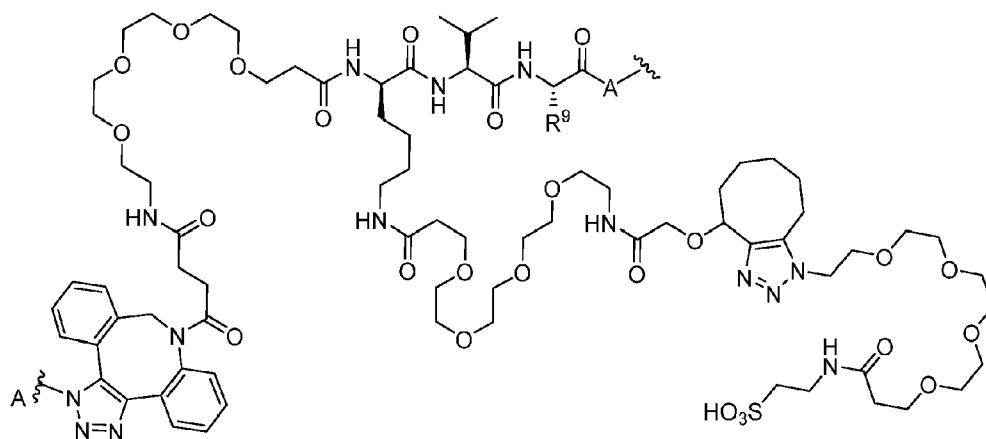
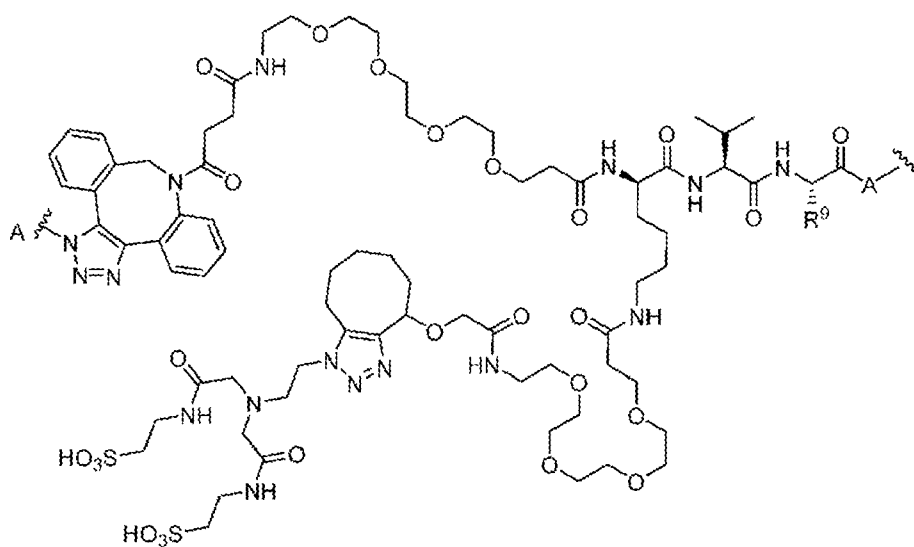
10 es un enlace con el agente de unión;
cada uno



15 es un enlace con la carga activa; y **H** es -O- o -NH-.

En algunas realizaciones, el enlazador es:





5 o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada uno

10



es un enlace con el agente de unión;

cada uno

15

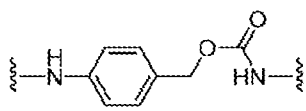


es un enlace con la carga activa;

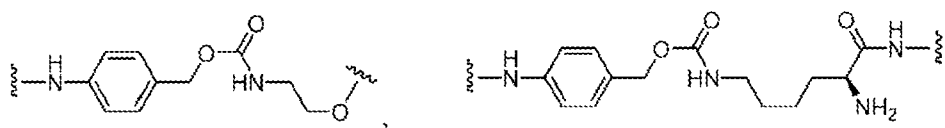
20

R⁹ es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

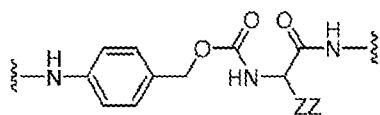
A es -O-, -N(H)-,



25



o

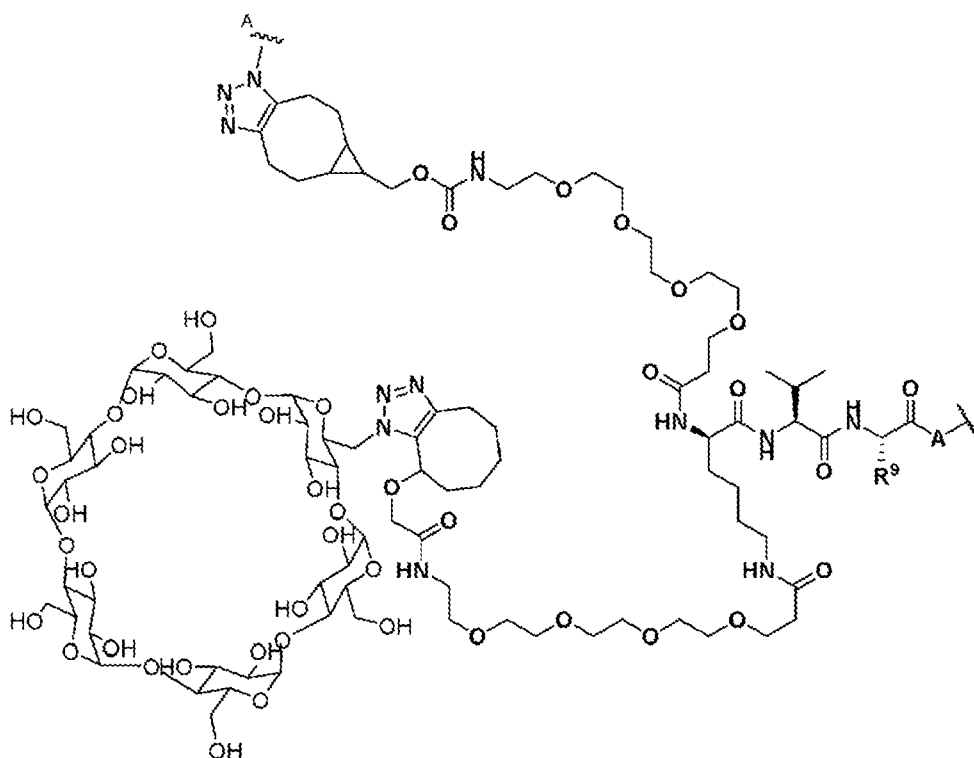


5

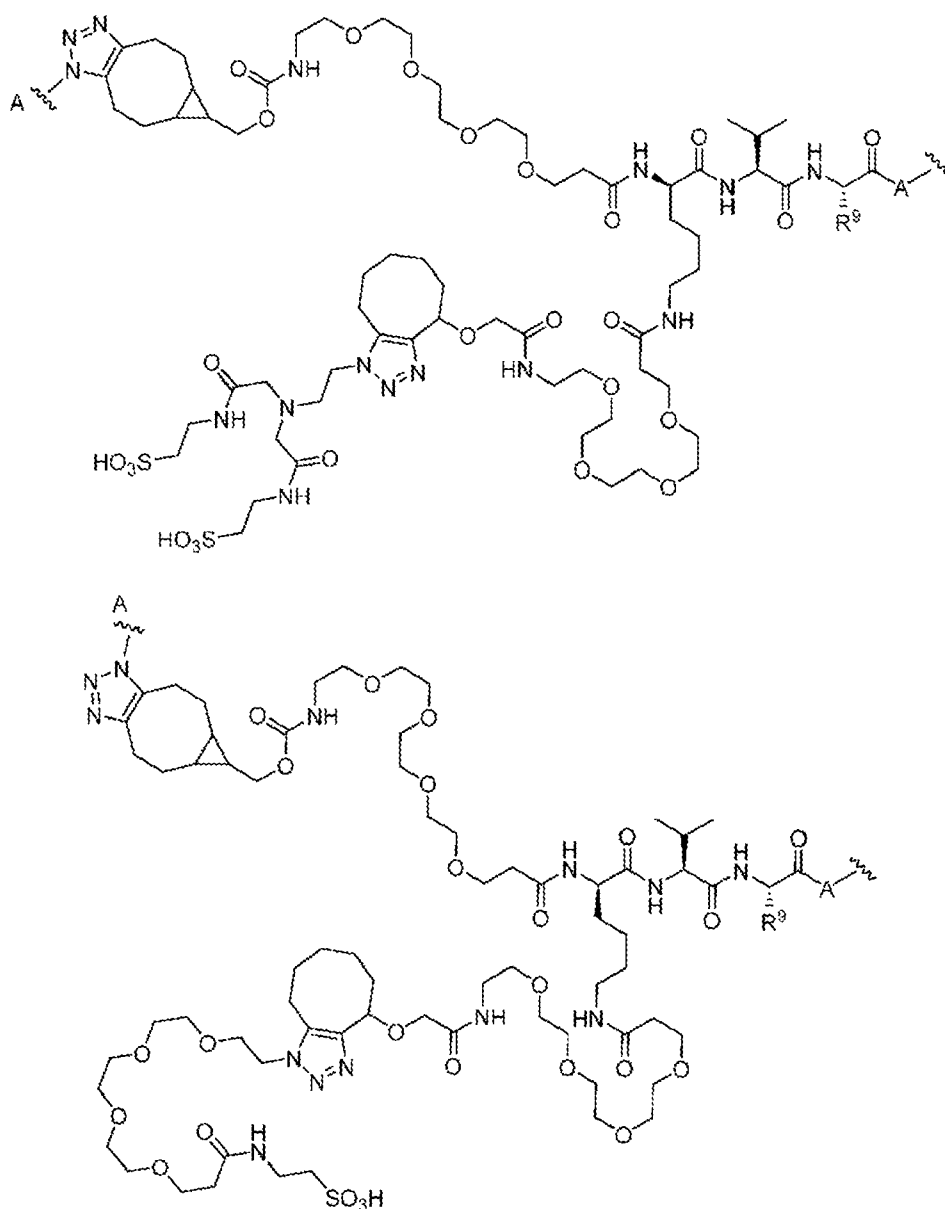
donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

10

En algunas realizaciones, el enlazador es:



15



5 o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada uno

10



es un enlace con el agente de unión;

cada uno

15

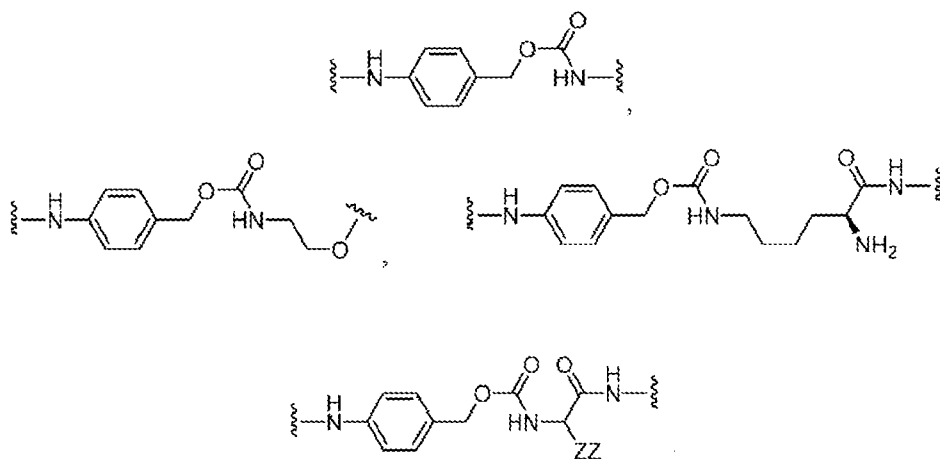


es un enlace con la carga activa;

20

R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

A es $-O-$, $-N(H)-$,

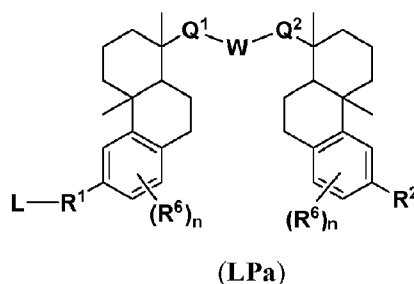


donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆. Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión.

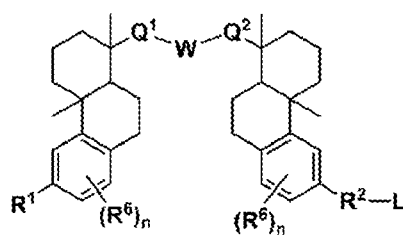
Enlazador-cargas activas o enlazador reactivo-cargas activas

Se proporcionan enlazador-cargas activas o enlazador reactivo-cargas activas de cualquiera de los compuestos o cargas activas (por ejemplo, compuestos o cargas activas de las Fórmulas I, II o III) y enlazadores descritos en el presente documento. En determinadas realizaciones, descritos a continuación, los conjugados proporcionados en el presente documento se pueden preparar a partir de enlazador-cargas activas o enlazador reactivo-cargas activas que tienen grupos reactivos **RG** como se ha descrito anteriormente. El enlazador-cargas activas o enlazador reactivo-cargas activas se puede enlazar a grupos potenciadores y/o agentes de unión de acuerdo con los métodos descritos a continuación.

En determinadas realizaciones, el enlazador-cargas activas incluye cualquier carga activa específica adoptada por uno o más de las Fórmulas I, II o III anteriores, unida a uno o más enlazadores, en donde el(los) enlazador(es) descrito(s) en el presente documento incluyen una fracción que es reactiva con un agente de unión, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y/o grupo potenciador descrito en el presente documento. En realizaciones particulares, el enlazador está unido a **R¹**, **R²** o **R⁶**, o formas divalentes de **R¹**, **R²** o **R⁶**, como en una cualquiera o más de las Fórmulas de carga activa I, II o III anteriores. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula **LPa**:

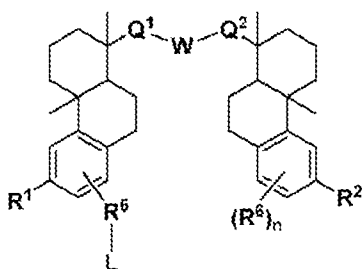


en donde **L** es un enlazador como se ha descrito anteriormente, y **Q¹**, **Q²**, **W**, **-R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I anterior. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula **LPb**:



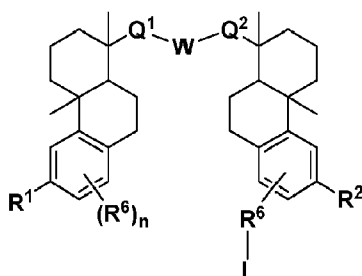
(LPb)

en donde **L** es un enlazador como se ha descrito anteriormente, y **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I anterior. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula **LPc**:



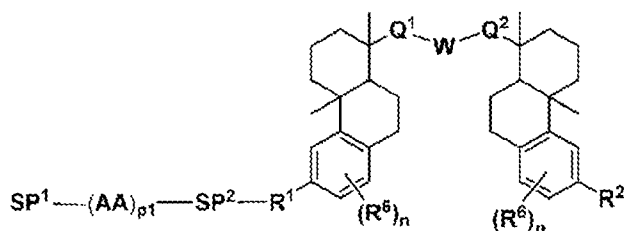
(LPc)

en donde **L** es un enlazador como se ha descrito anteriormente, y **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I anterior. En una realización, el enlazador-carga tiene una estructura de fórmula **LPd**:



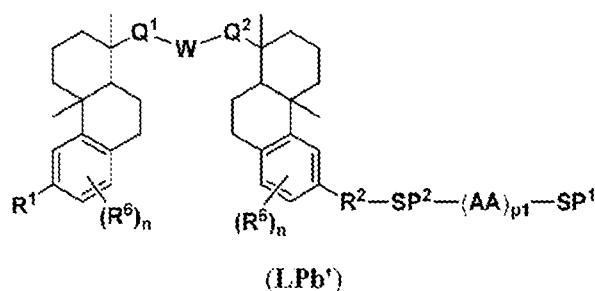
(LPd)

en donde **L** es un enlazador como se ha descrito anteriormente, y **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I anterior. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula **LPa'**:

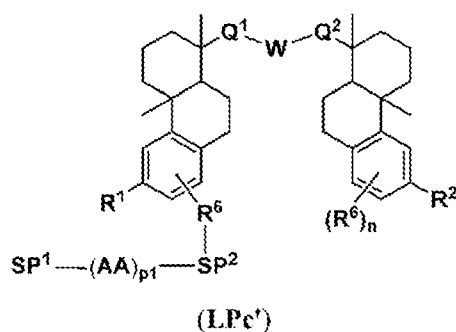


(LPa')

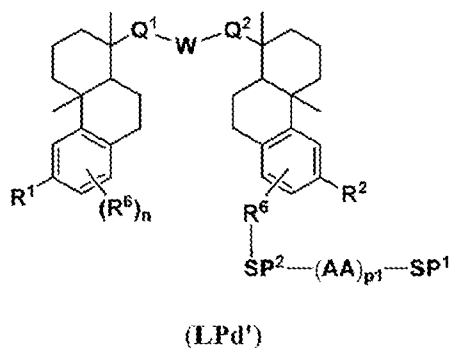
en donde **SP¹** y **SP²** son espaciadores como se ha descrito anteriormente, cada **AA** es un resto de aminoácido como se ha descrito anteriormente, **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describen en el contexto de la Fórmula I, y **p1** es un número entero de 1 a 10. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula **LPb'**:



en donde SP^1 y SP^2 son espaciadores como se ha descrito anteriormente, cada AA es un resto de aminoácido como se ha descrito anteriormente, Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se describen en el contexto de la Fórmula I, y p1 es un número entero de 1 a 10. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula LPc' :

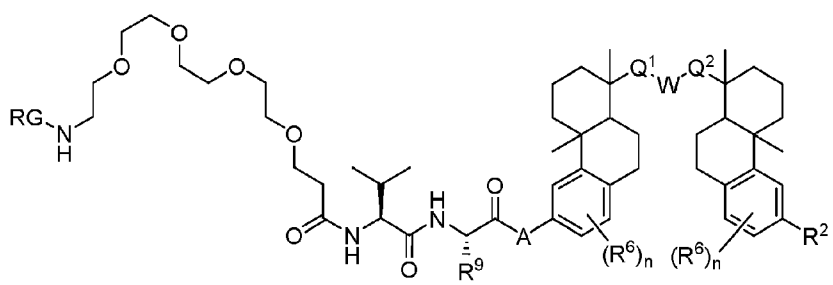
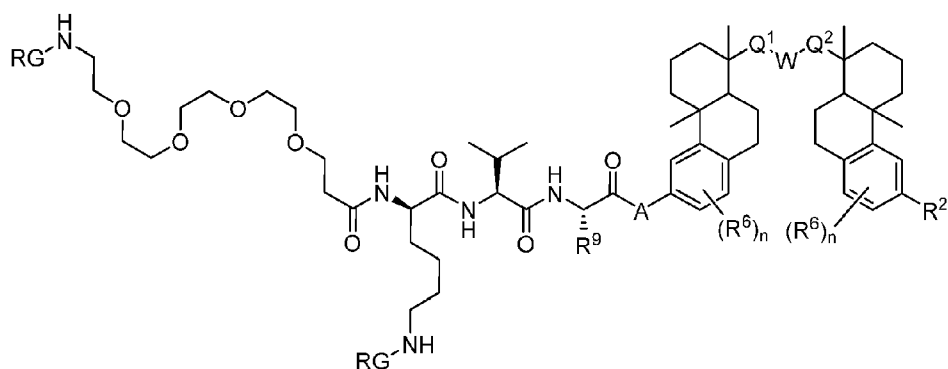


en donde SP^1 y SP^2 son espaciadores como se ha descrito anteriormente, cada AA es un resto de aminoácido como se ha descrito anteriormente, Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se describen en el contexto de la Fórmula I y p1 es un número entero de 1 a 10. En una realización, el enlazador-carga activa tiene una estructura de Fórmula LPd' :

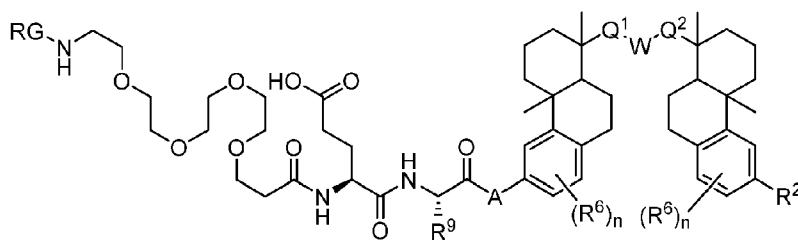


en donde SP^1 y SP^2 son espaciadores como se ha descrito anteriormente, cada AA es un resto de aminoácido como se ha descrito anteriormente, Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se describe en el contexto de la Fórmula I y p1 es un número entero de 1 a 10. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, p1 es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, el enlazador L o espaciador SP^2 está unido a un nitrógeno del arilo o a un resto de aminoácido solo o dentro de un péptido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo.

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:



5 o

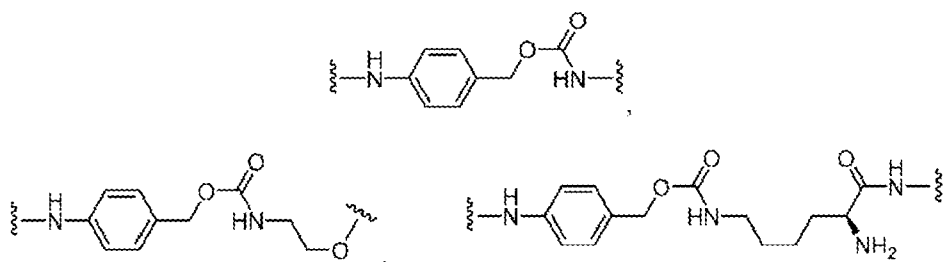


o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

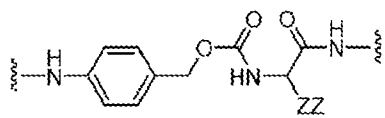
10

cada **RG** es un grupo reactivo, tal como se describe en el presente documento;
Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y
 cada **A** es -O-, -N(H)-,

15



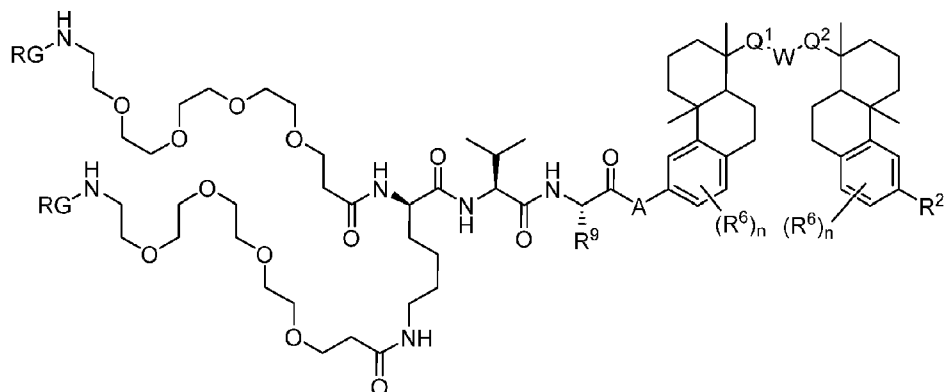
20 o



25

donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:



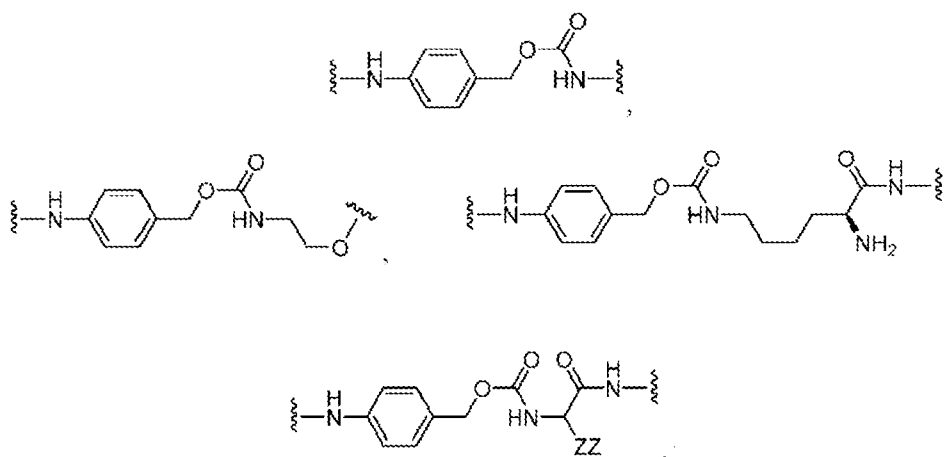
5 o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

cada **RG** es un grupo reactivo, tal como se describe en el presente documento;

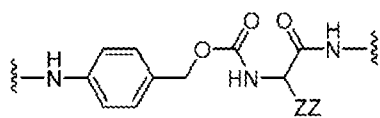
Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

cada **A** es -O-, -N(H)-,

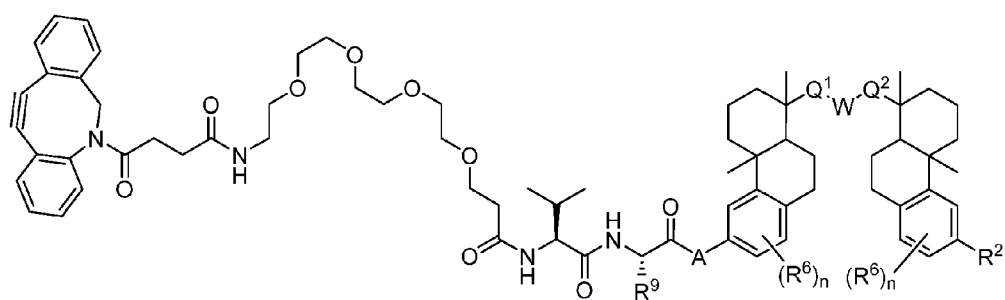
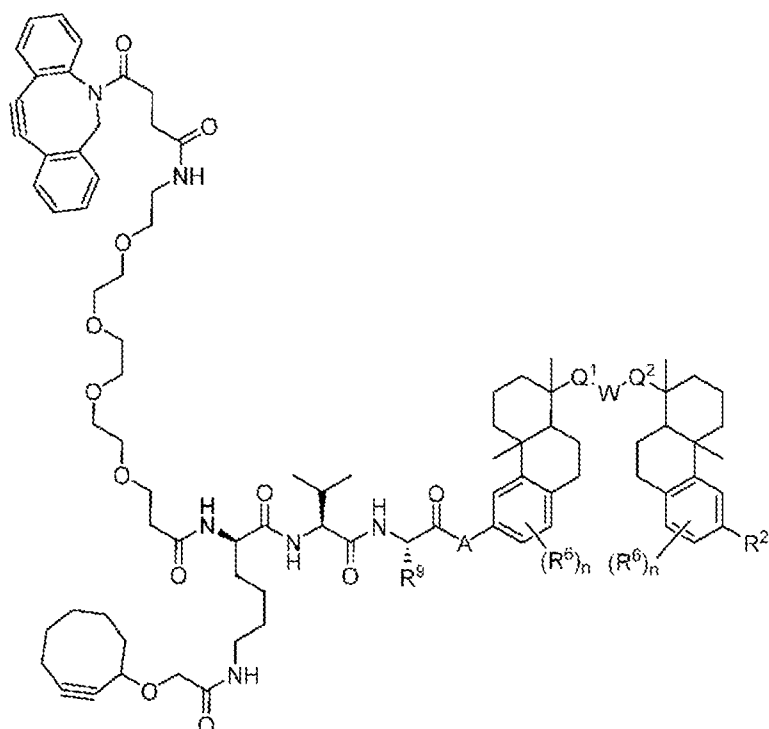


o

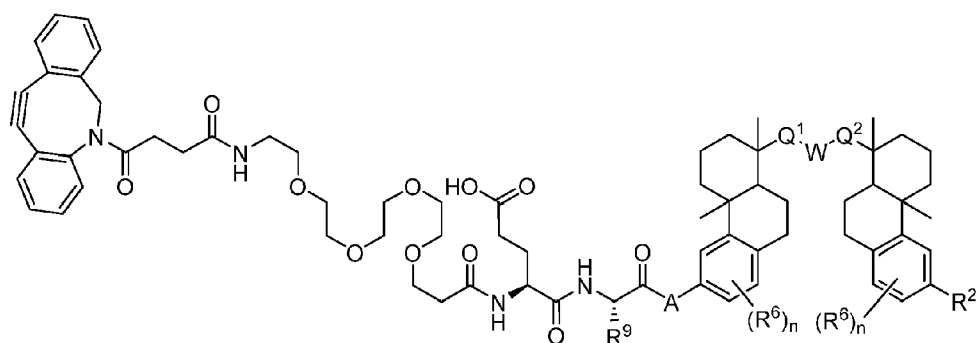


donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:

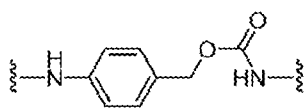


5 o

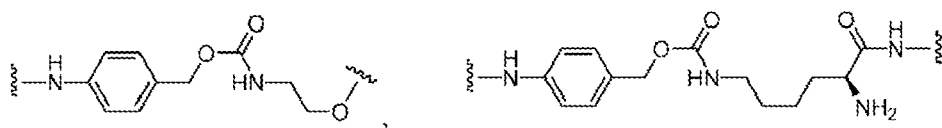


o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

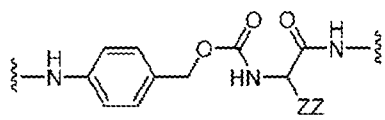
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada R^9 es $-\text{CH}_3$ o $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; y
 cada A es $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,



15



o

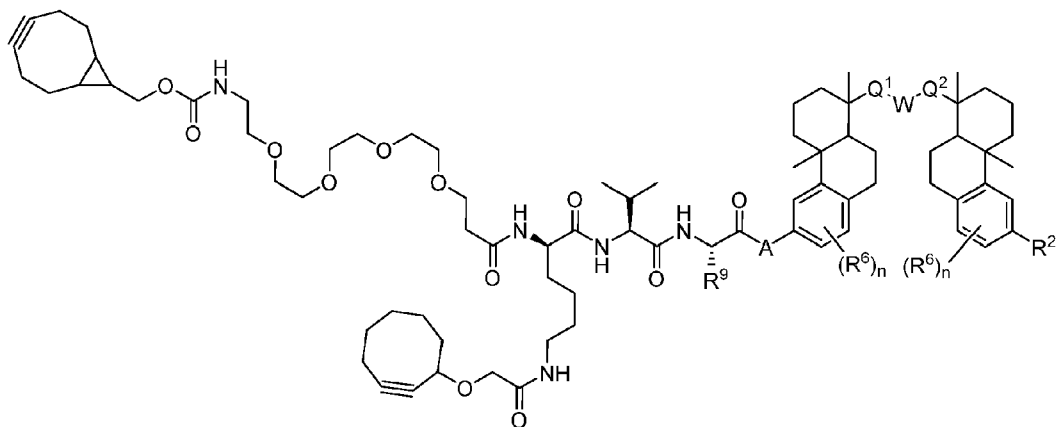


5

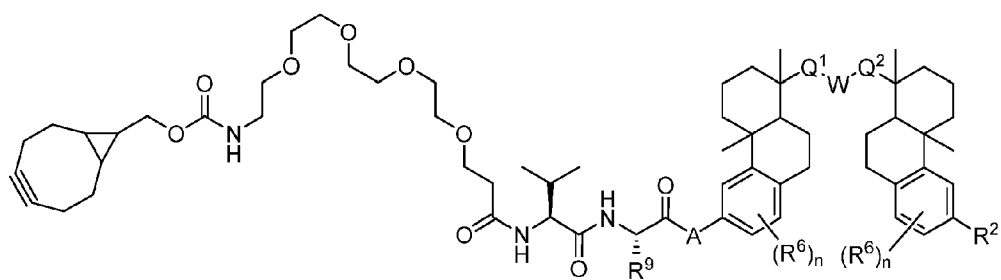
donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} .

10

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:

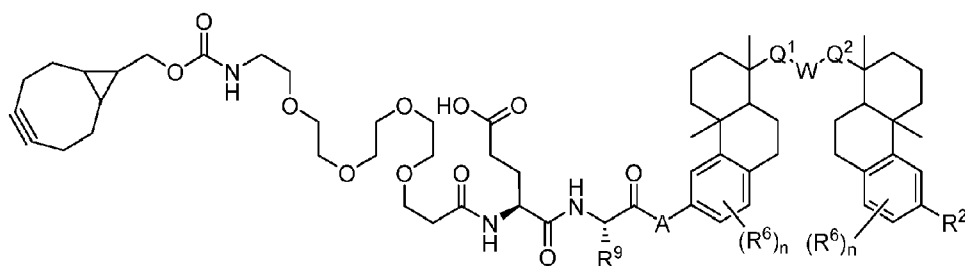


;



15

o

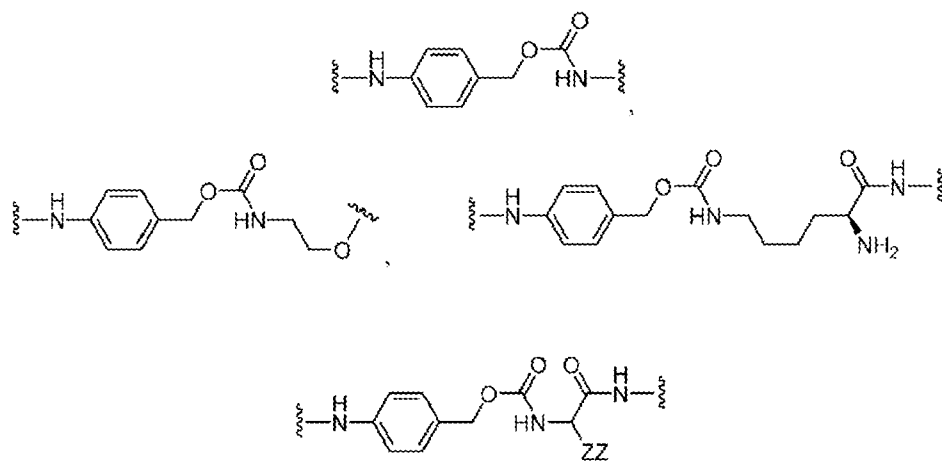


20

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada **R⁹** es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y
 cada **A** es $-O-$, $-N(H)-$,

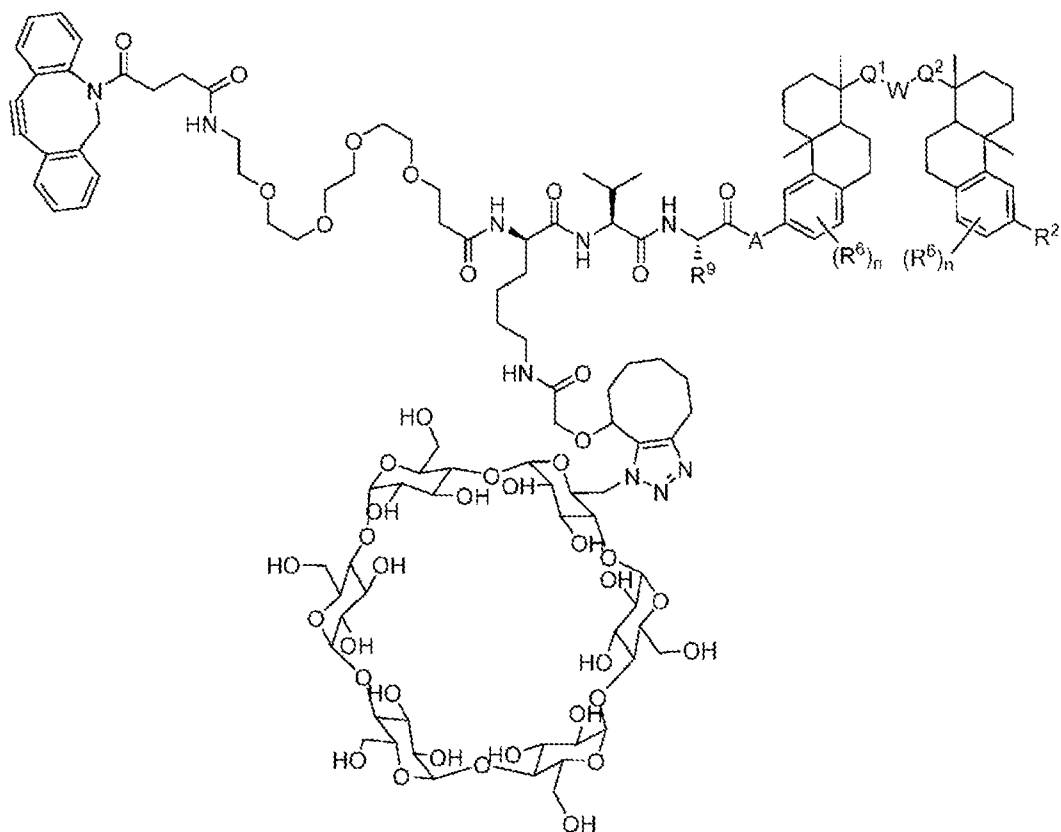
25

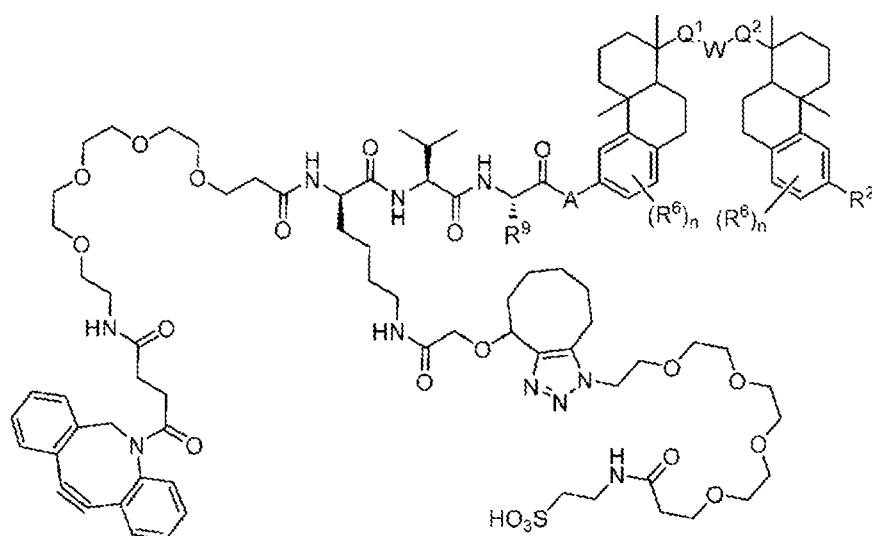
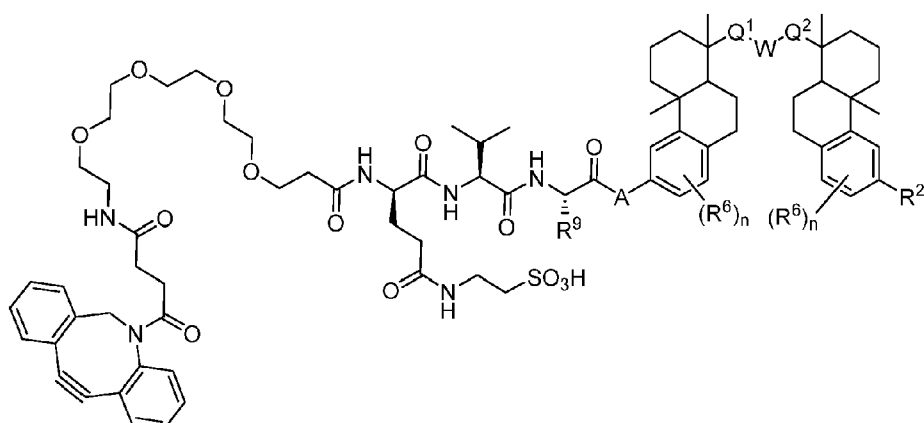
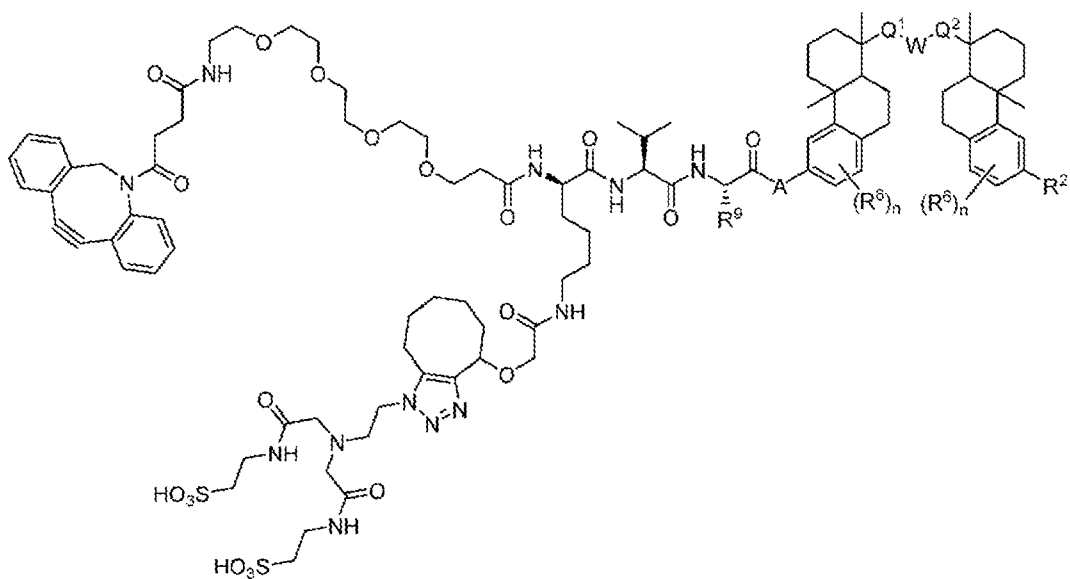


o

donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo-carga activa es:

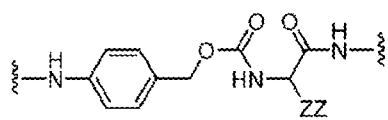
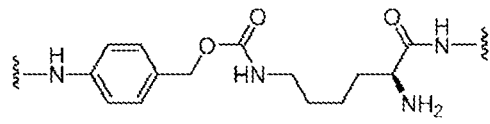
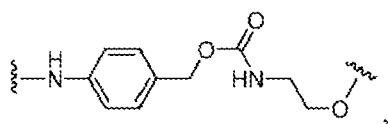
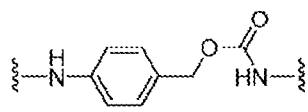




o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

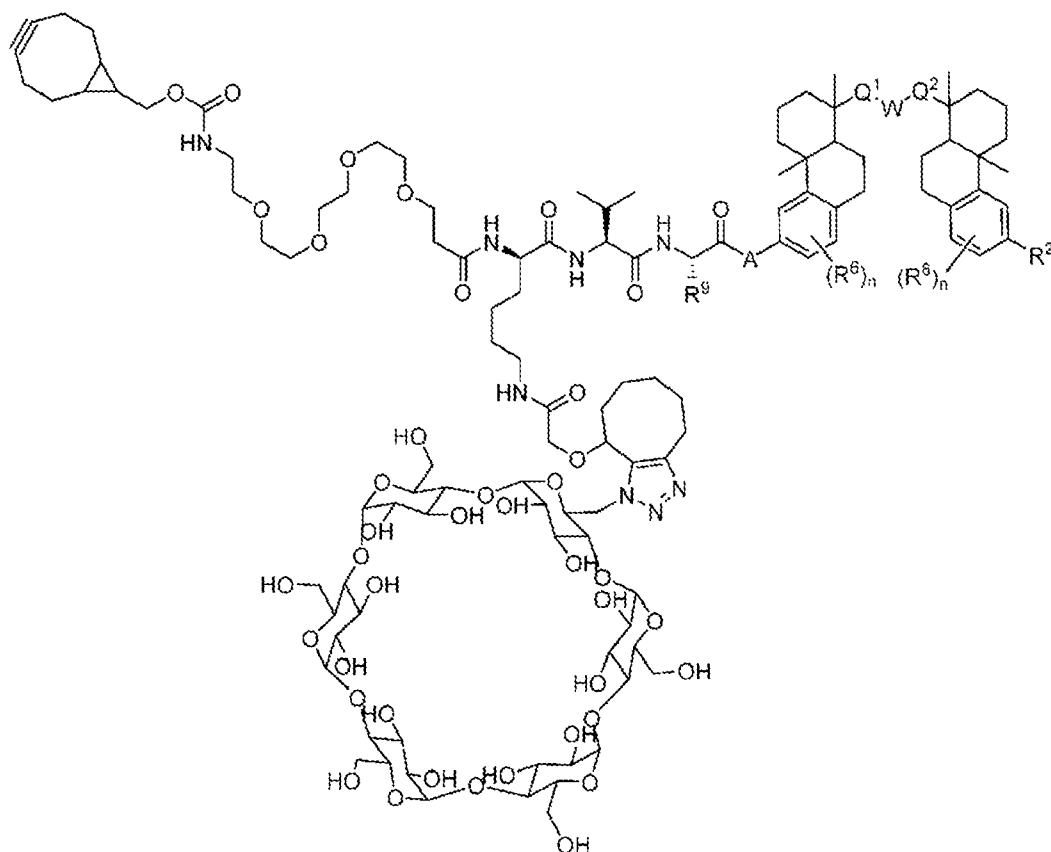
Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ como se describen en el contexto de la Fórmula I;
 cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

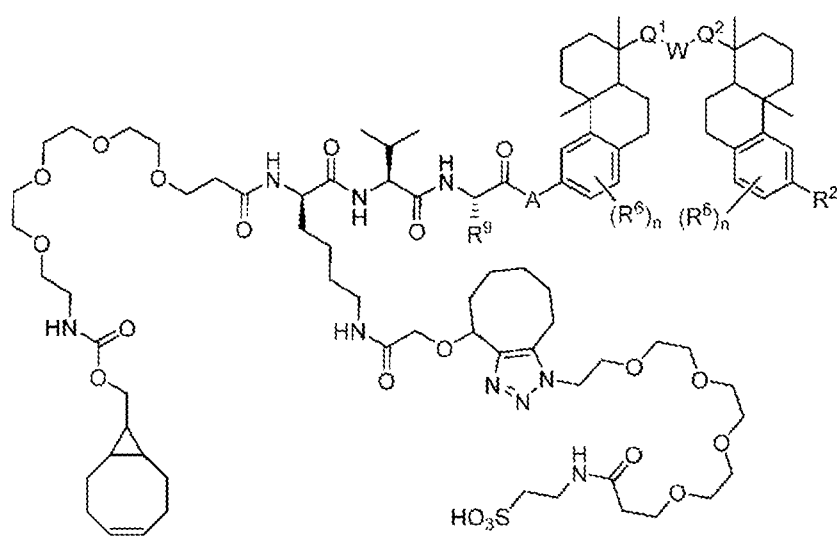
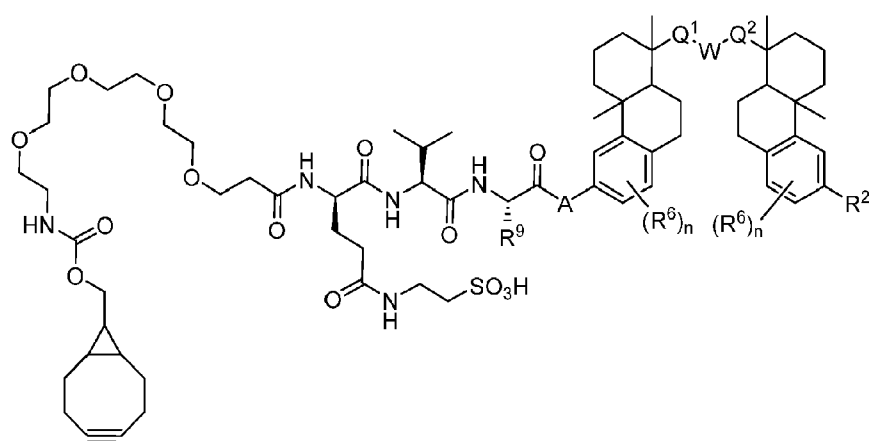
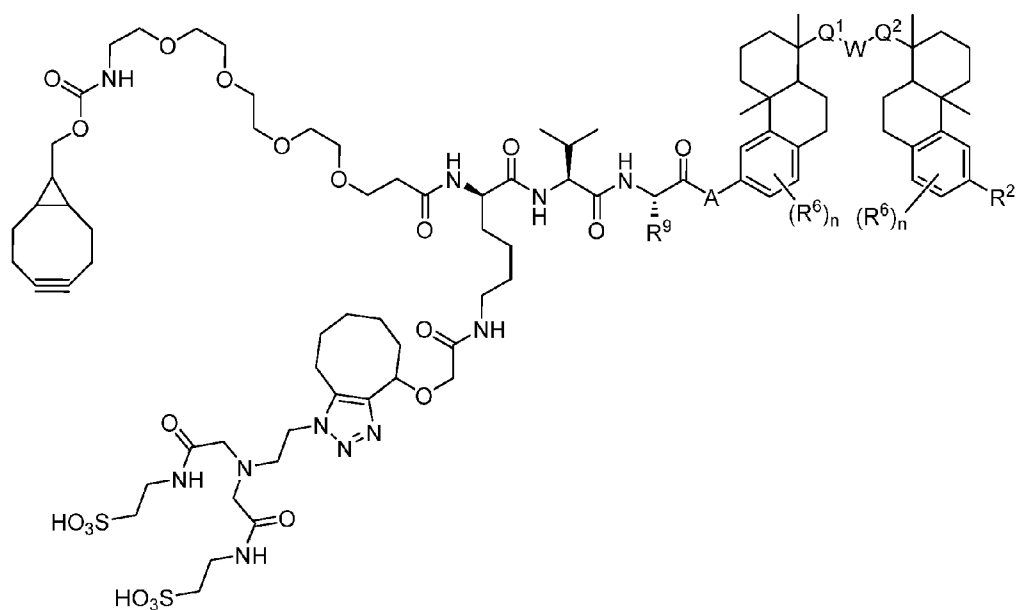
cada **A** es -O-, -N(H)-,



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} .

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo-carga activa es:

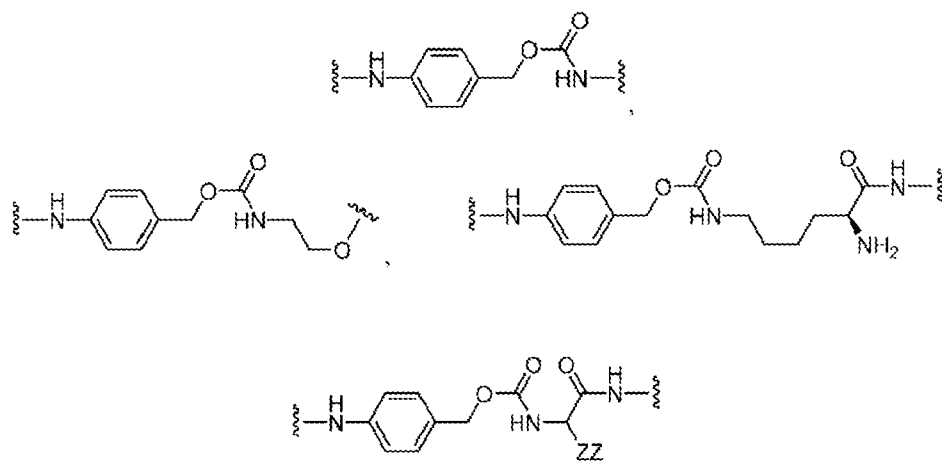




5

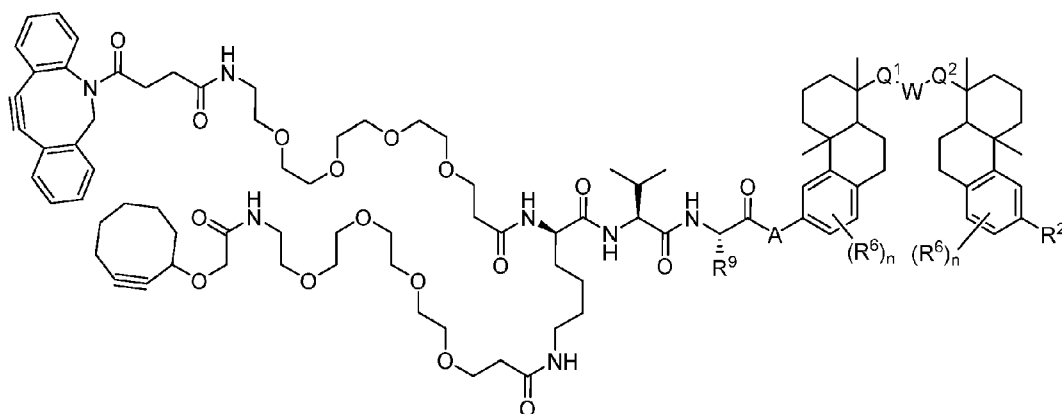
o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

- 10 Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y
 cada A es $-O-$, $-N(H)-$,



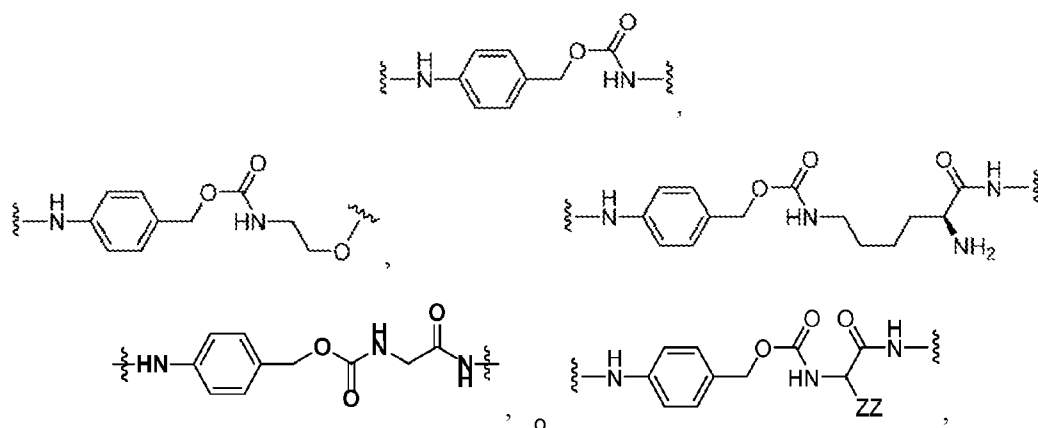
donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:



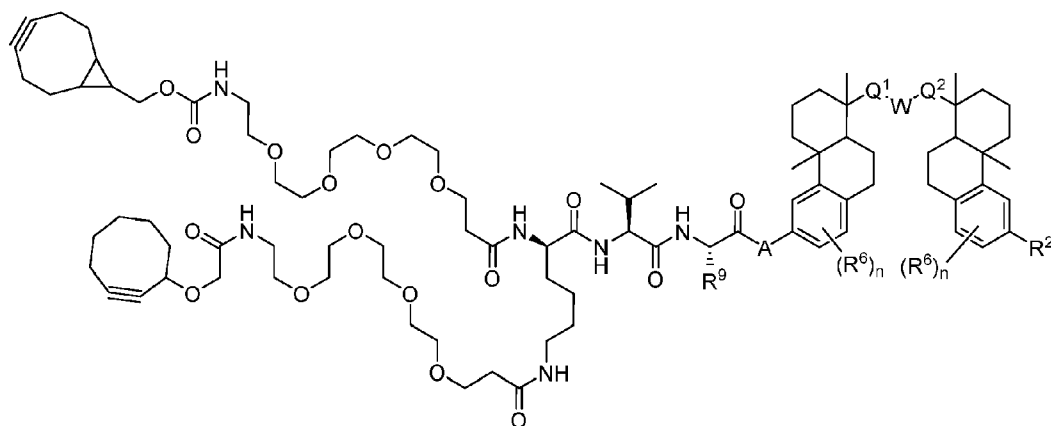
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I; cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y cada **A** es -O-, -N(H)-,



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:



5

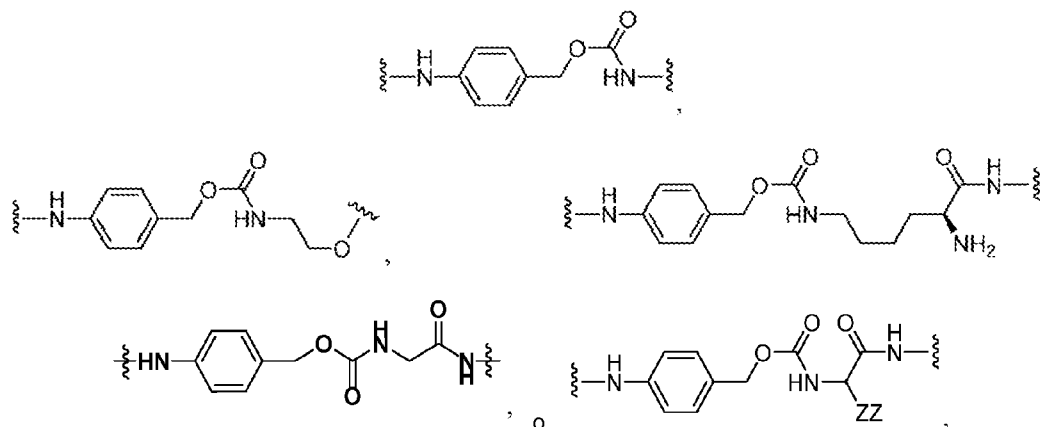
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o forma estereoisomérica de los mismos, en donde:

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

cada **A** es -O-, -N(H)-,

10

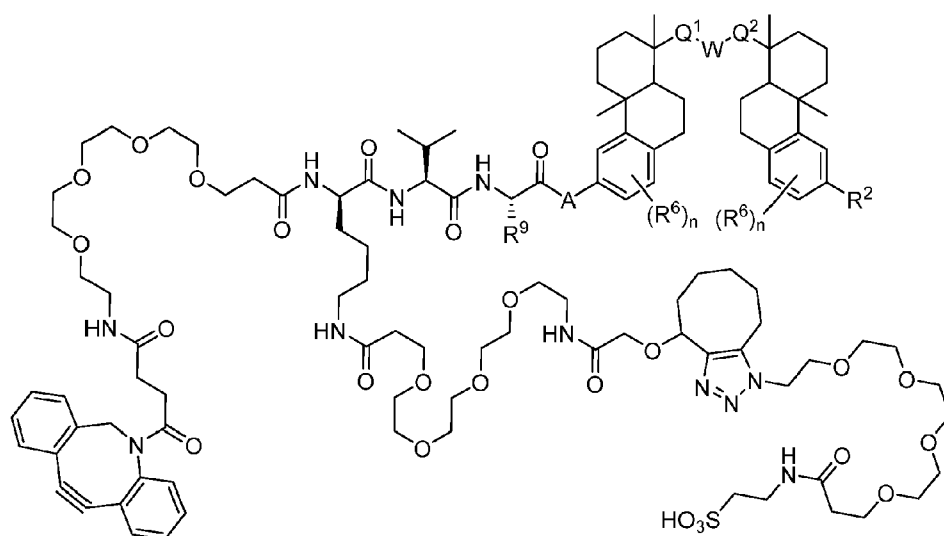
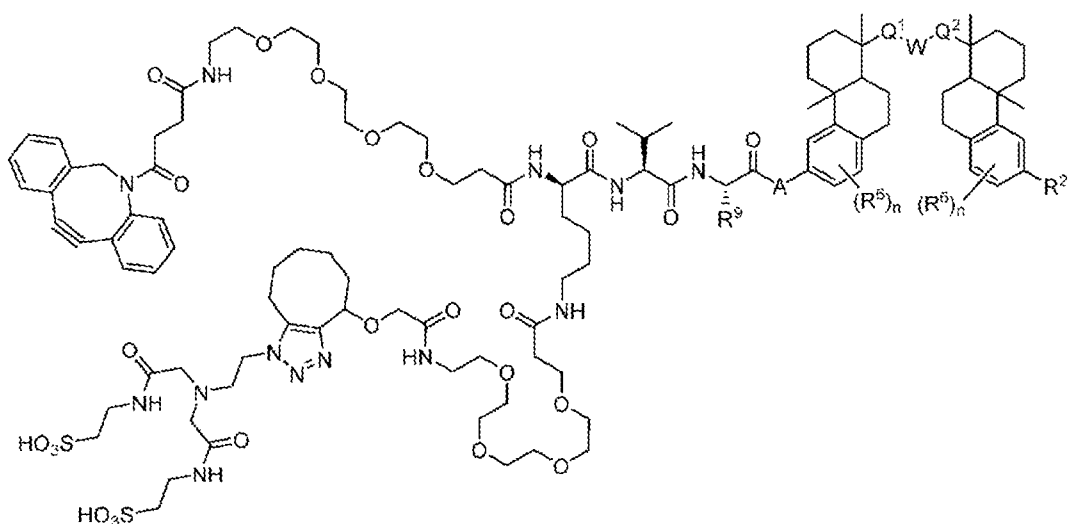
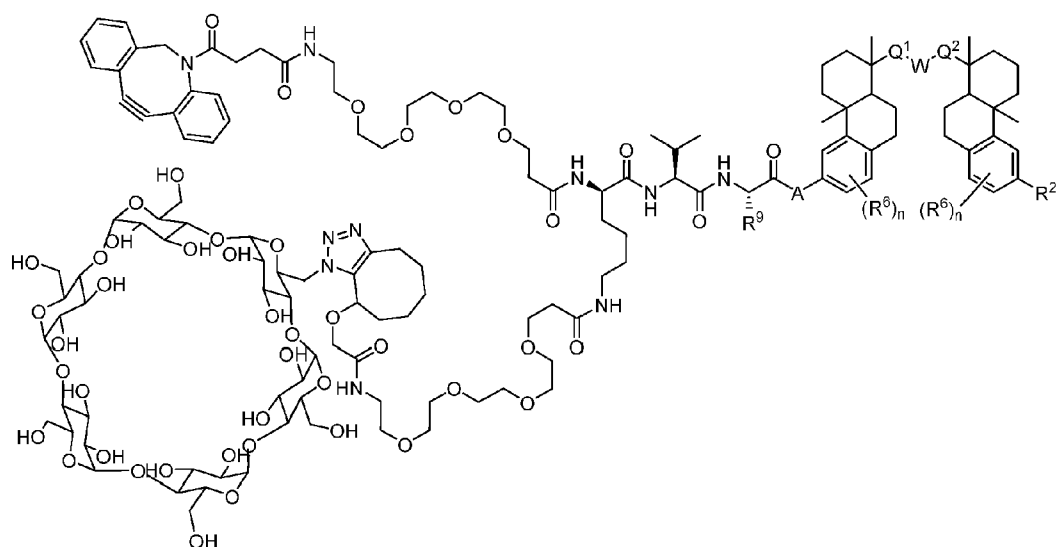


15

donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

20

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:



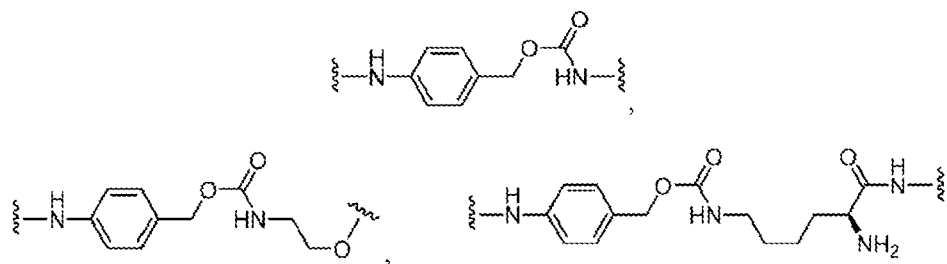
5

o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

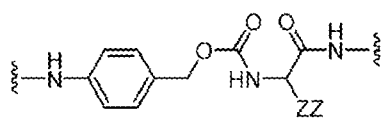
Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

10

cada A es -O-, -N(H)-,

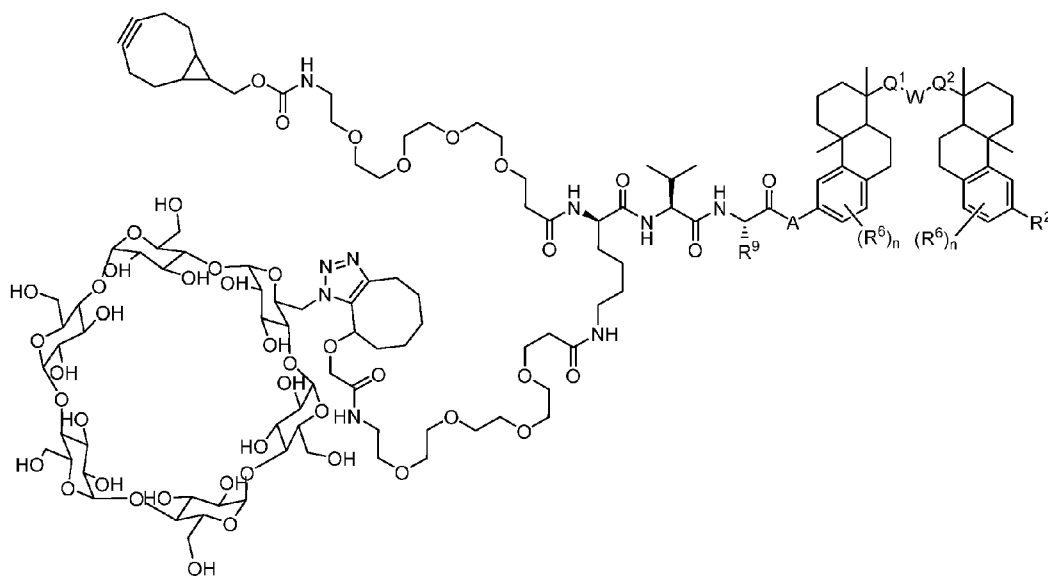


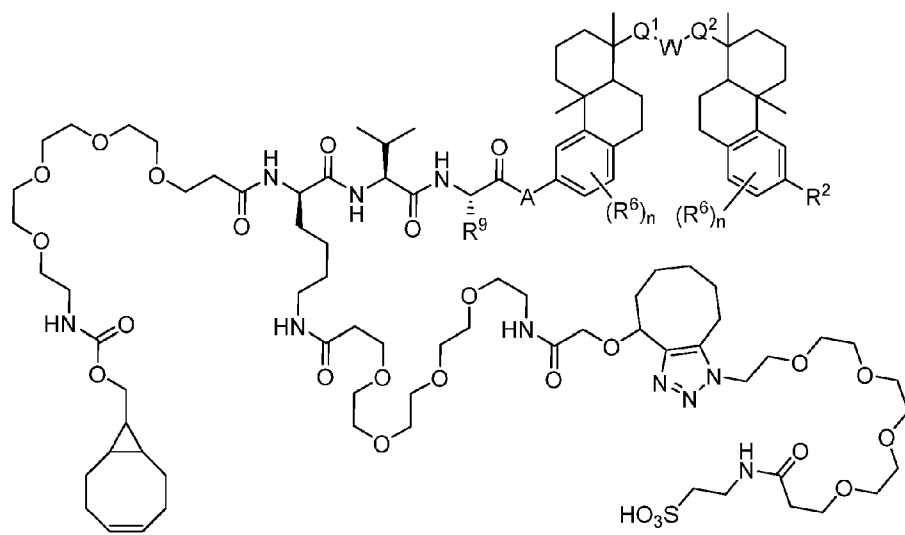
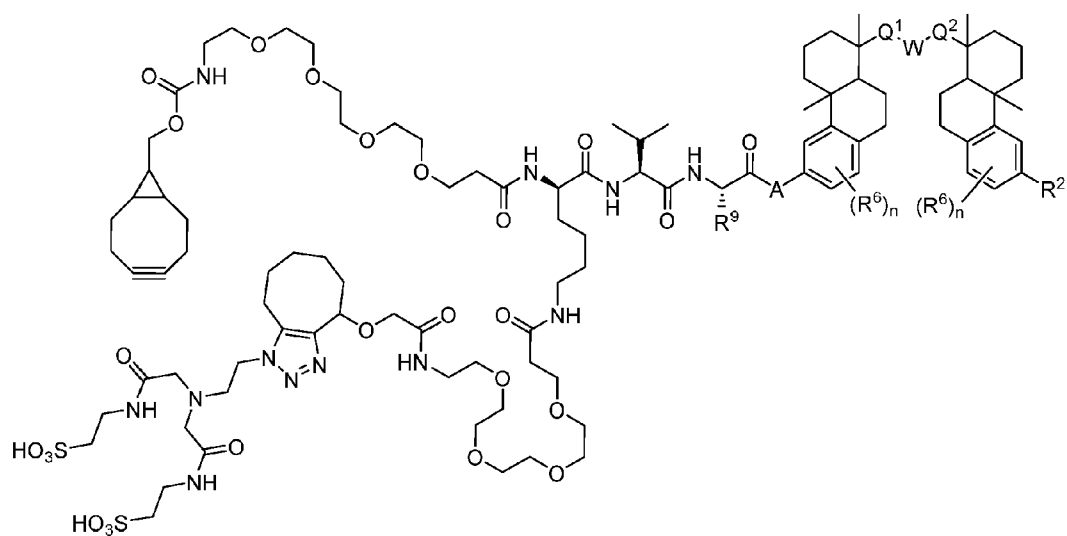
o



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} .

En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa es:

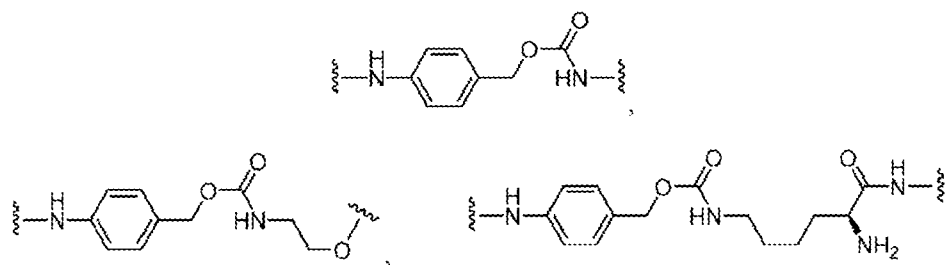




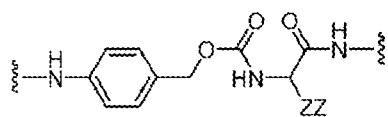
5 o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada R⁹ es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y
 cada A es -O-, -N(H)-,

10

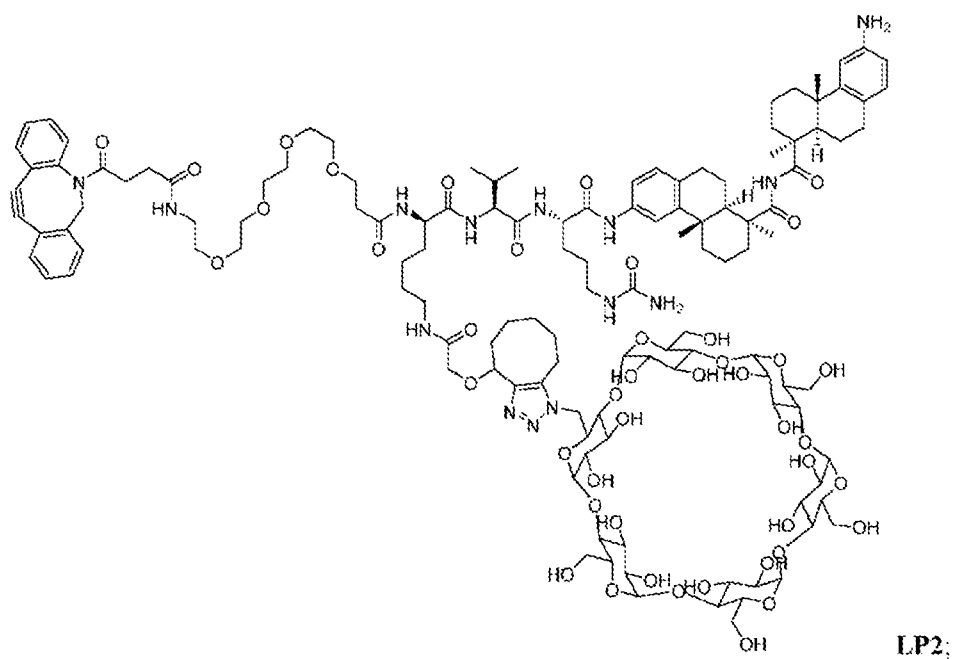
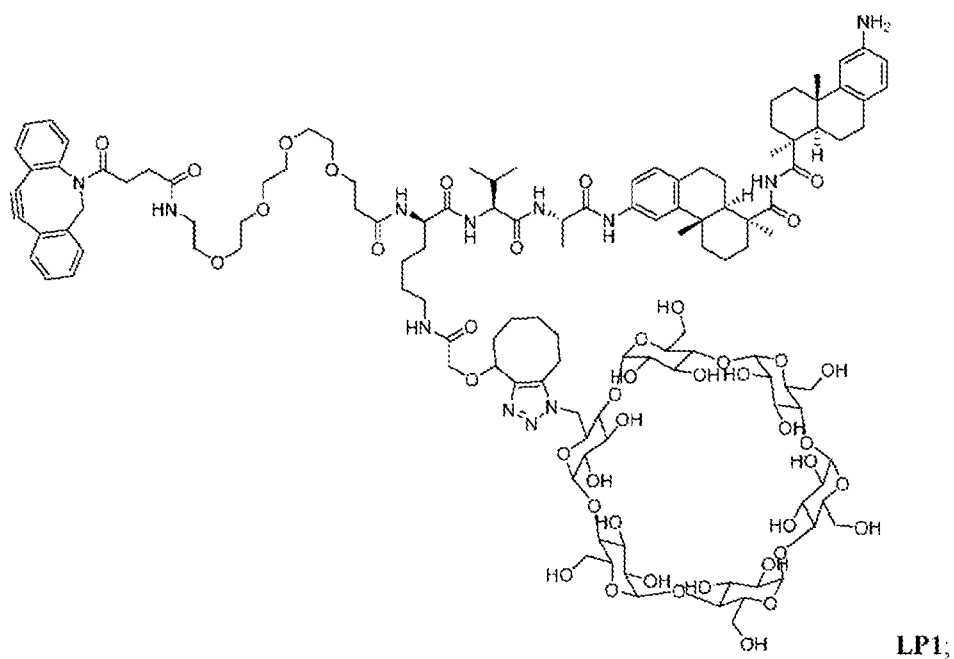


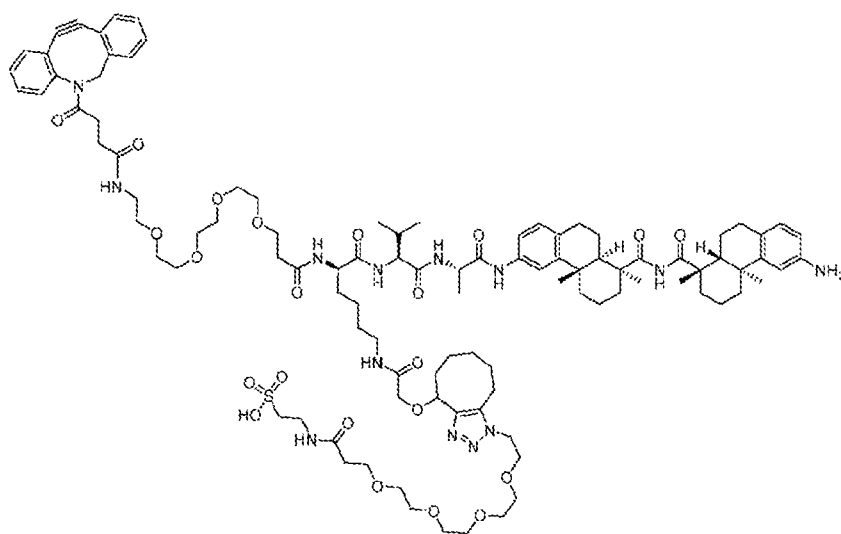
15 o



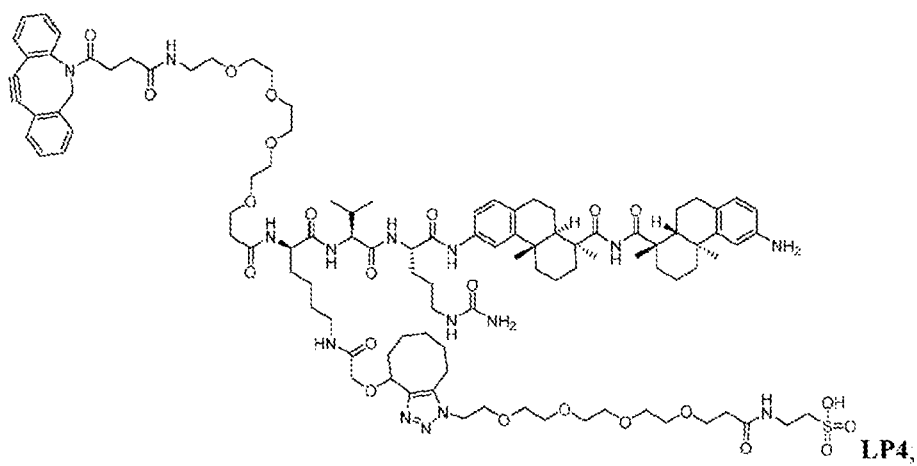
donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

- 5 En algunas realizaciones, el enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa se selecciona entre:

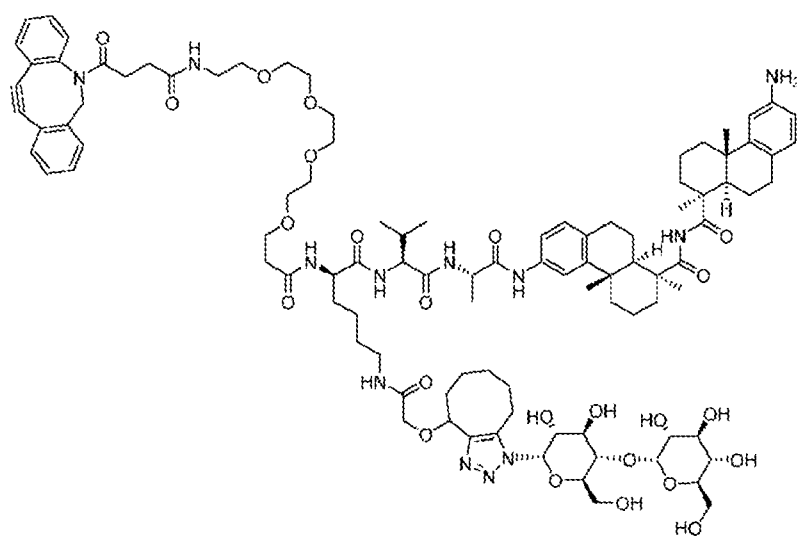




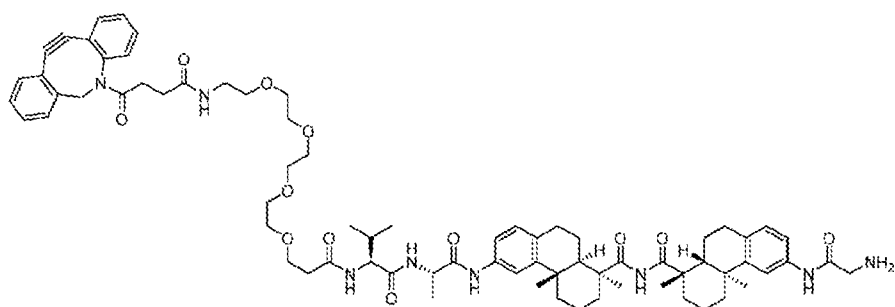
LP3,



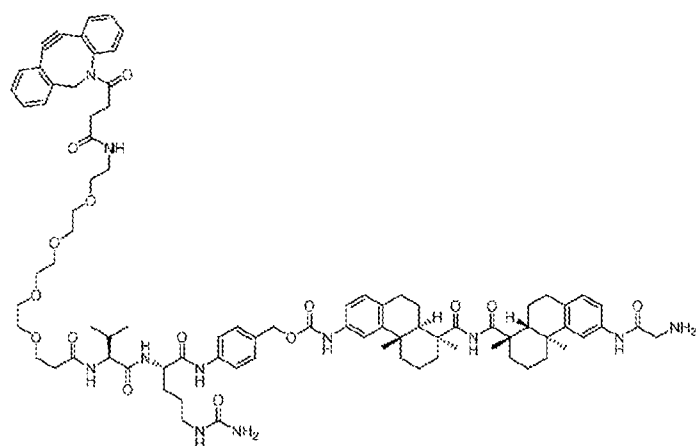
LP4,



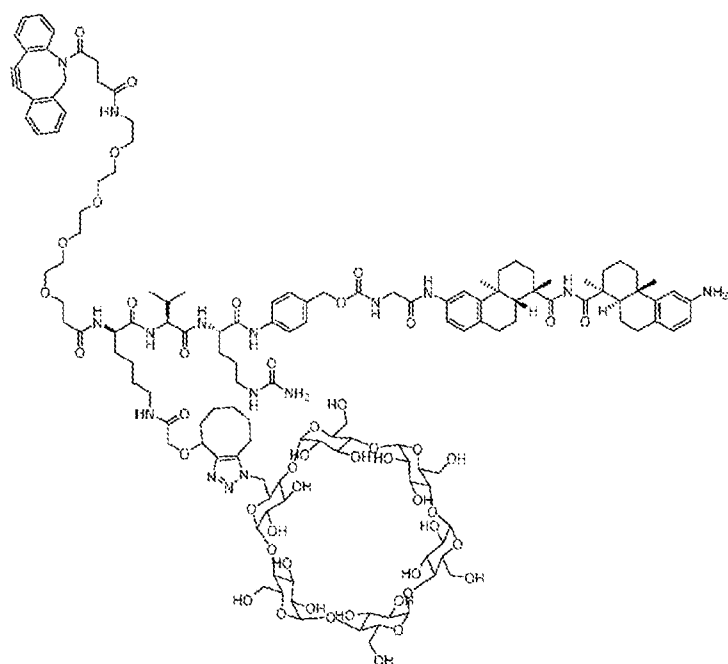
LP5,



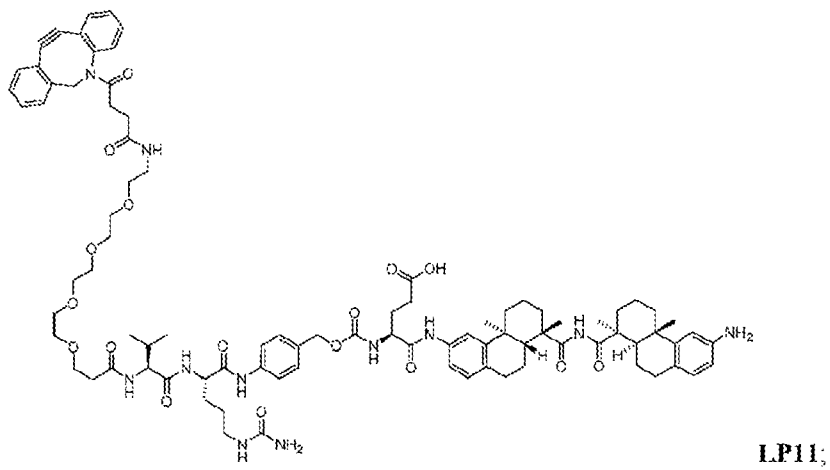
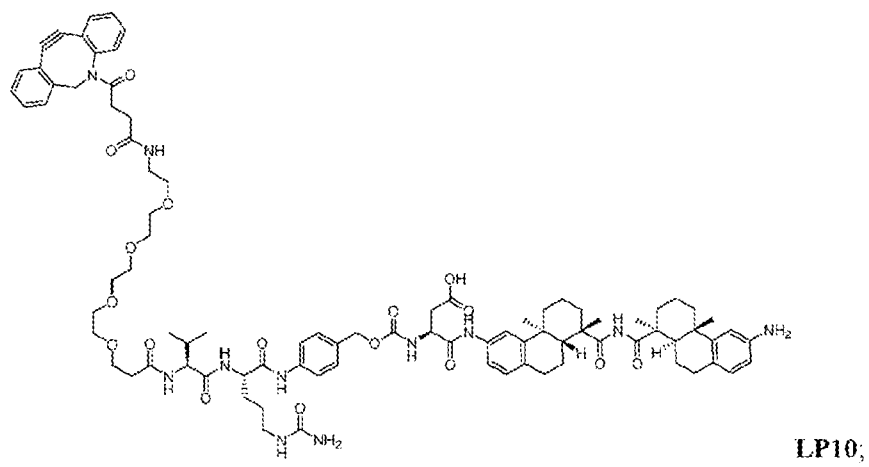
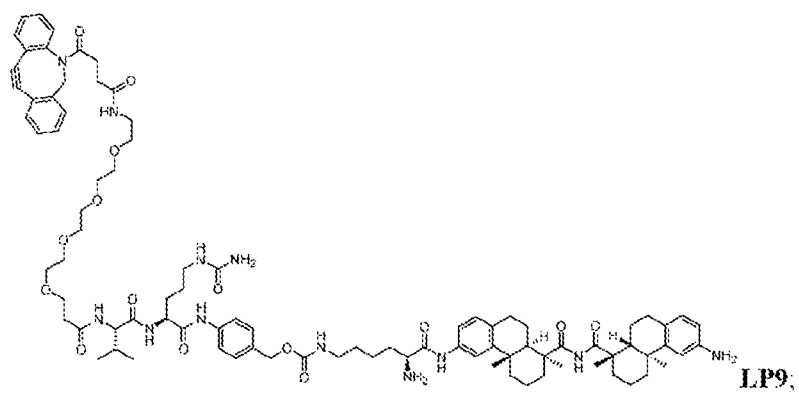
LP6;



LP7;

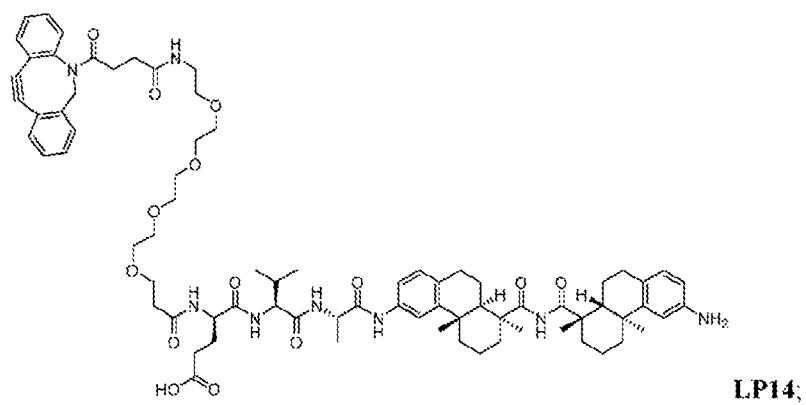
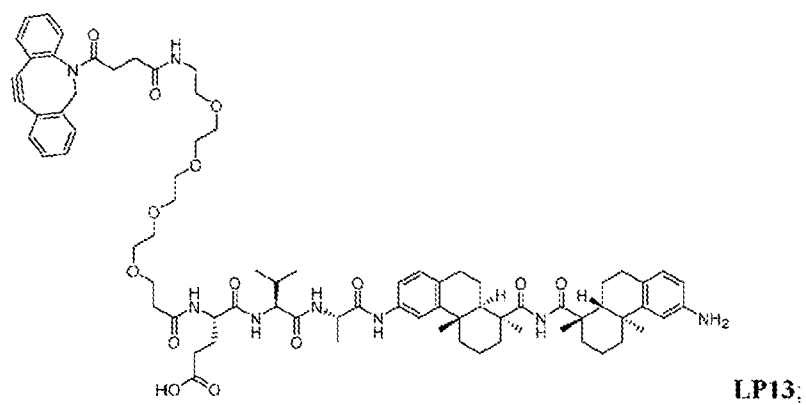
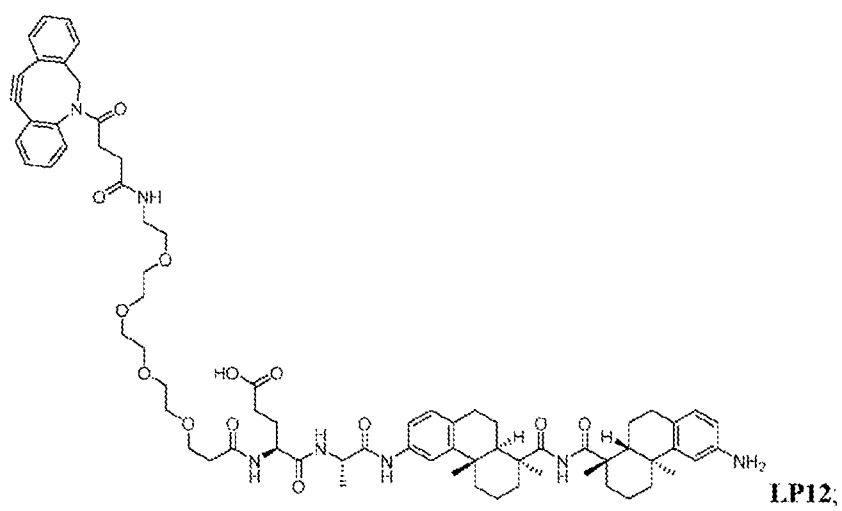


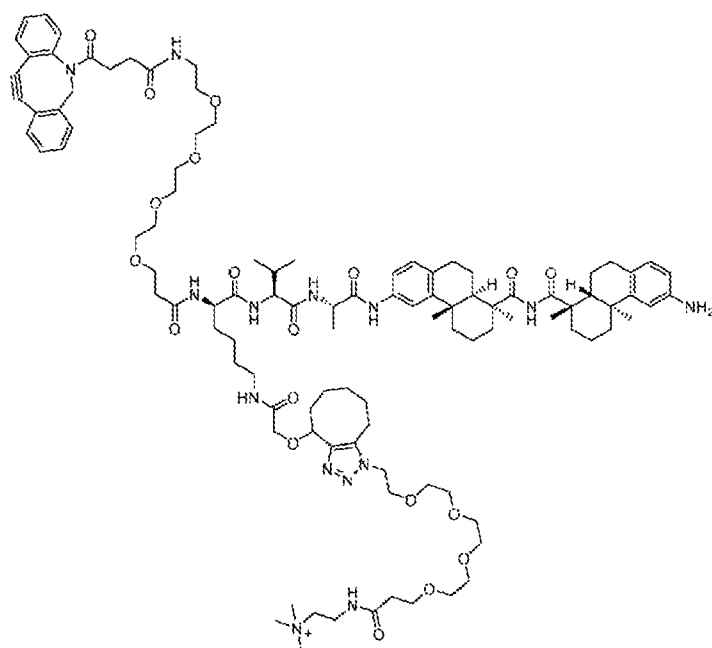
LP8;



5

y

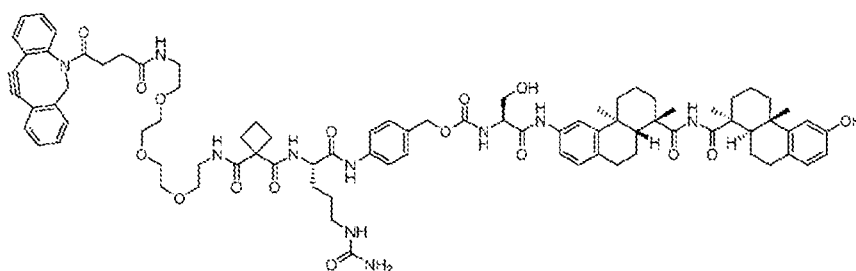




LP20;

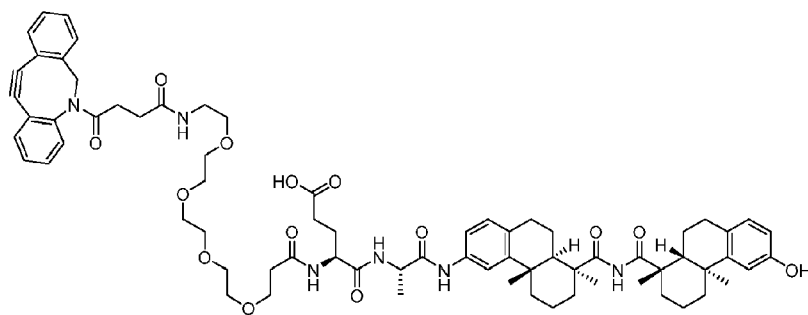
o
una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Además en el presente documento se proporciona enlazador-cargas activas seleccionados entre el grupo que consiste en:

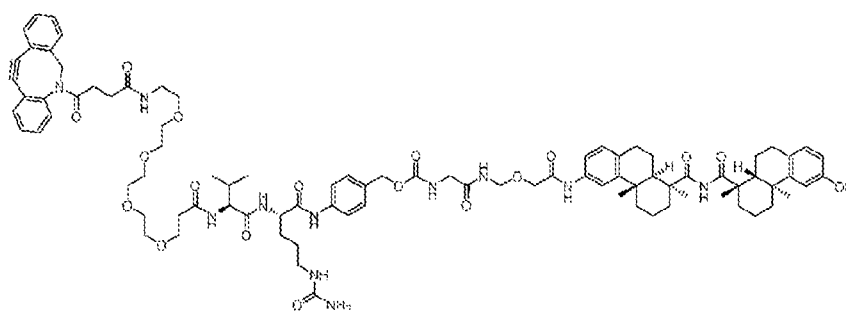


LP15;

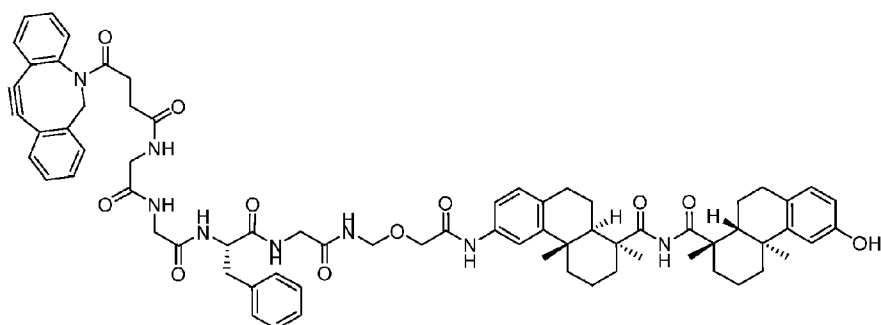
10



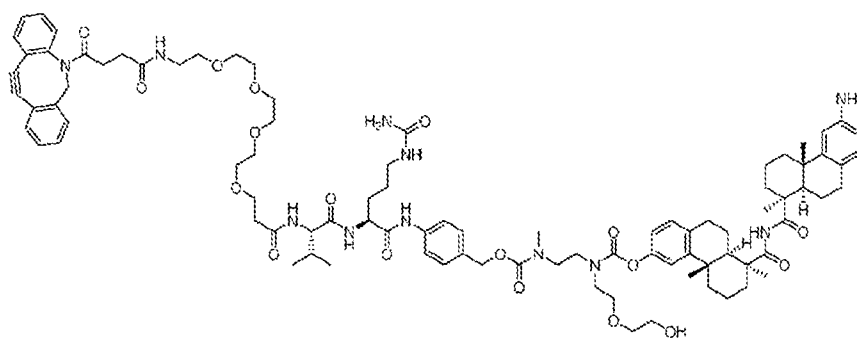
LP16;



LP17;



LP18;



LP19;

5

y una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los enlazadores, enlazador-cargas activas o enlazador reactivo-cargas activas anteriores son útiles para proporcionar los siguientes conjugados.

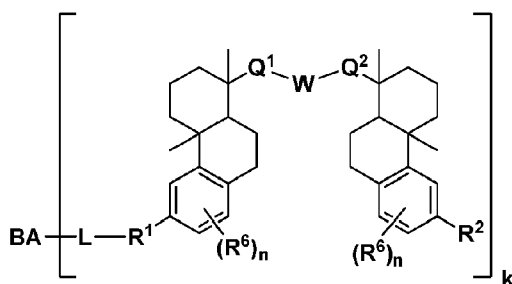
10

Conjugados/Conjugados de anticuerpos y fármacos (CAF)

En el presente documento se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en donde dichos anticuerpos están conjugados con uno o más compuestos de Fórmula I, II o III como se describe en el presente documento.

15

En el presente documento se proporcionan compuestos o conjugados de Fórmula A:



(A)

20

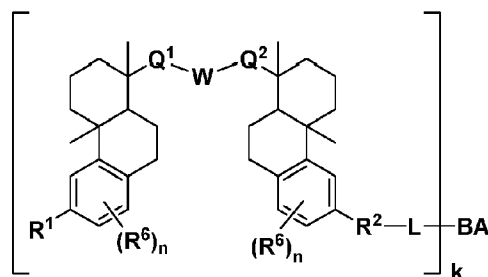
o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde **BA** es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, **L** es un enlazador, **Q¹**, **Q²**, **W**, **-R¹-**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En determinadas realizaciones, los compuestos o cargas activas conjugados con **-L-BA** en la Fórmula A incluyen uno o más compuestos de las Fórmulas I, II y/o III como se ha descrito anteriormente, en donde **BA** es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo; **L** es un enlazador; y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula I, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula II, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula III, como se ha descrito anteriormente. En

25

30

cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo.

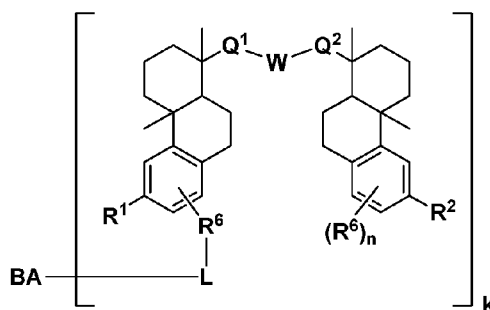
En el presente documento se proporcionan compuestos o conjugados de Fórmula B:



(B)

o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde **BA** es un agente de unión, **L** es un enlazador, **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **-R²-**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En determinadas realizaciones, los compuestos o cargas activas conjugados con **-L-BA** en la Fórmula B incluyen uno o más compuestos de las Fórmulas I, II y/o III como se ha descrito anteriormente, en donde **BA** es un agente de unión; **L** es un enlazador; y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula I, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula II, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula III, como se ha descrito anteriormente. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo.

En el presente documento se proporcionan compuestos o conjugados de Fórmula C:

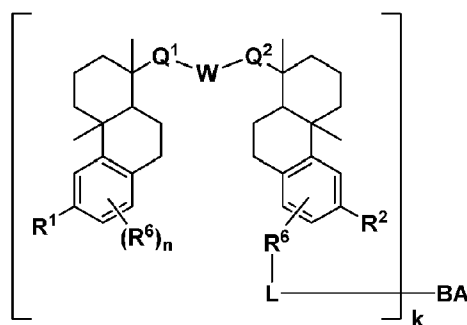


(C)

o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde **BA** es un agente de unión, **L** es un enlazador, **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **-R⁶-** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En determinadas realizaciones, los compuestos o cargas activas conjugados con **-L-BA** en la Fórmula C incluyen uno o más compuestos de las Fórmulas I, II y/o III como se ha descrito anteriormente, en donde **BA** es un agente de unión; **L** es un enlazador; y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula I, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es

anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula II, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula III, como se ha descrito anteriormente. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo.

En el presente documento se proporcionan compuestos o conjugados de Fórmula **D**:



(D)

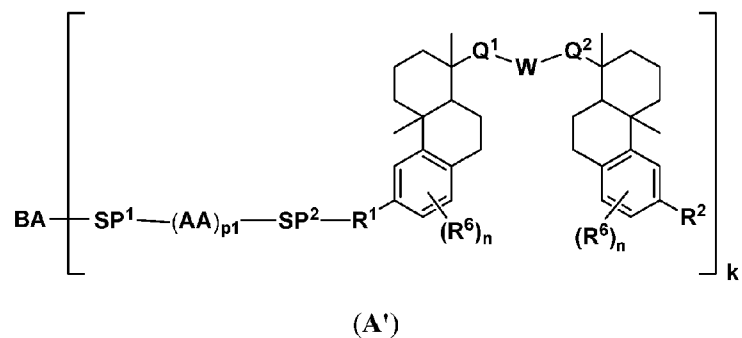
o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde **BA** es un agente de unión, **L** es un enlazador, **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **-R⁶** son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En determinadas realizaciones, los compuestos o cargas activas conjugados con **-L-BA** en la Fórmula D incluyen uno o más compuestos de las Fórmulas I, II y/o III como se ha descrito anteriormente, en donde **BA** es un agente de unión; **L** es un enlazador; y **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula I, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula II, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula III, como se ha descrito anteriormente. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, cada **R⁴** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo.

En cualquiera de las realizaciones de los cuatro párrafos anteriores, **L** es un enlazador o **X-Y-Z**, en donde **X** es **-NH-** u **-O-**; **Y** es una fracción enzimáticamente escindible, un grupo autoinmolable, una fracción lábil a los ácidos, **PEG_{n1}**, una fracción de azúcar o un grupo potenciador; y **Z** es un enlazador de agente de unión (**BL**) en donde **Z** está unido covalentemente a **BA**. Las fracciones escindibles enzimáticamente ilustrativas incluyen, aunque sin limitación, cualquier di o tripéptido (por ejemplo, VC-PAB y VA, como se describe en cualquier otro sitio del presente documento). En otra parte del presente documento se describen grupos autoinmolables ilustrativos. Las fracciones lábiles a los ácidos ilustrativas incluyen, aunque sin limitación, alcoxaminas, cetoxaminas, carbonatos o fosfonatos. Los grupos potenciadores ilustrativos se describen en otra parte del presente documento. En otra parte del presente documento se describen fracciones reactivas ilustrativas. En determinadas realizaciones, **Y** no incluye **PEG_{n1}**, en donde **n1** es 1, 2, 3, 4 o 5. En determinadas realizaciones, se puede usar un aminoácido para conectar la carga activa, grupo potenciador y anticuerpo (cada uno como se describe en otra parte del presente documento) entre sí, como se describe y es evidente en otra parte del presente documento. La conexión de la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo a través del aminoácido pueden llevarse a cabo mediante reacciones de acoplamiento de amida, adiciones de tio-Michael o alquilaciones de anilina-NH como apreciarán los expertos en la técnica. Por ejemplo, el aminoácido que conecta la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo es lisina. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el aminoácido que conecta la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo es D-lisina. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el aminoácido que conecta la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo es ácido aspártico. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el aminoácido que conecta la carga activa, el

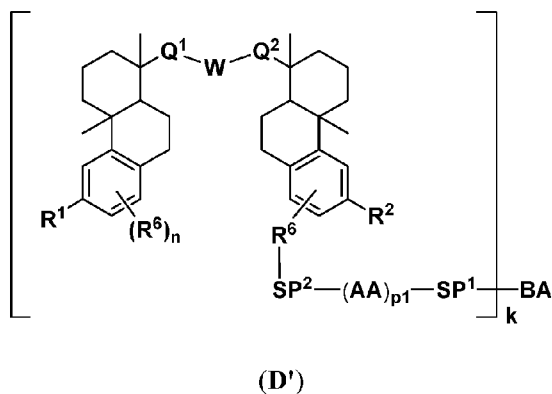
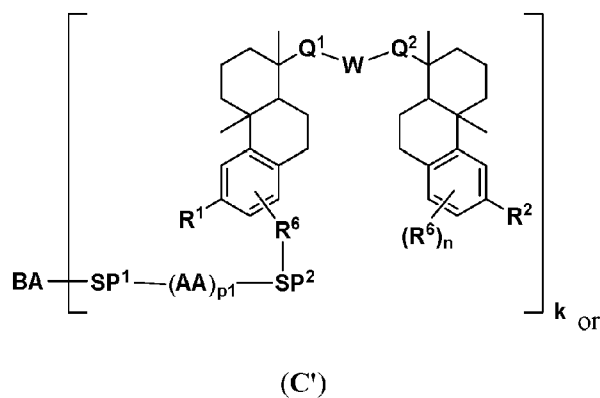
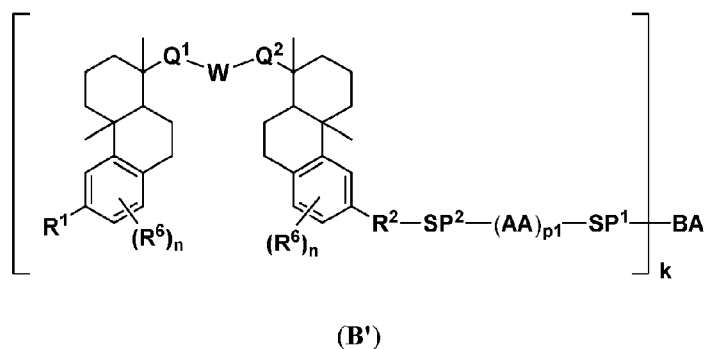
grupo potenciador y el anticuerpo es ácido glutámico. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el aminoácido que conecta la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo es serina. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el aminoácido que conecta la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo es cisteína. A modo de ejemplo adicional, en una realización, el aminoácido que conecta la carga activa, el grupo potenciador y el anticuerpo es tirosina.

5

En el presente documento se proporcionan compuestos o conjugados que tienen la Fórmula **A'**, **B'**, **C'** o **D'**:



10

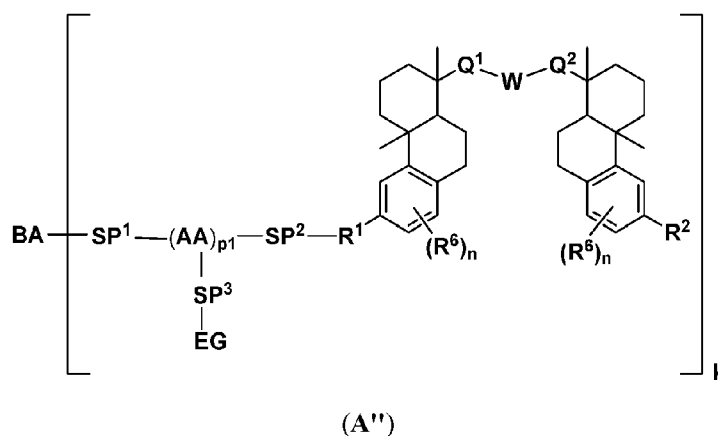


15

o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde **BA** es un agente de unión, **Q¹**, **Q²**, **W**, **R¹**, -

R^1 -, R^2 -, R^4 , R^5 y R^6 o $-R^6$ - son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, SP^1 y SP^2 , cuando está presente, son grupos espaciadores, cada AA es un resto de aminoácido y $p1$ es un número entero de 1 a 10. En una realización, el compuesto o conjugado es de Fórmula A' o una sal o una forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde BA es un agente de unión, Q^1 , Q^2 , W , $-R^1$ -, R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, SP^1 y SP^2 , cuando está presente, son grupos espaciadores, cada AA es un resto de aminoácido y $p1$ es un número entero de 1 a 10. En una realización, el compuesto o conjugado es de Fórmula B' o una sal o una forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde BA es un agente de unión, Q^1 , Q^2 , W , R^1 -, $-R^2$ -, R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, SP^1 y SP^2 , cuando está presente, son grupos espaciadores, cada AA es un resto de aminoácido y $p1$ es un número entero de 1 a 10. En una realización, el compuesto o conjugado es de Fórmula C' o una sal o una forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde BA es un agente de unión, Q^1 , Q^2 , W , R^1 -, R^2 , R^4 , R^5 y $-R^6$ - son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, SP^1 y SP^2 , cuando está presente, son grupos espaciadores, cada AA es un resto de aminoácido y $p1$ es un número entero de 1 a 10. En una realización, el compuesto o conjugado es de Fórmula D' o una sal o una forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde BA es un agente de unión, Q^1 , Q^2 , W , R^1 -, R^2 , R^4 , R^5 y $-R^6$ - son como se ha descrito anteriormente en el contexto de la Fórmula I, SP^1 y SP^2 , cuando está presente, son grupos espaciadores, cada AA es un resto de aminoácido y $p1$ es un número entero de 1 a 10. En cualquier realización en este párrafo, BA es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula I, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, BA es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula II, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, BA es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula III, como se ha descrito anteriormente. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, $p1$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, k es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, k está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, k es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, k es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, k es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, k es 4.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es de Fórmula A'':

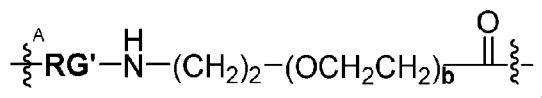


o una sal farmacéuticamente aceptable, o una forma estereoisomérica de la misma, o un regioisómero de la misma, en donde:

- BA es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo;
- cada SP^1 , SP^2 y SP^3 es un grupo espaciador como se ha descrito anteriormente, dónde SP^3 está unido a un resto de aminoácido AA de $(AA)_{p1}$;
- $p1$ es un número entero de 1 a 10;
- EG es un agente potenciador de la solubilidad;
- k es un número entero de 1 a 30;
- Q^1 , Q^2 , W , $-R^1$ -, R^2 , R^4 , R^5 y R^6 son como se ha descrito en el contexto de la Fórmula I.

Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la

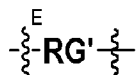
ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1.5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1.5}SO_3H$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1.5}C(O)NH(CH_2)_{1.5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el espaciador **SP¹** es:



en donde **RG'** es un resto de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo **RG** con un agente de unión;



es un enlace, directo o indirecto, al agente de unión; y **b** es un número entero de 1 a 4; el **(AA)_{p1}-SP²** es -NH-lisina-valina-alanina-, -NH-lisina-valina-citrulina- o -NH-lisina-valina-citrulina-PABC-; el espaciador **SP³** es:



en donde **RG'** es un resto de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo **RG** con un agente potenciador **EG**;

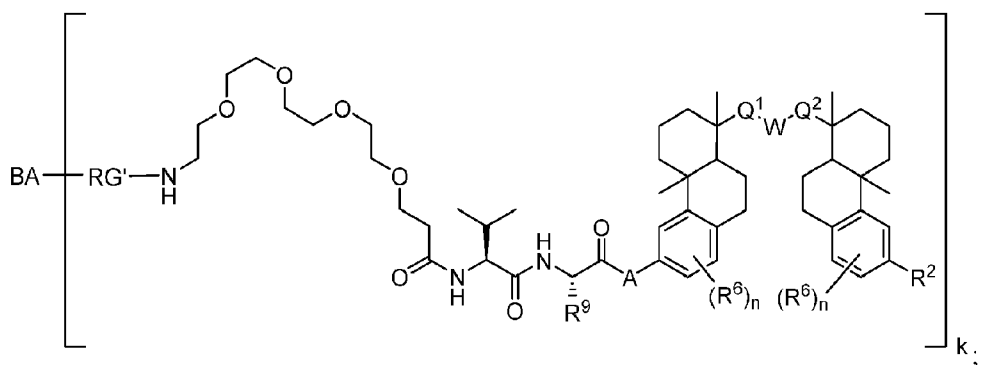
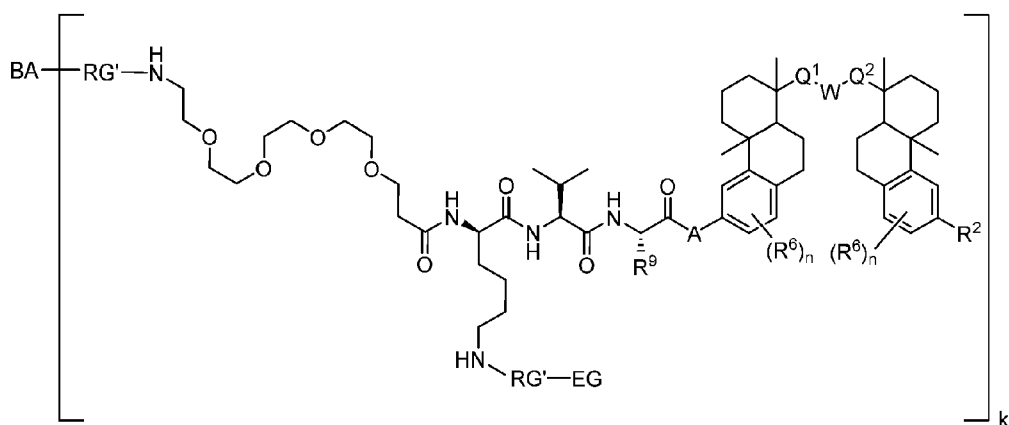


es un enlace con el agente potenciador; y

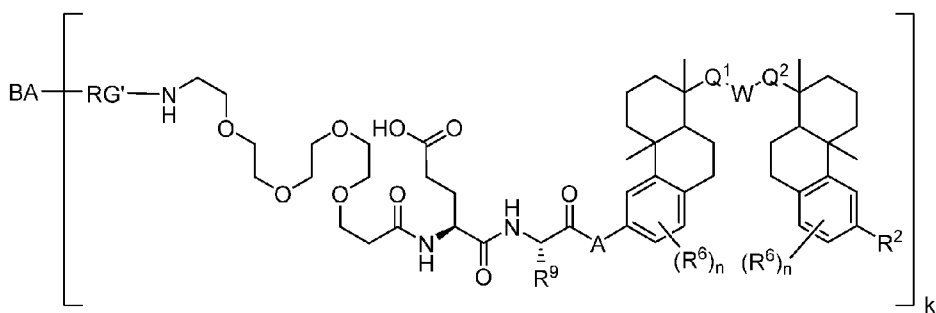


es un enlace con **(AA)_{p1}**. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula I, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula II, como se ha descrito anteriormente. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo está conjugado con un compuesto de Fórmula III, como se ha descrito anteriormente. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **p1** es 1, 2, 3, 4 o 5. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 4.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



5 o



o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

cada **RG'** es el resto de un grupo reactivo, tal como se describe en el presente documento;

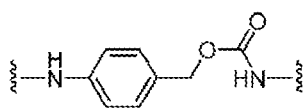
EG es un agente potenciador de la solubilidad;

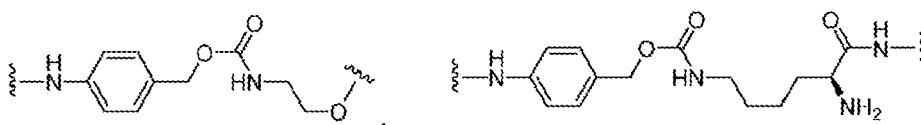
k es un número entero de 1 a 30;

Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

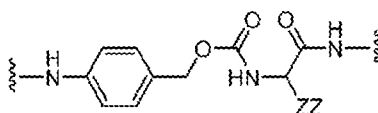
cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

cada **A** es -O-, -N(H)-,



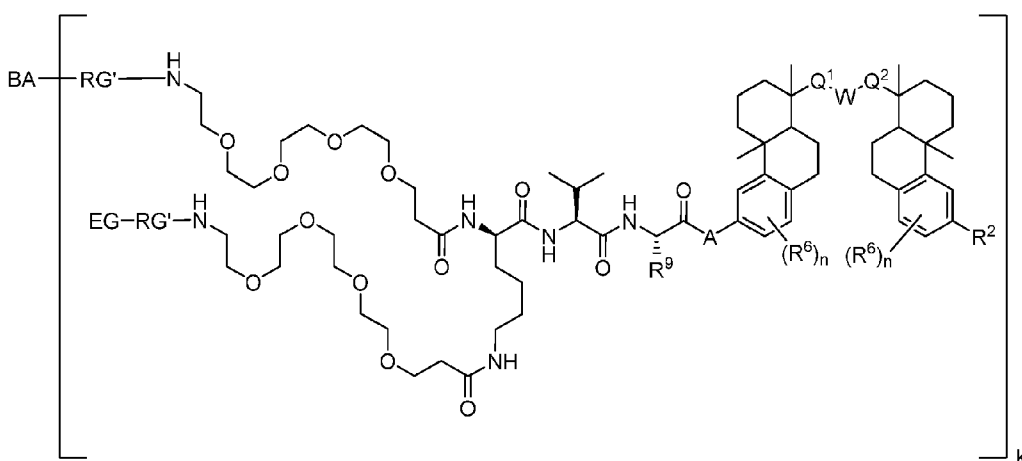


o



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

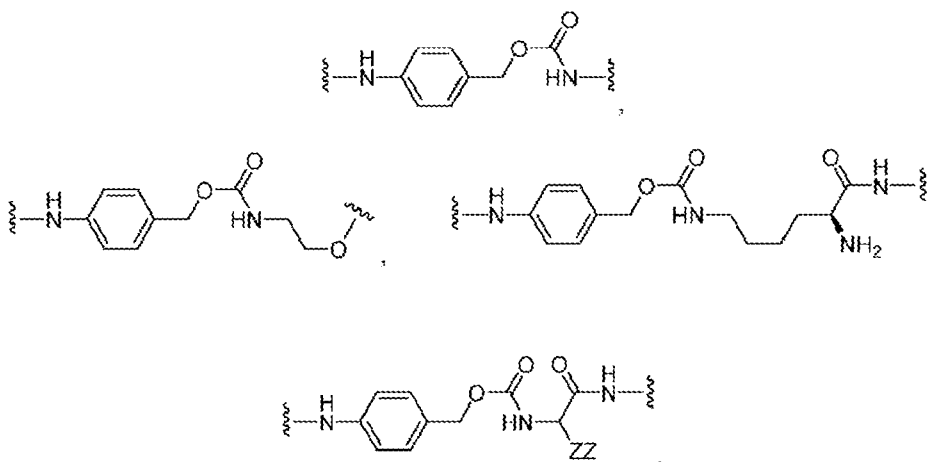
cada **RG'** es el resto de un grupo reactivo, tal como se describe en el presente documento;

EG es un agente potenciador de la solubilidad;

k es un número entero de 1 a 30;

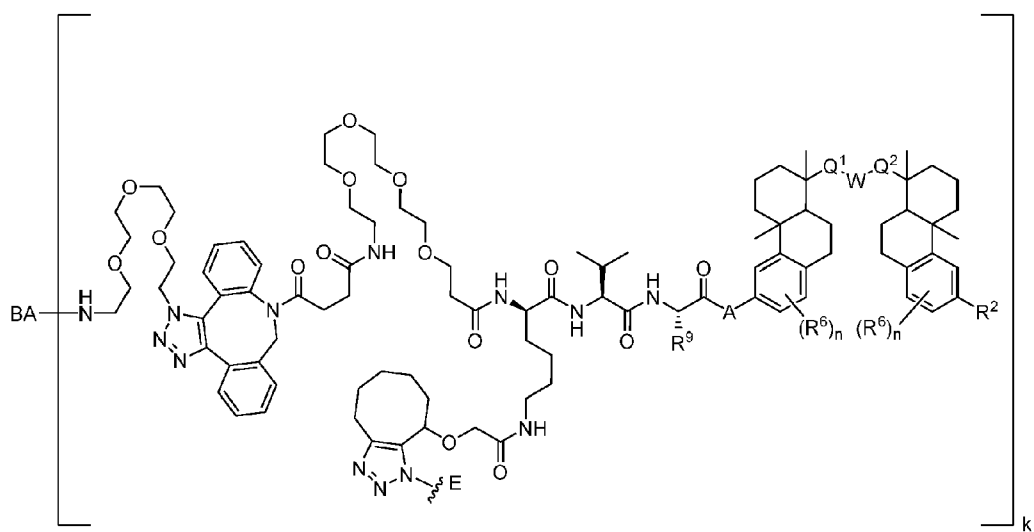
Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

cada R^9 es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y
 cada A es $-O-$, $-N(H)-$,

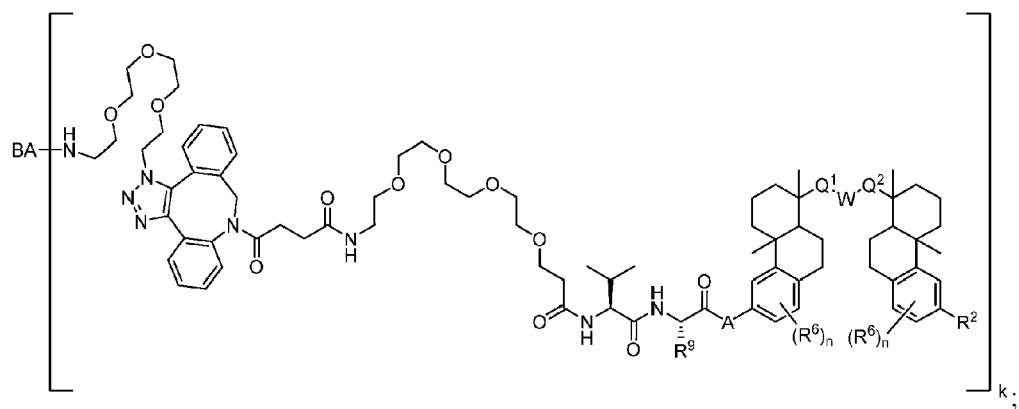


donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, ZZ es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, ZZ es heteroalquilo C_{1-6} . Como se ha discutido anteriormente, la unión al agente de unión puede ser directa o mediante un espaciador. En determinadas realizaciones, la unión al agente de unión se realiza mediante un espaciador de PEG a un resto de glutamina del agente de unión. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5, y $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde $n2$ es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde $m2$ es 1, 2, 3, 4 o 5.

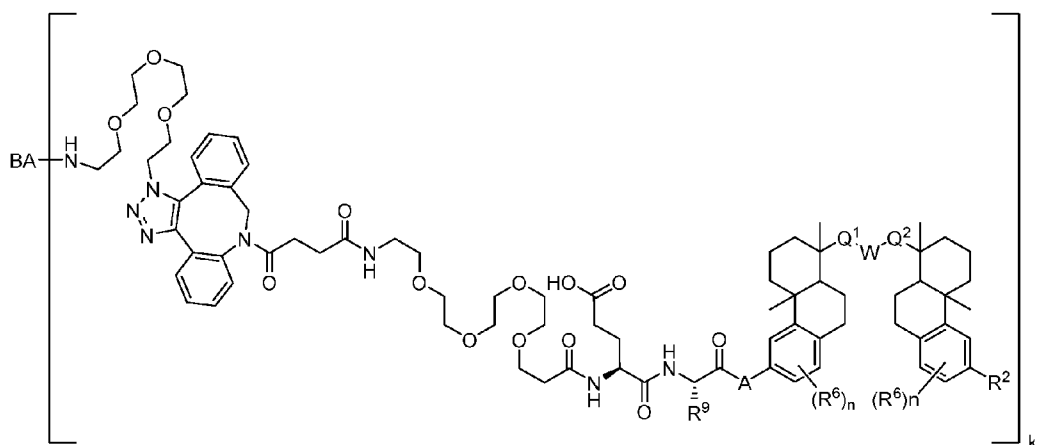
En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



;



5 o



o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

10

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

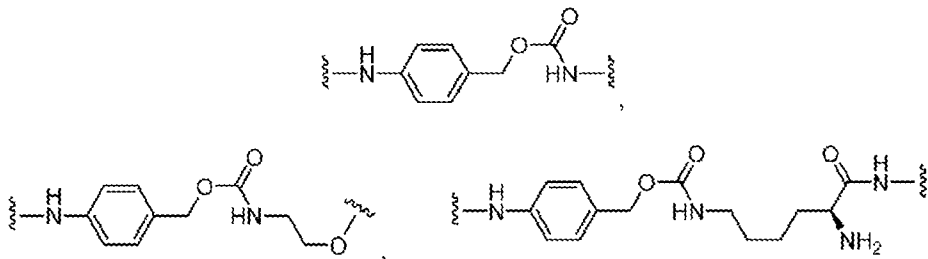
cada uno

15



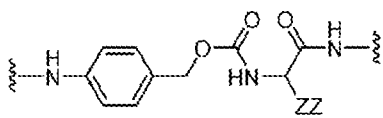
es un enlace con el grupo potenciador;
 cada R^9 es $-\text{CH}_3$ o $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; y
 cada A es $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,

5



10

o

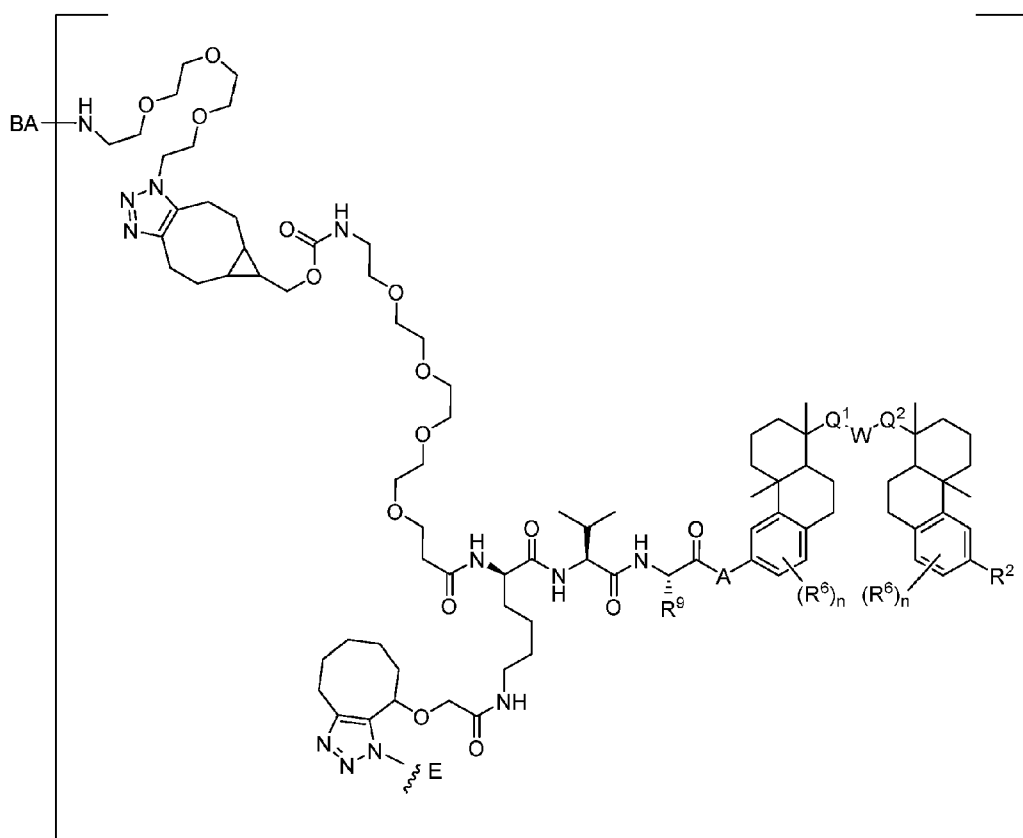


15

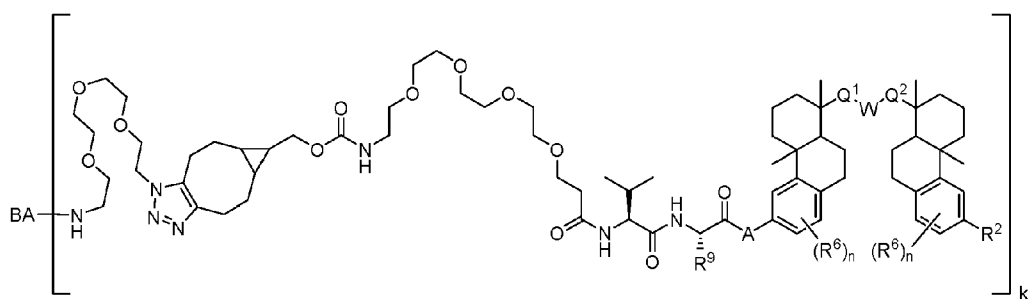
donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ o $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

35

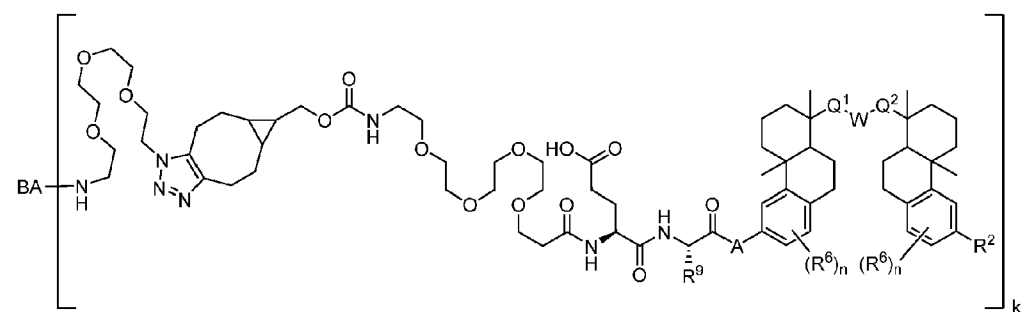
En algunas realizaciones, el conjugado es:



;



5 ; o



o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

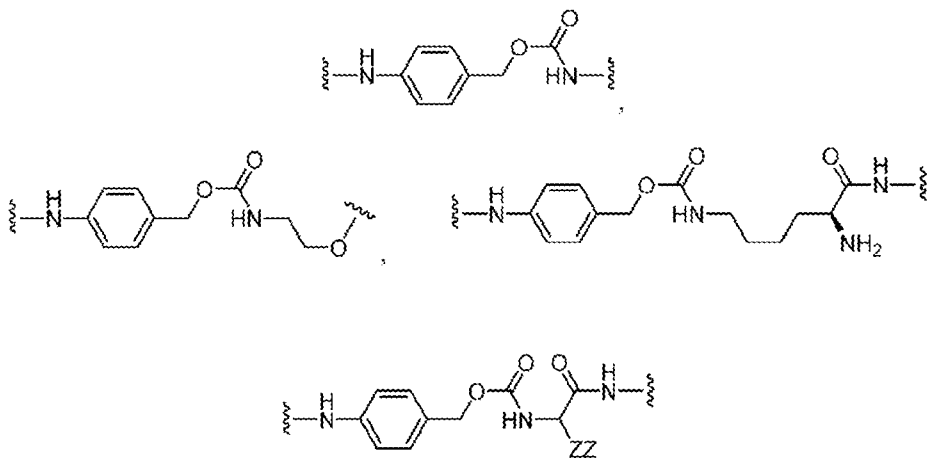
k es un número entero de 1 a 30;

Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

cada uno



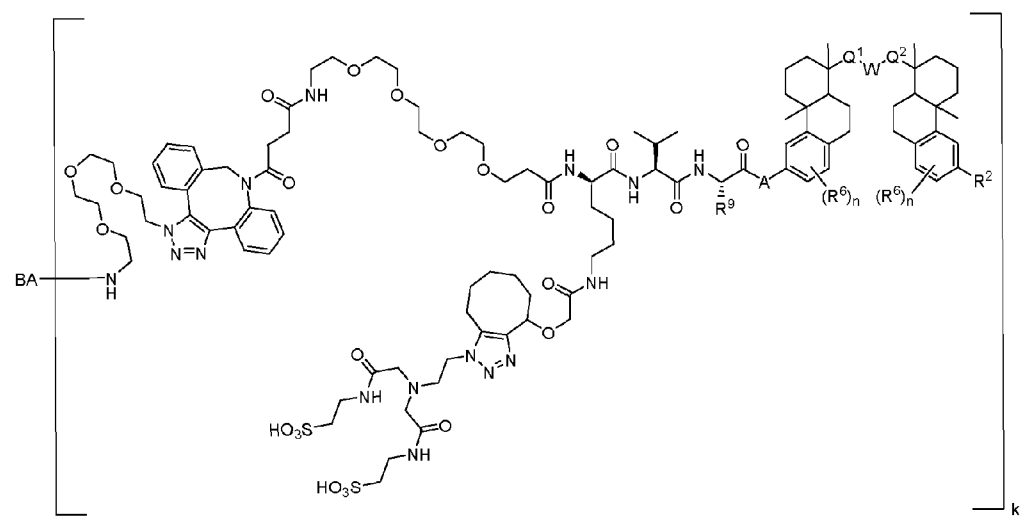
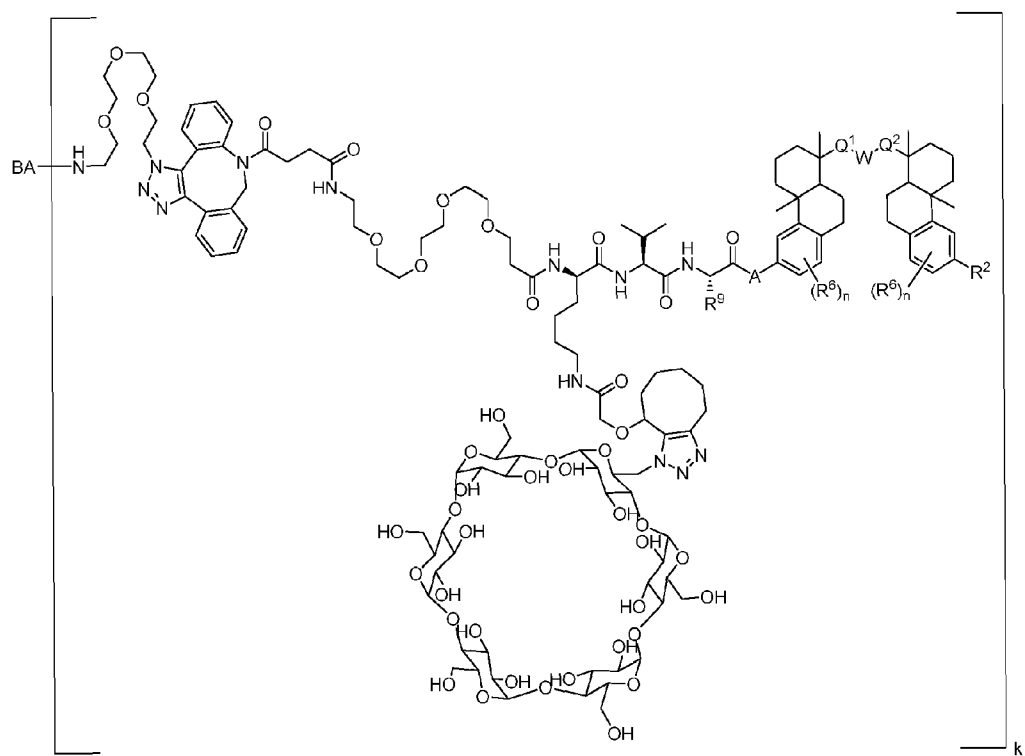
es un enlace con el grupo potenciador;
 cada R^9 es $-\text{CH}_3$ o $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; y
 cada A es $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,

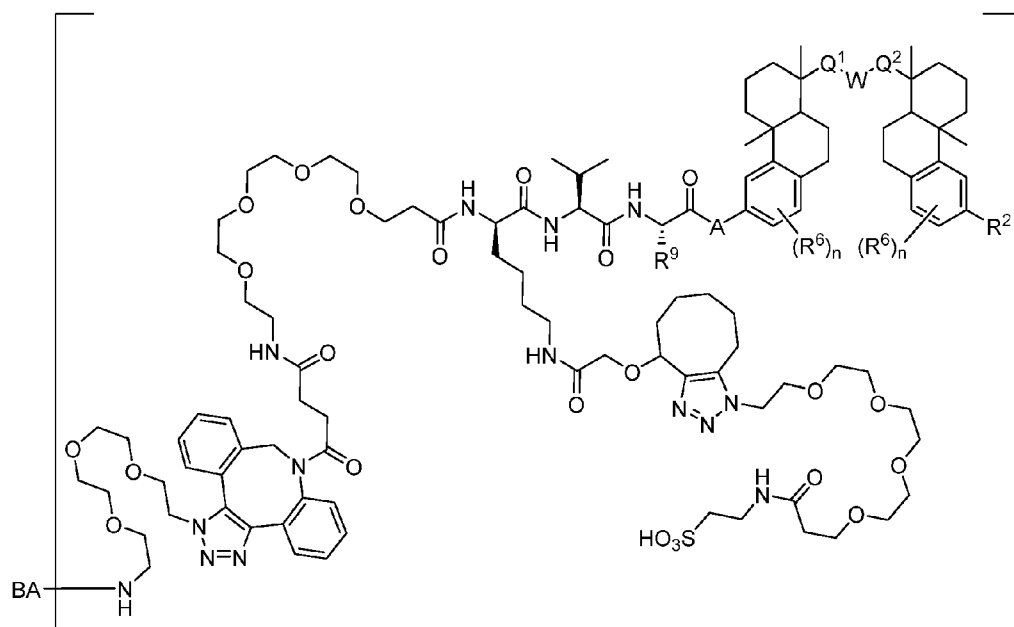
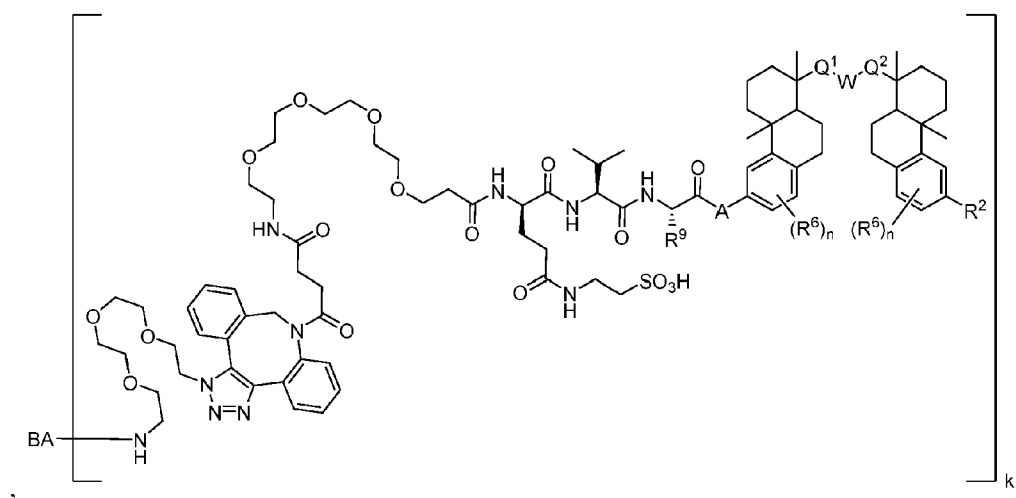


donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} .

En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ o $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:





5 o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

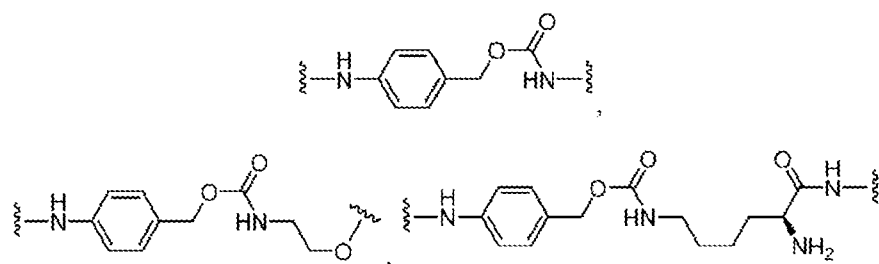
BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;

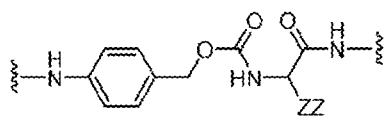
10 cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y

cada **A** es -O-, -N(H)-,



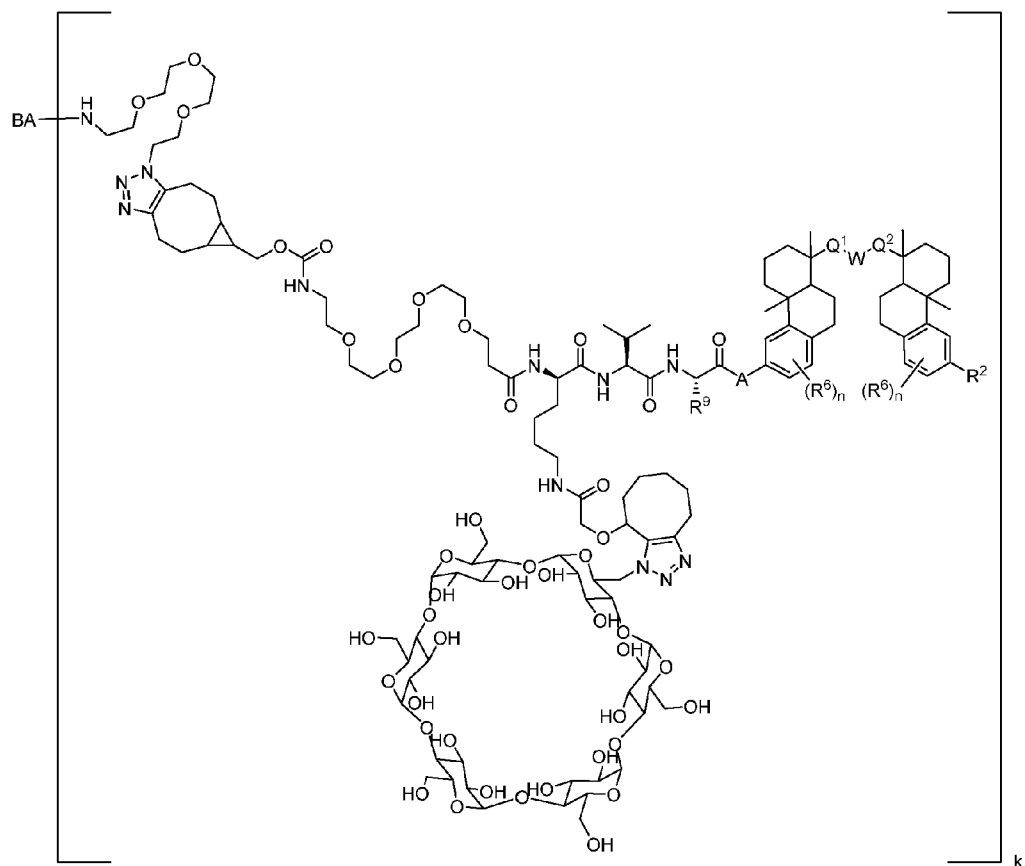
15

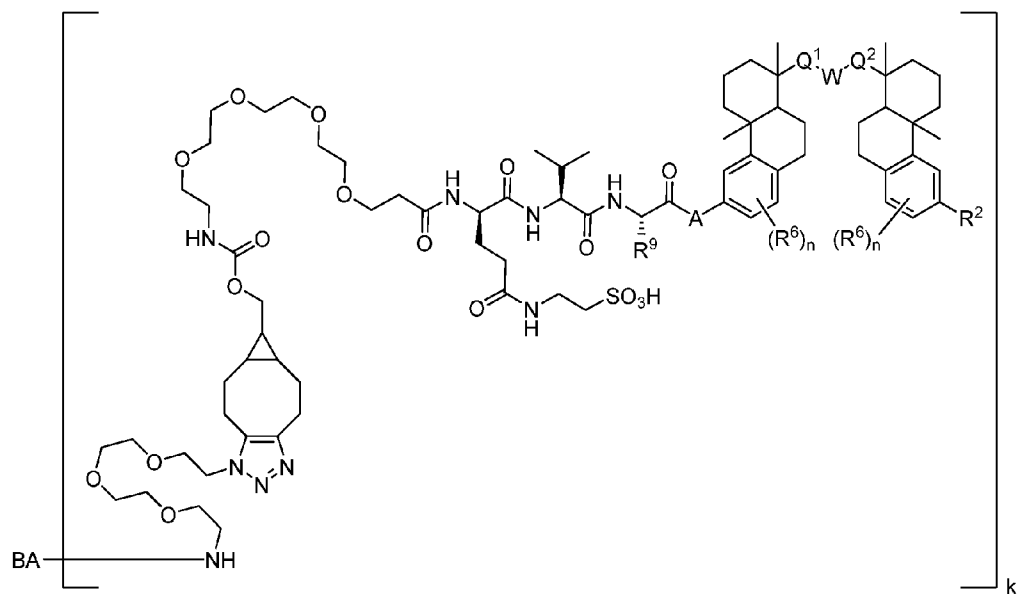
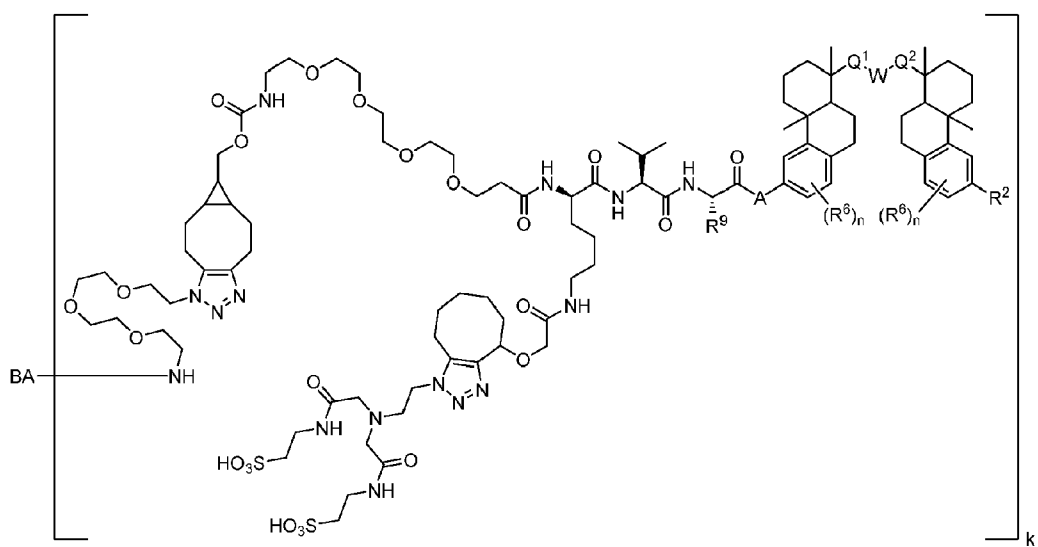
o

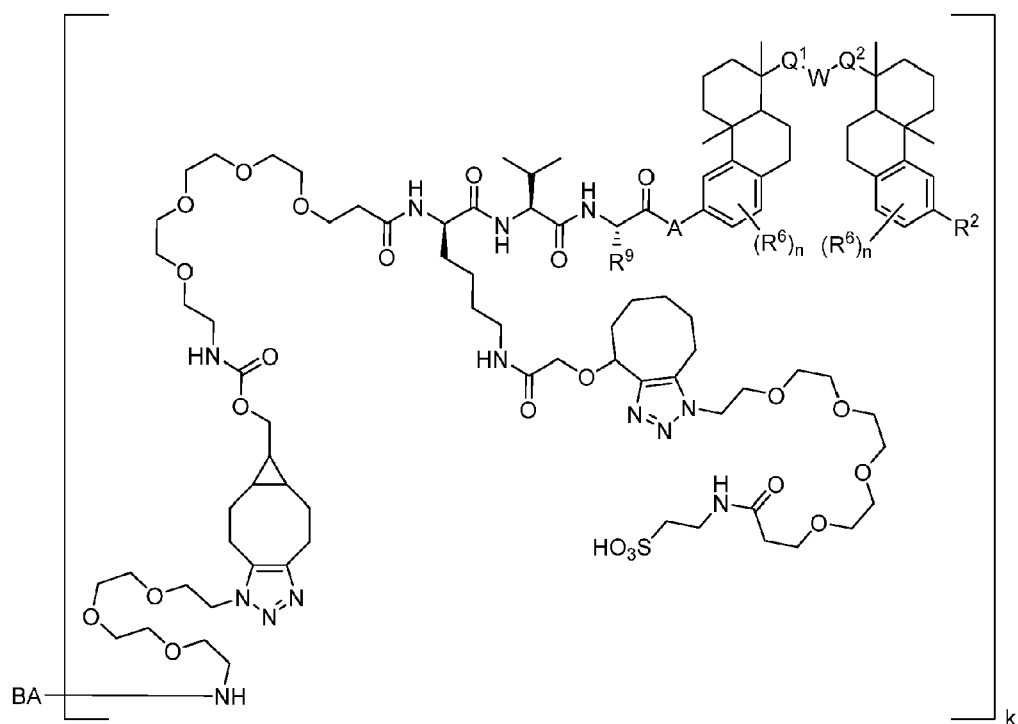


5 donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



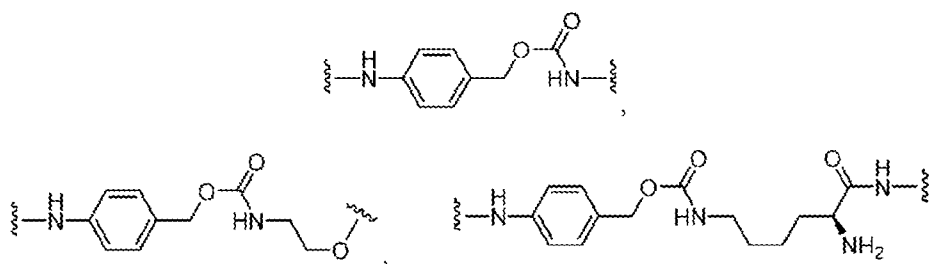




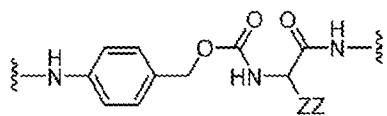
o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

- 5 **BA** es un agente de unión;
k es un número entero de 1 a 30;
Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y
 cada **A** es -O-, -N(H)-,

10

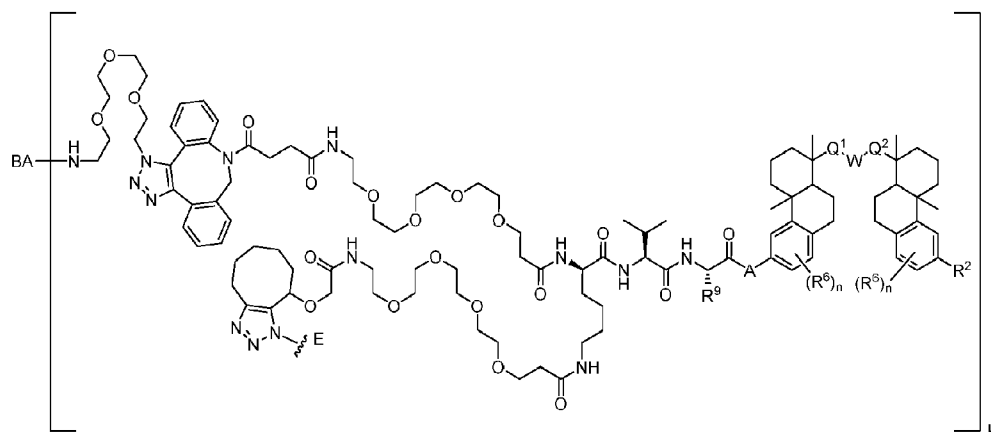


15 o



20 donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:

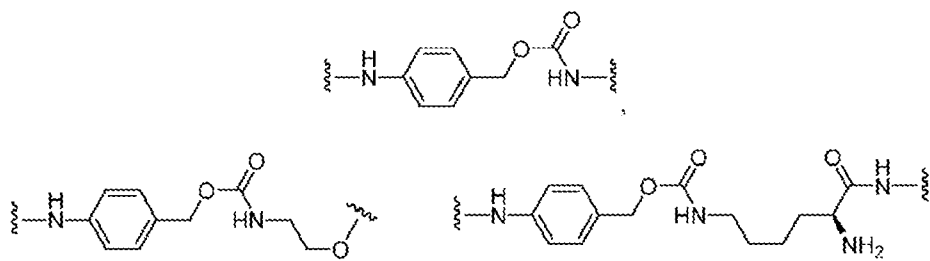


o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

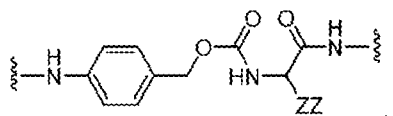
- 5 **BA** es un agente de unión;
k es un número entero de 1 a 30;
Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada uno



es un enlace con el grupo potenciador;
 cada **R⁹** es $-\text{CH}_3$ o $-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; y
 cada **A** es $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})-$,



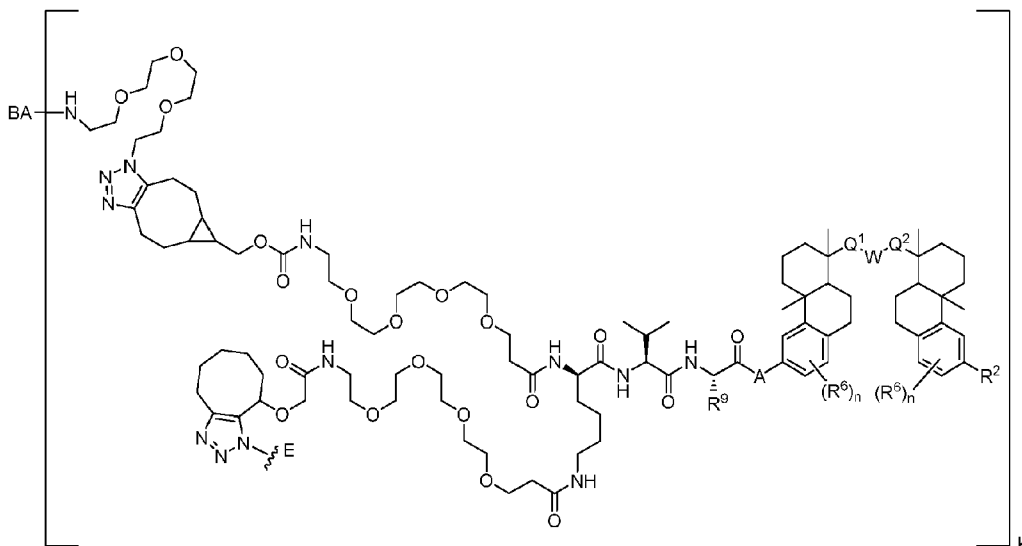
o



donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$ o $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{N}((\text{CH}_2)_{1-5}\text{C}(\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H})_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2)_{n2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{m2}\text{-C}(\text{O})\text{NH-}(\text{CH}_2)_{1-5}\text{SO}_3\text{H}$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra

realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

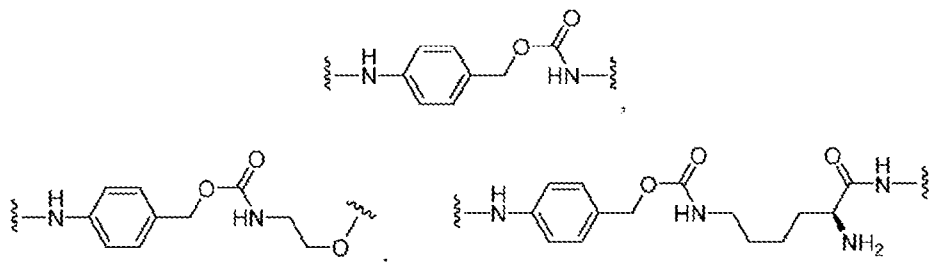
Q¹, **Q²**, **W**, **R¹**, **R²**, **R⁴**, **R⁵** y **R⁶** son como se describe en el contexto de la Fórmula I; cada uno



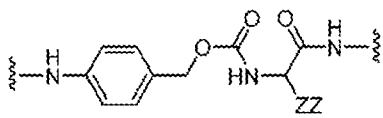
es un enlace con el grupo potenciador;

cada **R⁹** es $-CH_3$ o $-(CH_2)_3N(H)C(O)NH_2$; y

cada **A** es $-O-$, $-N(H)-$,



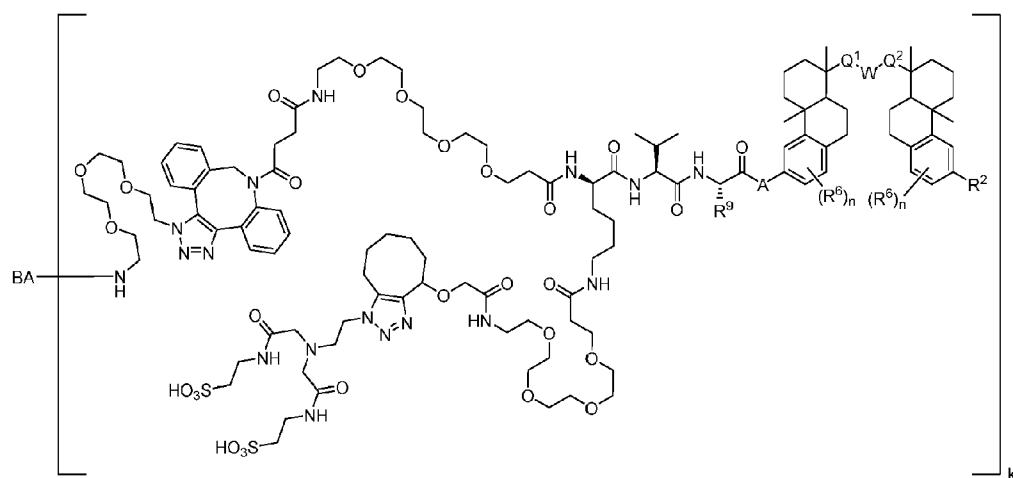
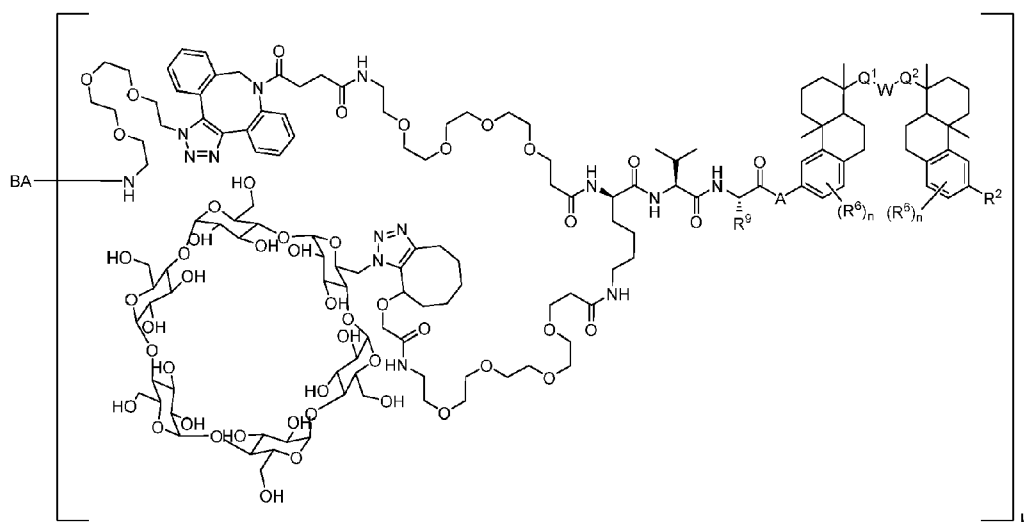
o

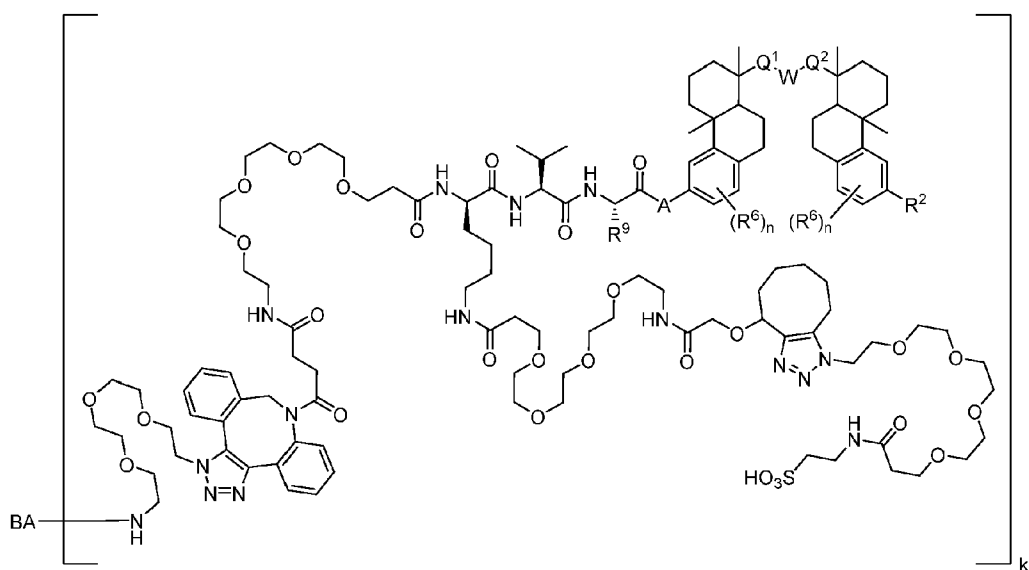


donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C_{1-6} . A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C_{1-6} . En determinadas realizaciones, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En determinadas realizaciones, el agente potenciador es ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el grupo potenciador es un alquilo, heteroalquilo, alquilenil o ácido heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser

cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En determinadas realizaciones, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En determinadas realizaciones, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$ o $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5, y **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización, el ácido alquil o alquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{1-5}SO_3H$. En otra realización, el ácido heteroalquilo o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)NH-(CH_2)_{1-5}SO_3H$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2)_{n2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **n2** es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra realización, el alquilo, heteroalquilo, el ácido alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es $-(CH_2CH_2O)_{m2}-C(O)N((CH_2)_{1-5}C(O)NH(CH_2)_{1-5}SO_3H)_2$, en donde **m2** es 1, 2, 3, 4 o 5.

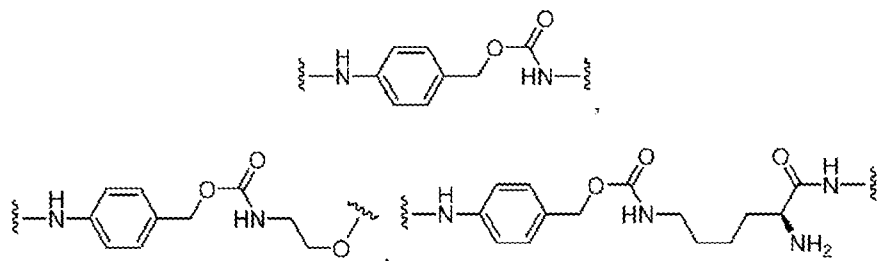
En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



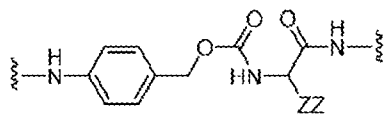


o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

- 5 **BA** es un agente de unión;
k es un número entero de 1 a 30;
Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y
 cada **A** es -O-, -N(H)-,

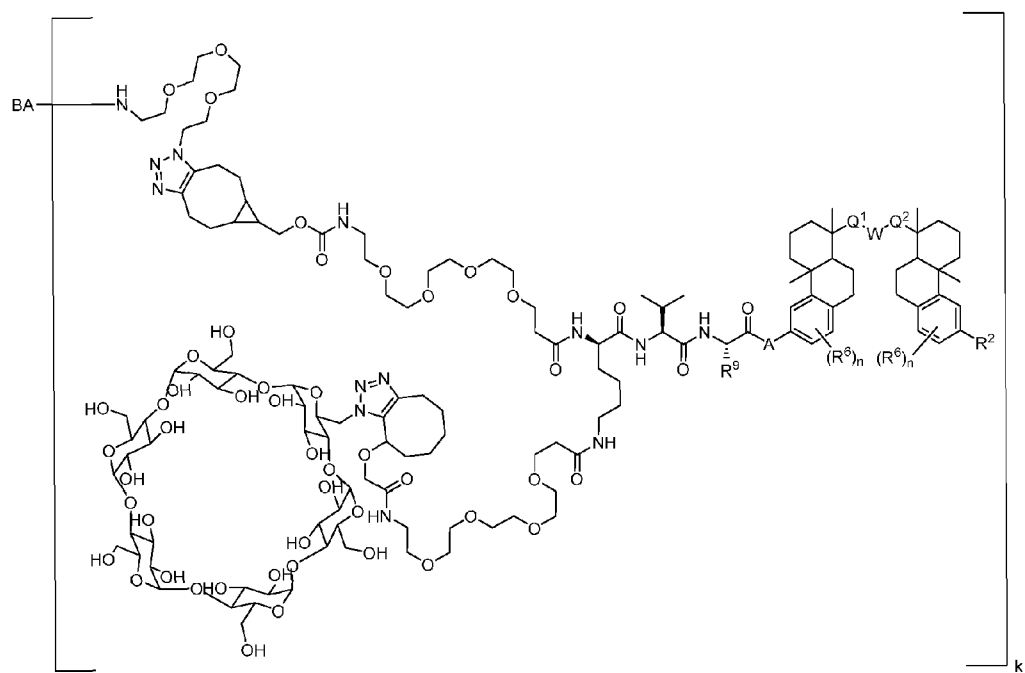


15 o

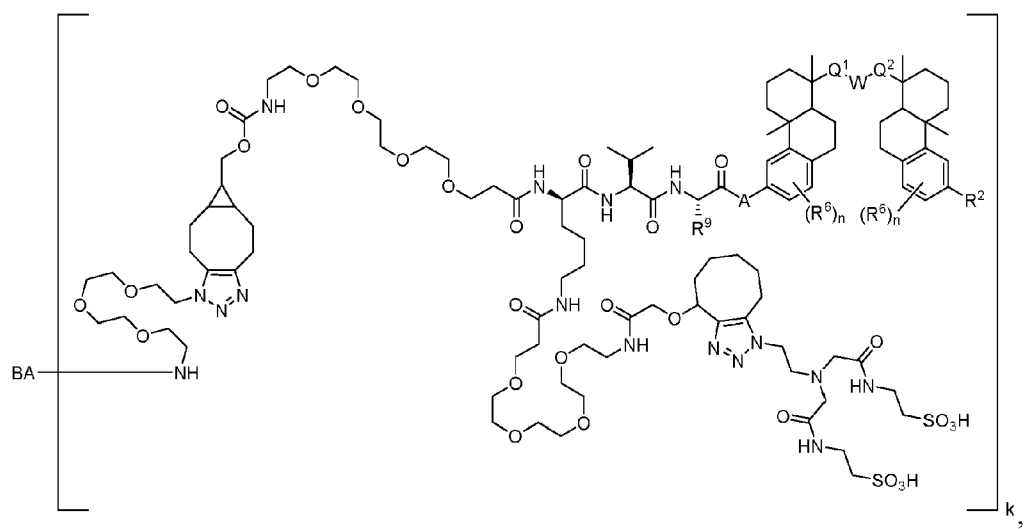


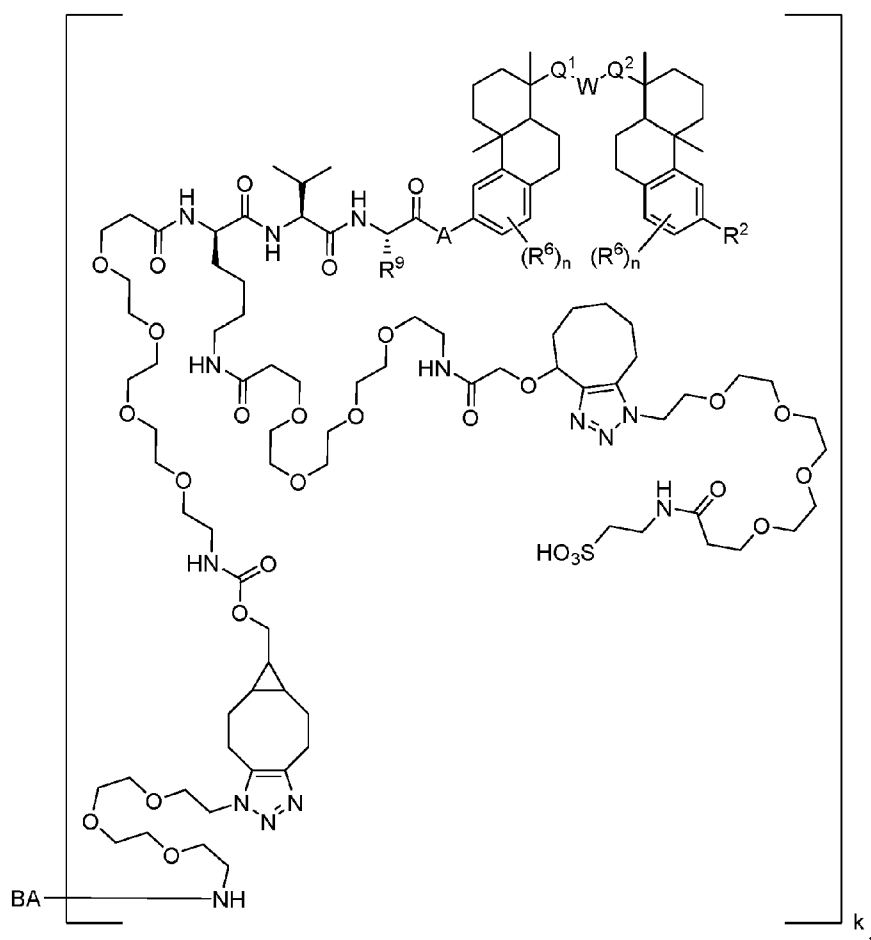
20 donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado es:



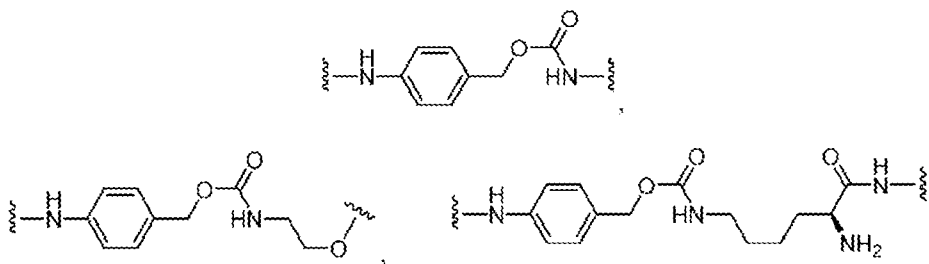
,



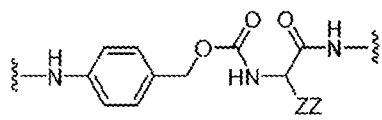


o una sal, solvato, o forma estereoisomérica del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

- 5 **BA** es un agente de unión;
k es un número entero de 1 a 30;
Q¹, Q², W, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ son como se describe en el contexto de la Fórmula I;
 cada **R⁹** es -CH₃ o -(CH₂)₃N(H)C(O)NH₂; y
 cada **A** es -O-, -N(H)-,



15 o



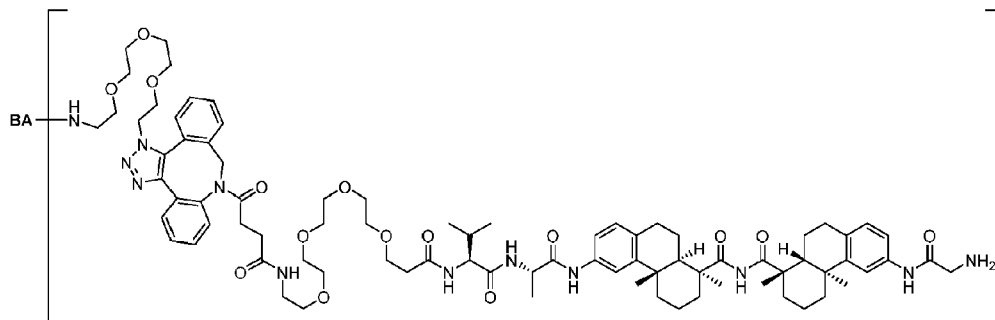
20 donde **ZZ** es hidrógeno, o una cadena lateral de un aminoácido como se analiza en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una realización, **ZZ** es alquilo C₁₋₆. A modo de ejemplo adicional, en una realización, **ZZ** es heteroalquilo C₁₋₆.

En cada una de las realizaciones anteriores, los conjugados se pueden preparar a partir de agentes de unión

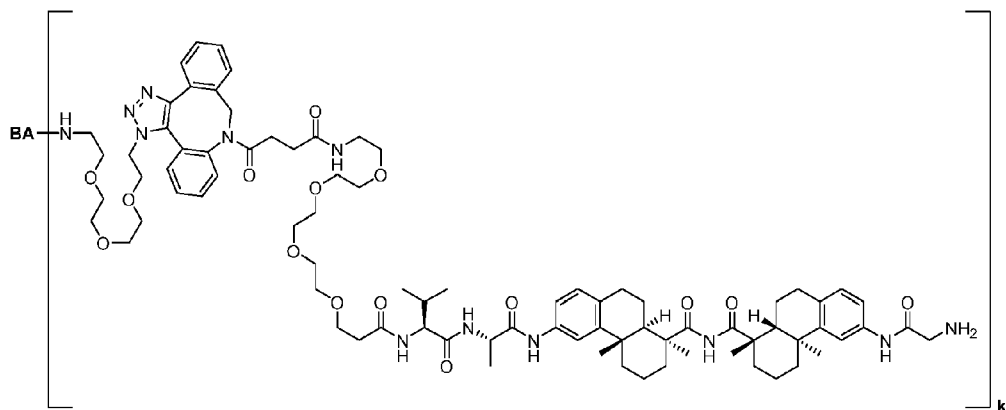
funcionalizados con grupos azida y restos de los mismos, como se describe en las secciones siguientes. Por comodidad, el resto de triazol en varias estructuras anteriores se representa entre paréntesis. Los expertos reconocerán que el triazol puede formarse a partir de un grupo azida de un agente de unión derivatizado con azida y un alquino del enlazador-carga activa LP.

5

En algunas realizaciones, el compuesto o conjugado se selecciona entre:

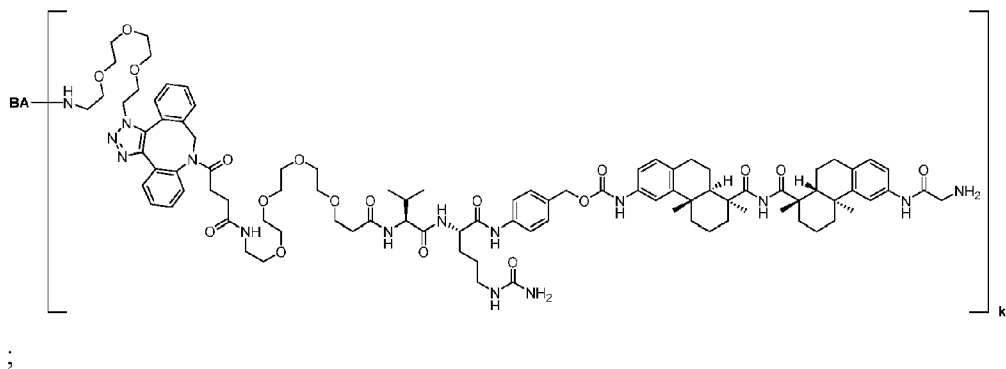


;

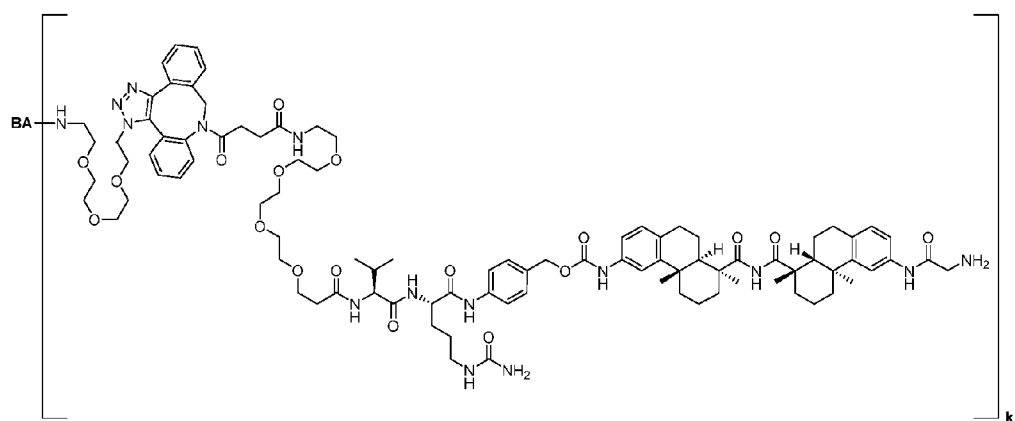


;

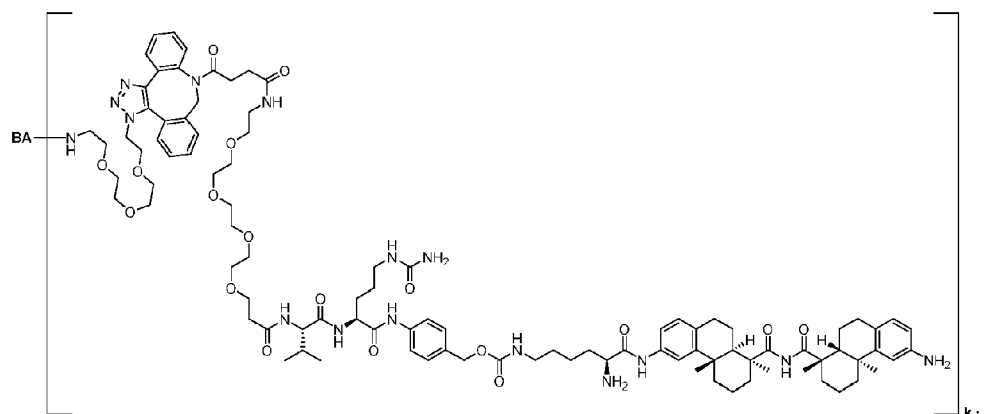
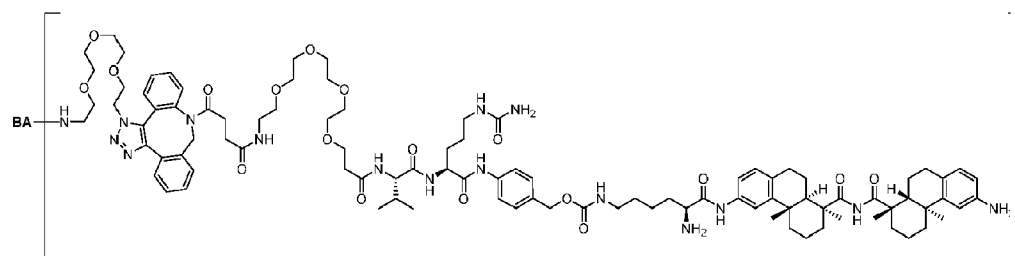
10



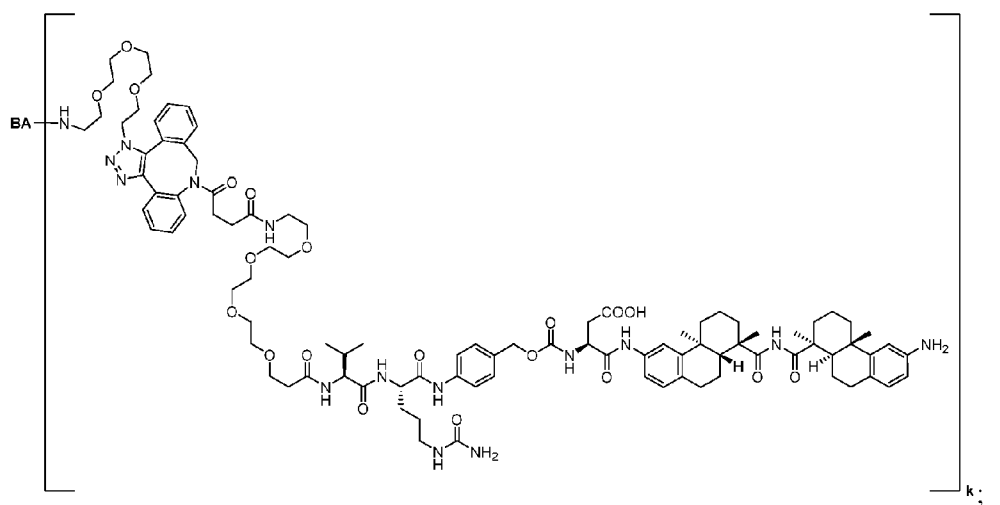
;

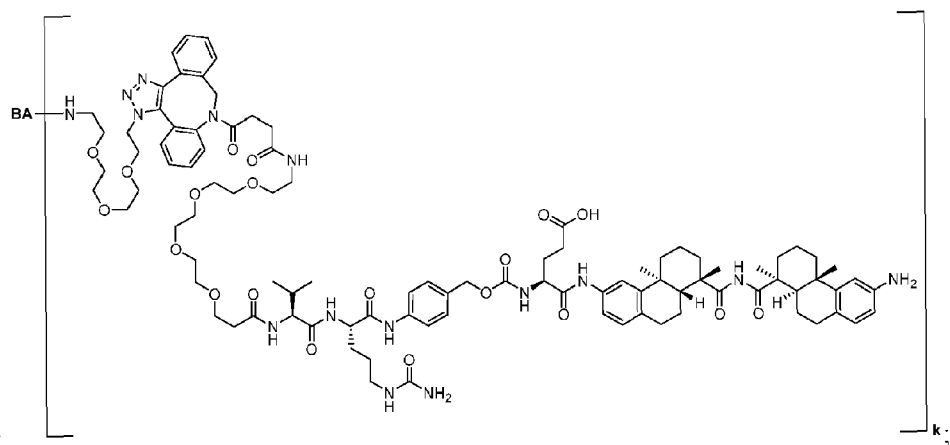
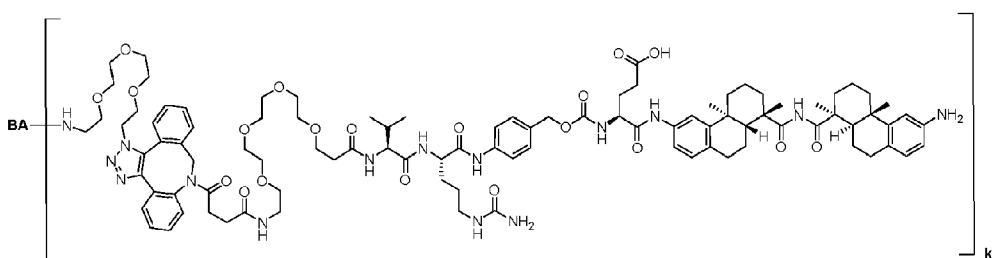
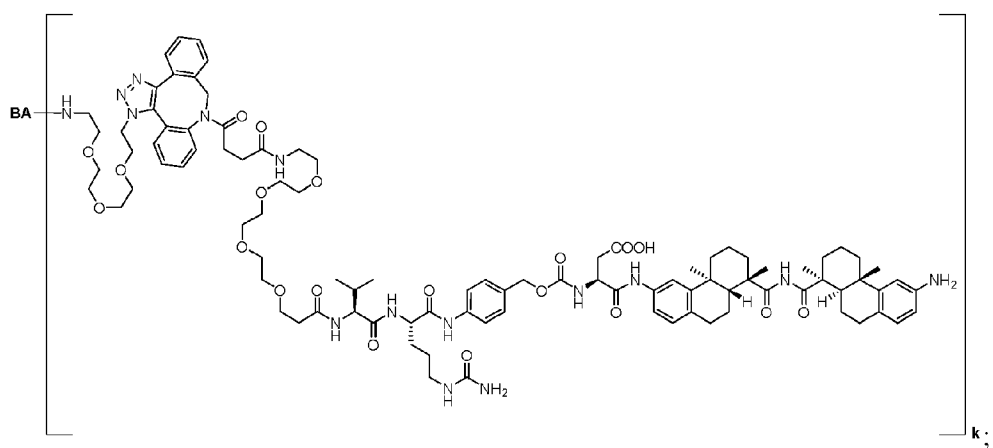


:

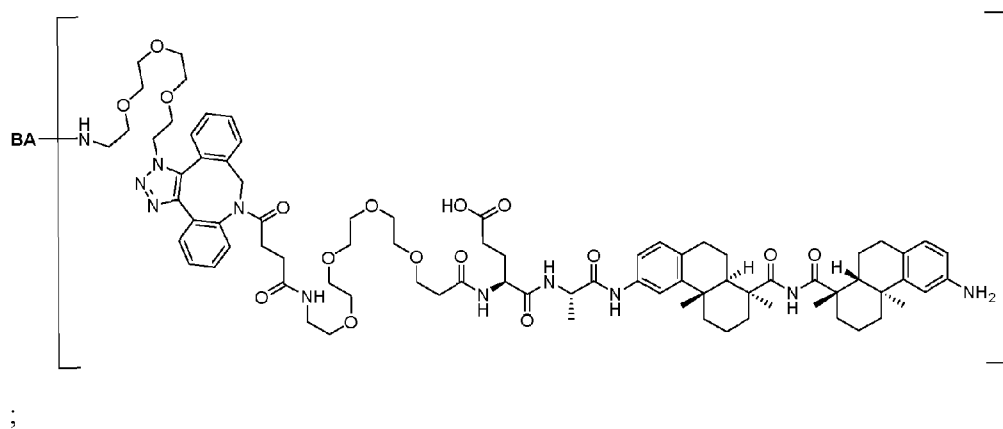


5

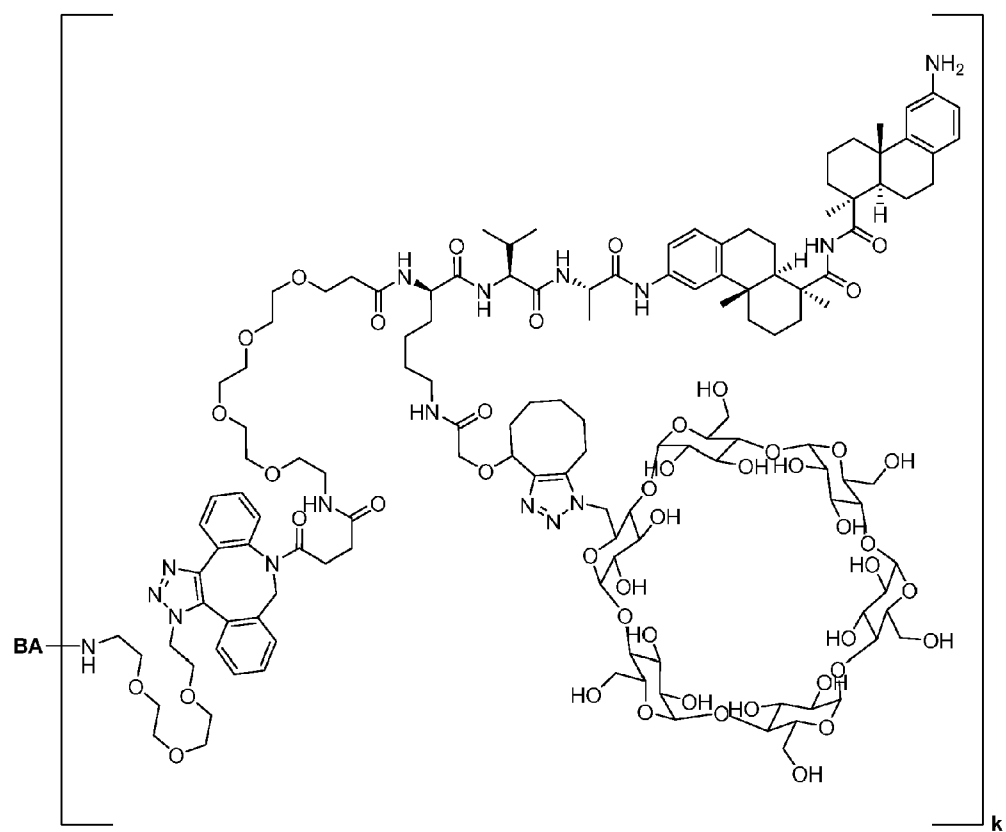
 $\frac{1}{2}$



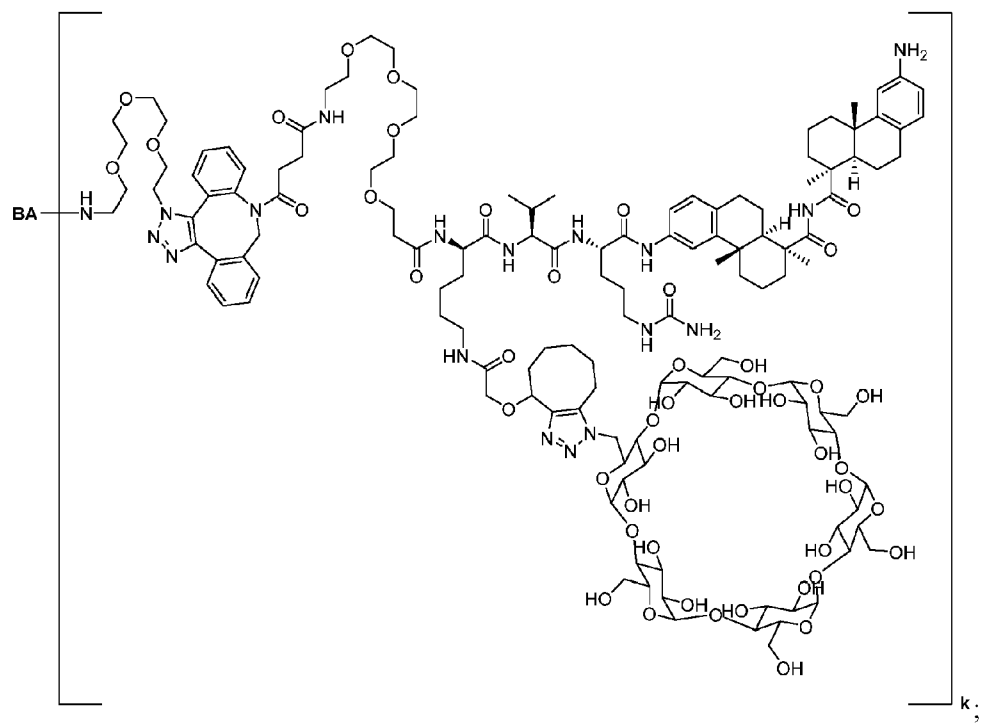
5

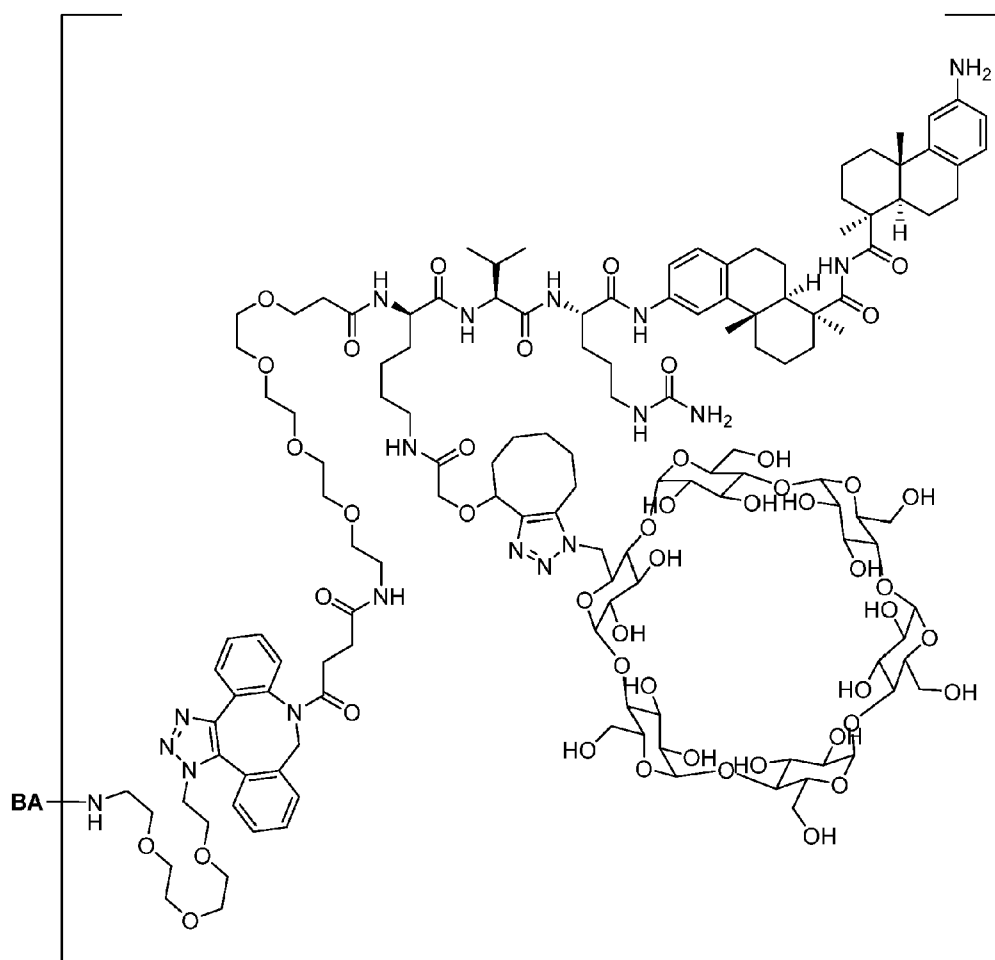




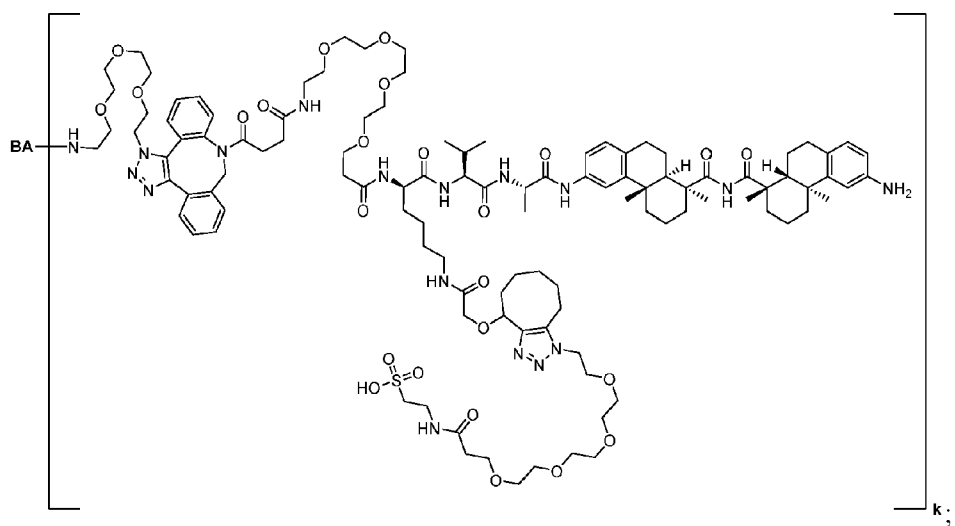


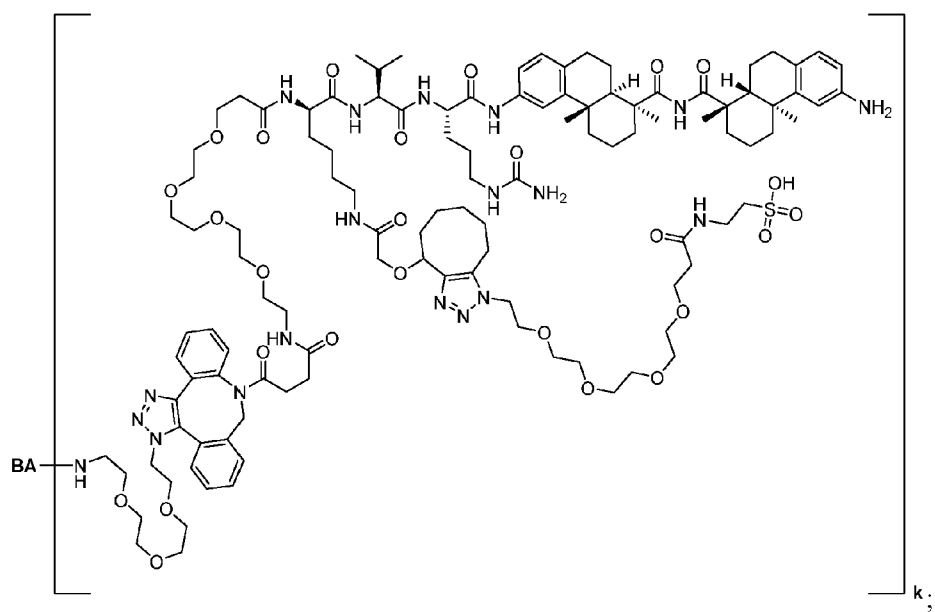
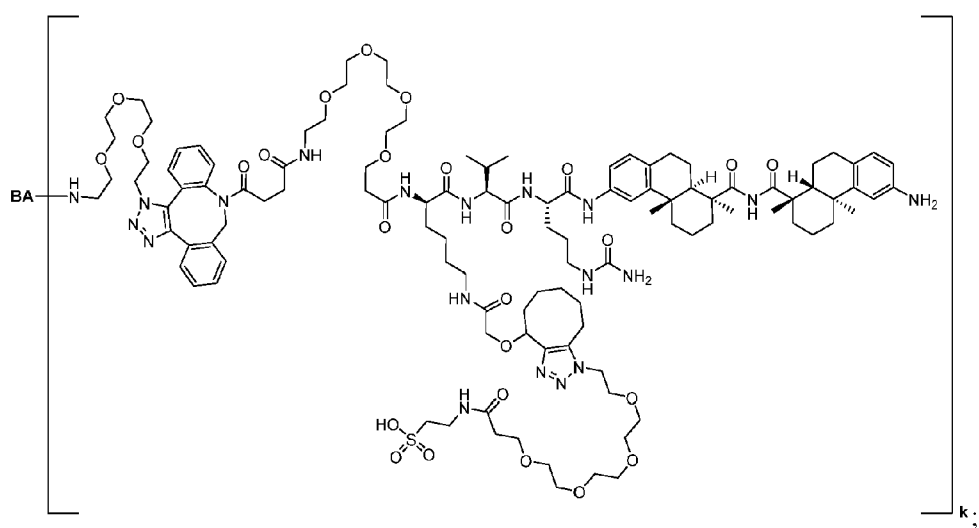
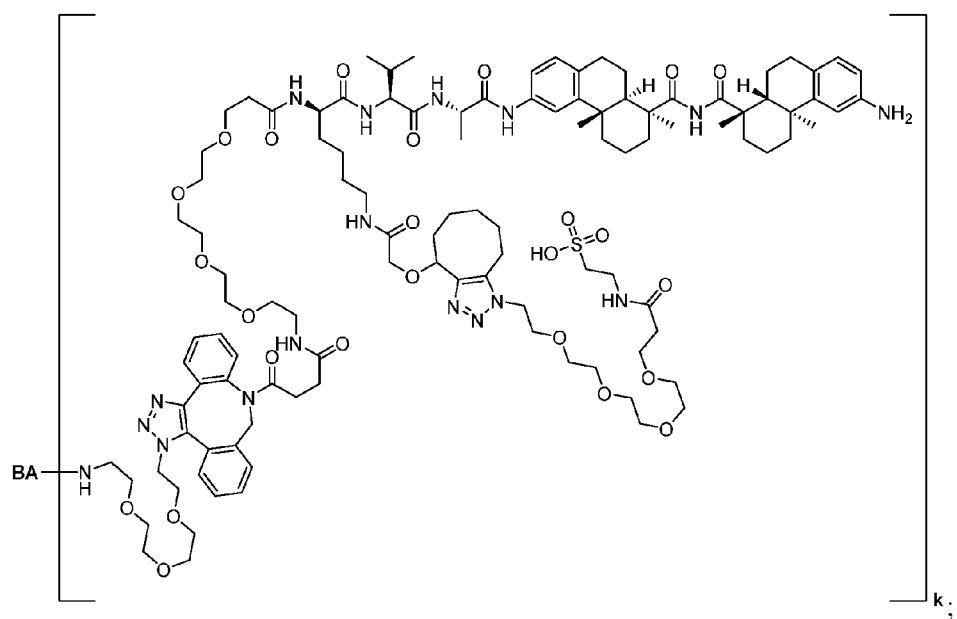
;

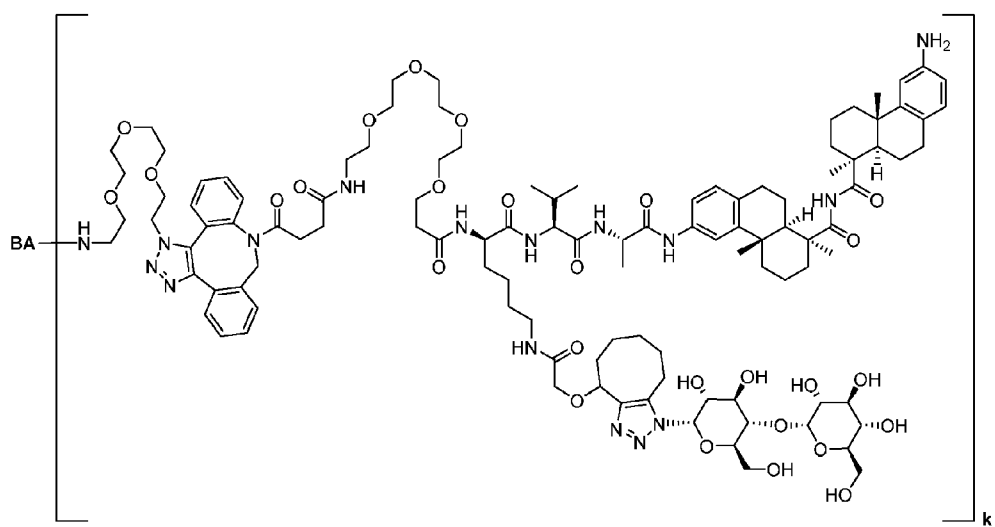




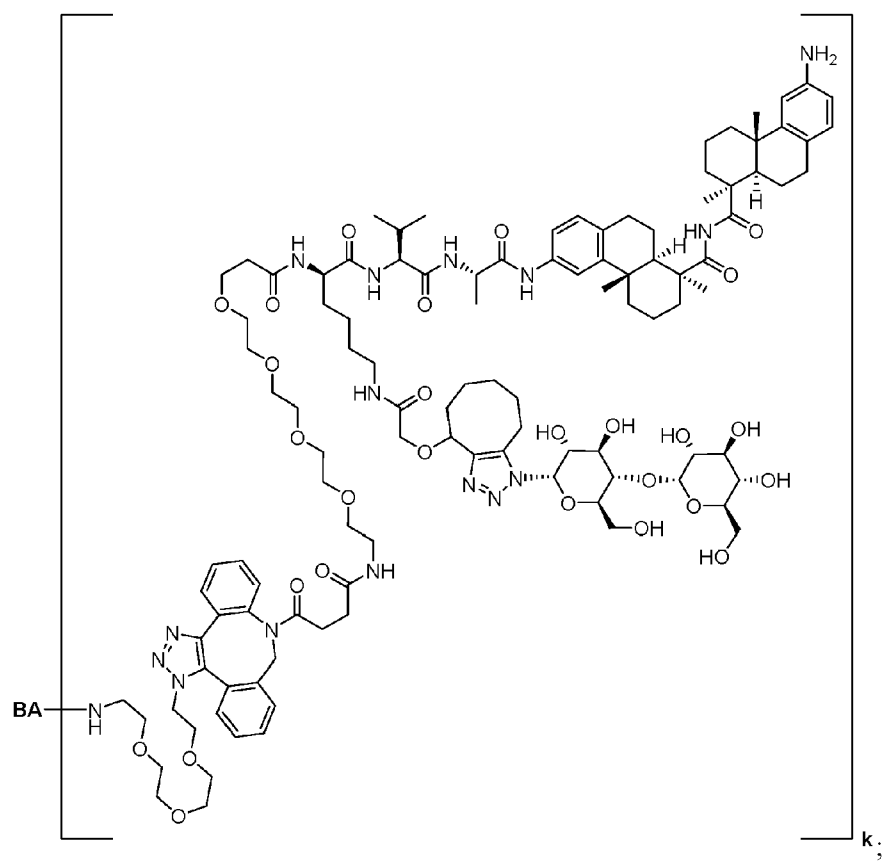
;

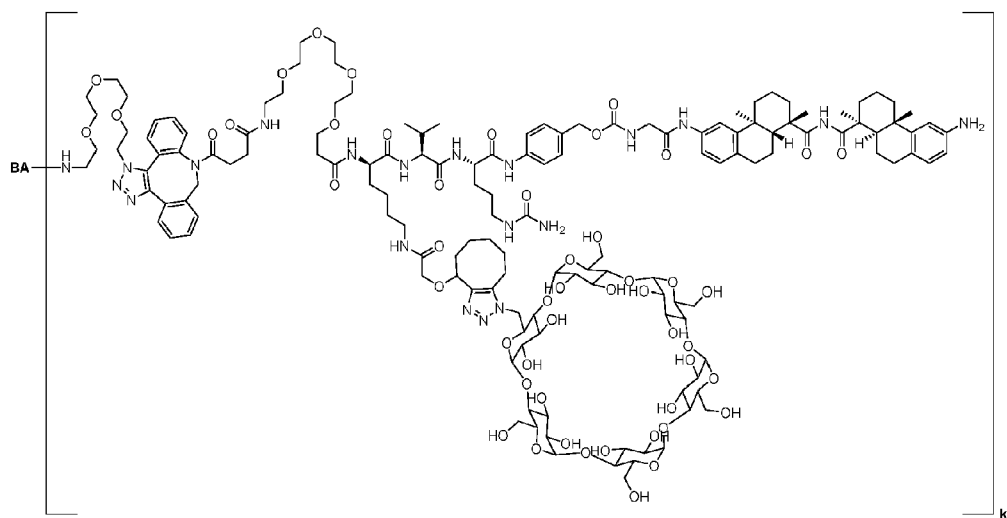




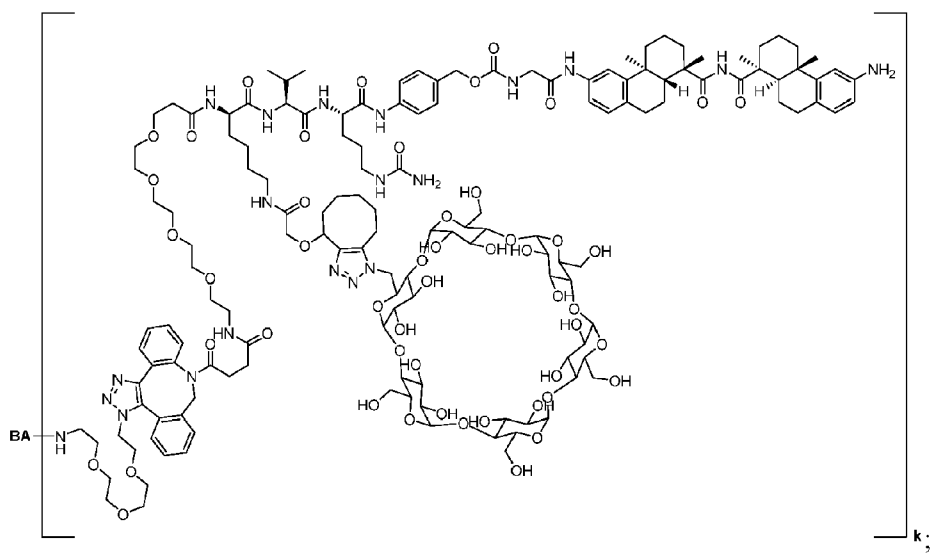


•

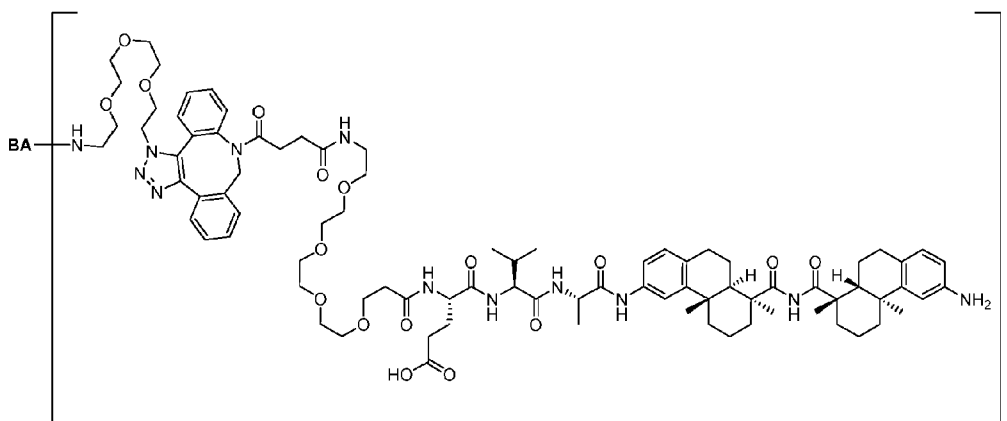




;

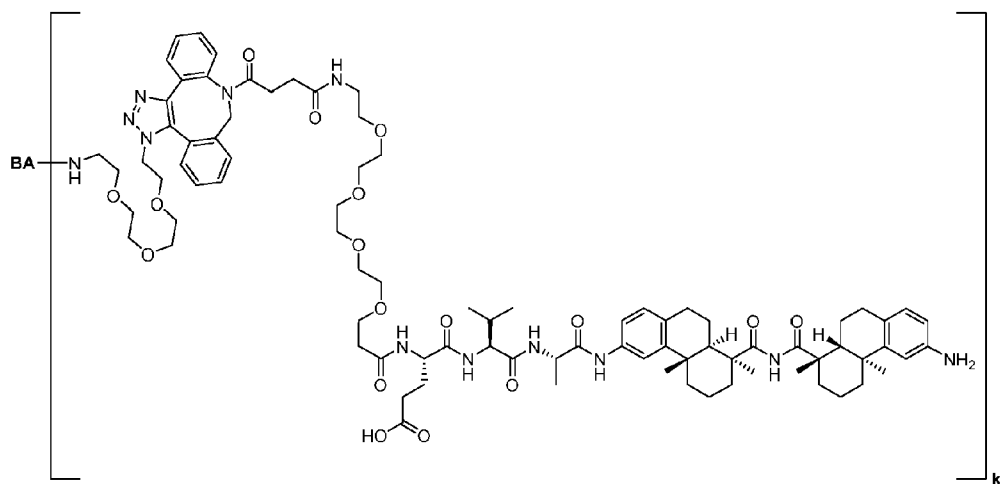


;

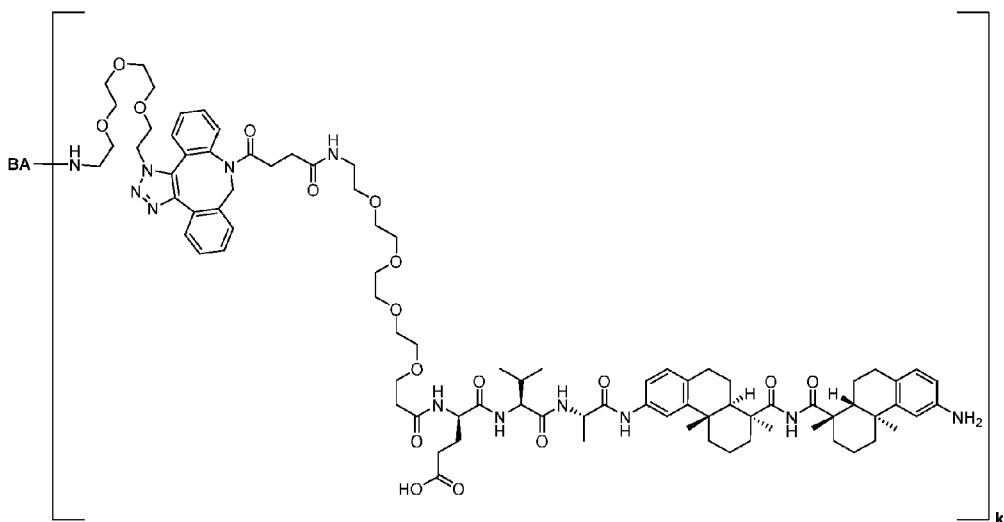


5

;

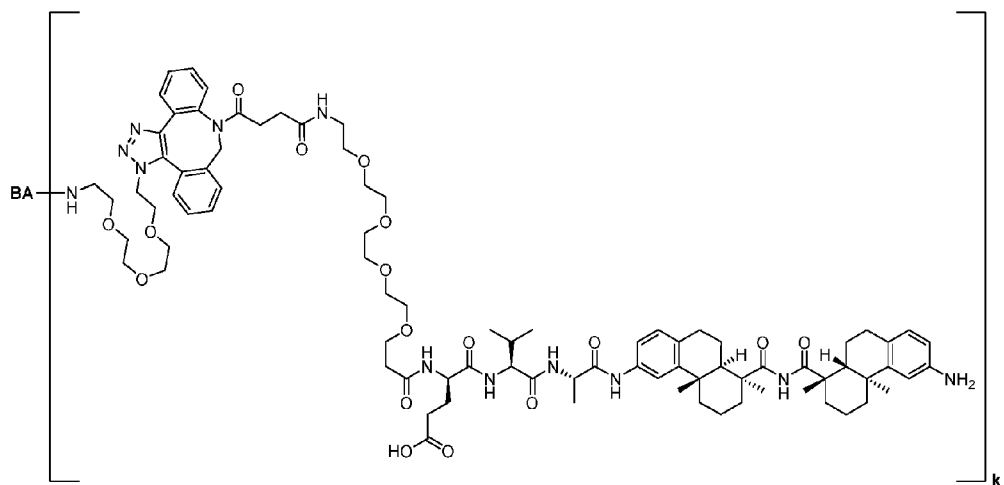


;

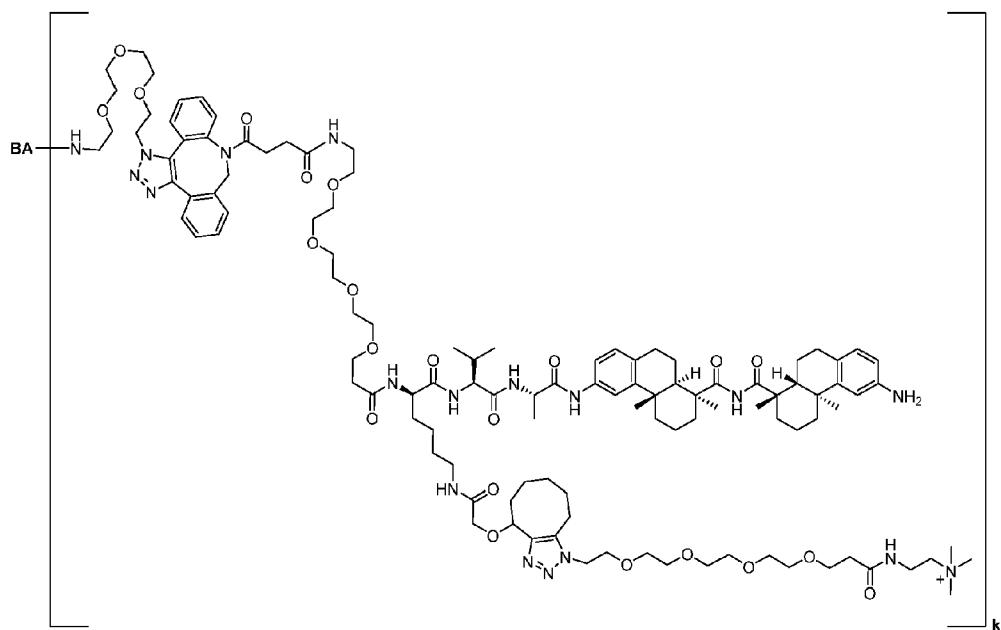


;

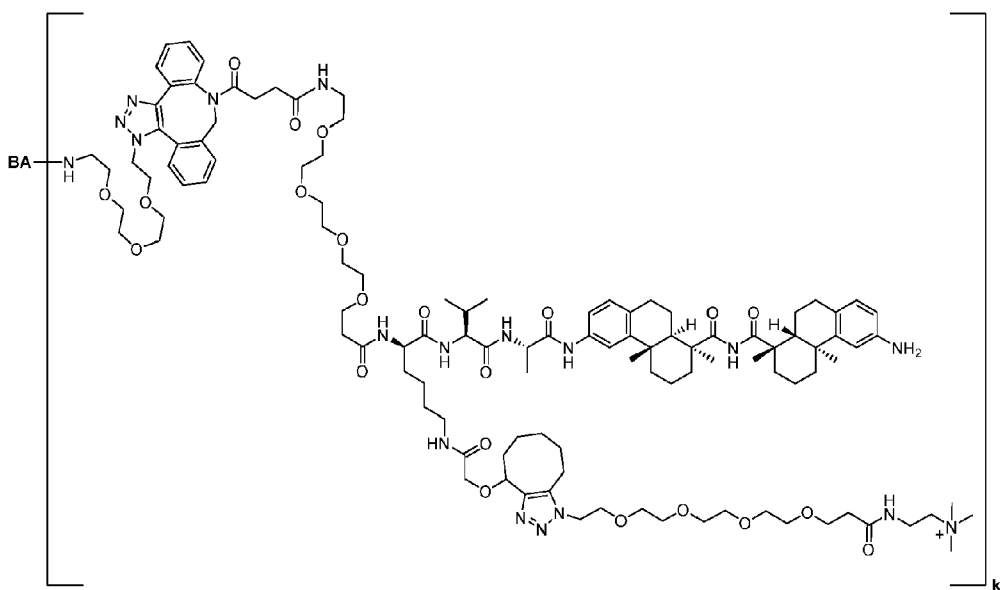
5 y



;



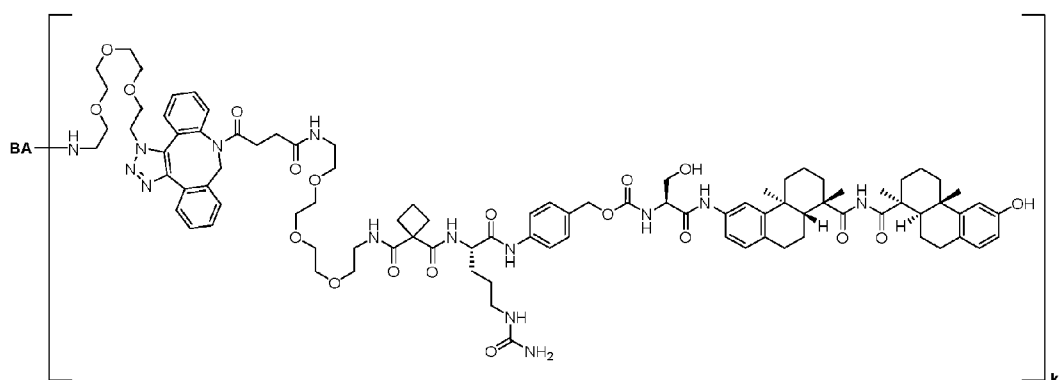
;



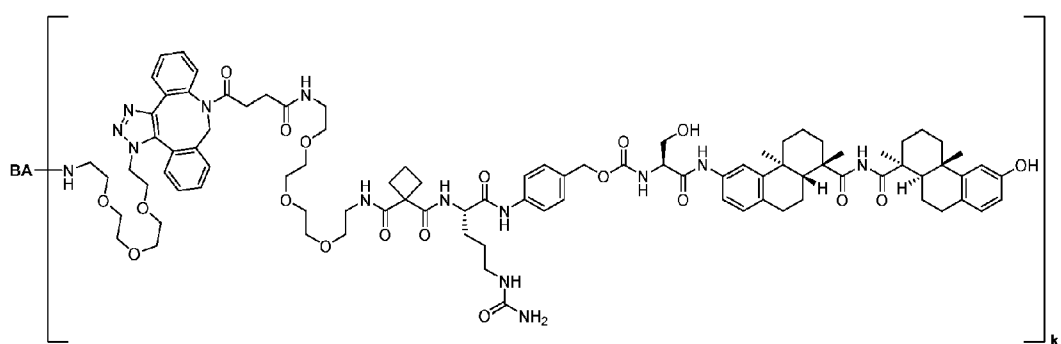
;

- 5 o un regioisómero, o una forma estereoisomérica del mismo. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es un agente de unión. En cualquier realización en este párrafo, **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es un número entero de 1 a 30. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** está en un intervalo de 1-2, 1-3, 2-3, 2-4, 3-4 o 1-4. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 1. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 2. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 3. En cualquiera de las realizaciones de este párrafo, **k** es 4.

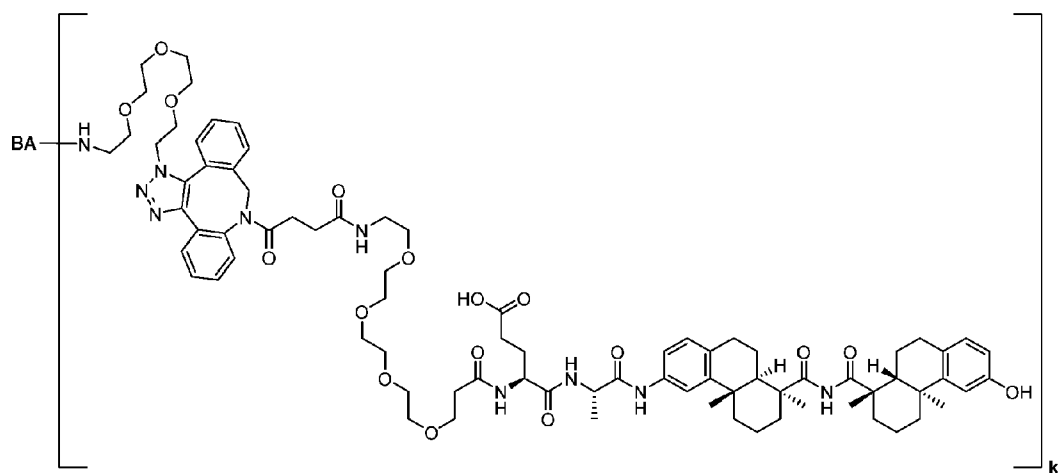
Además en el presente documento se proporcionan CAF seleccionados entre el grupo que consiste en:



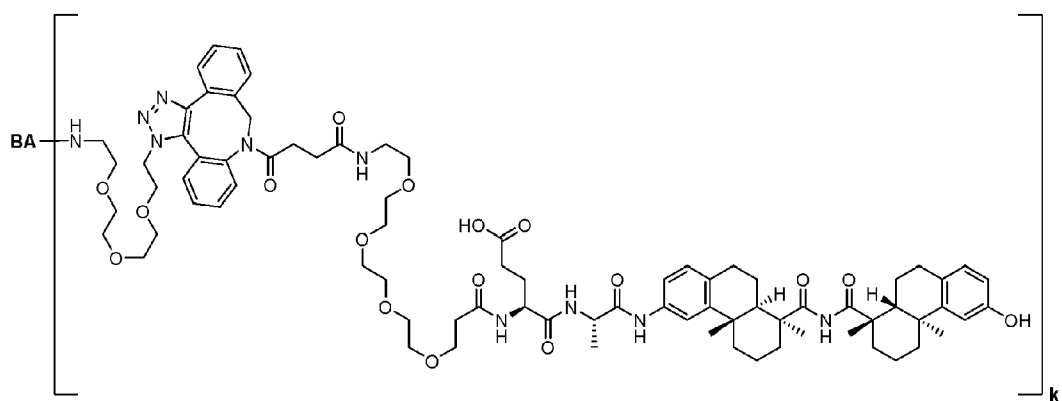
•



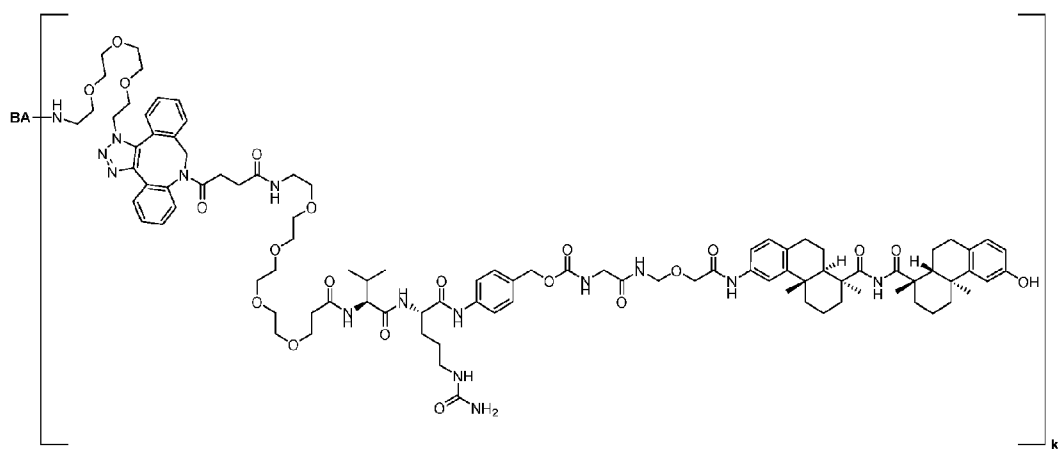
.



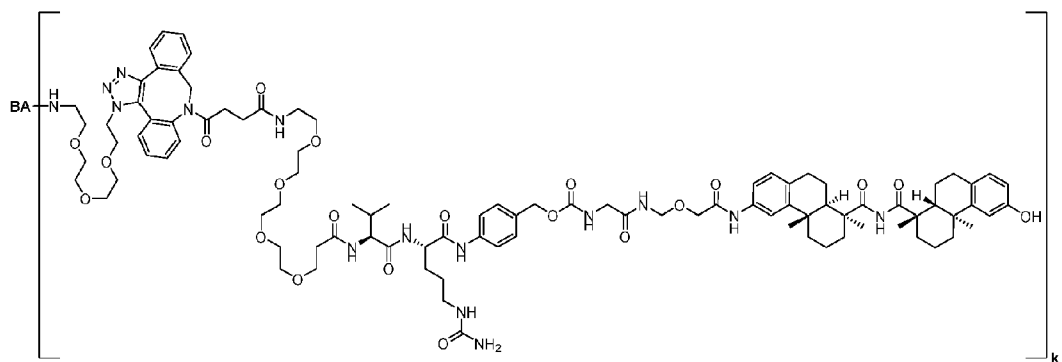
;



;

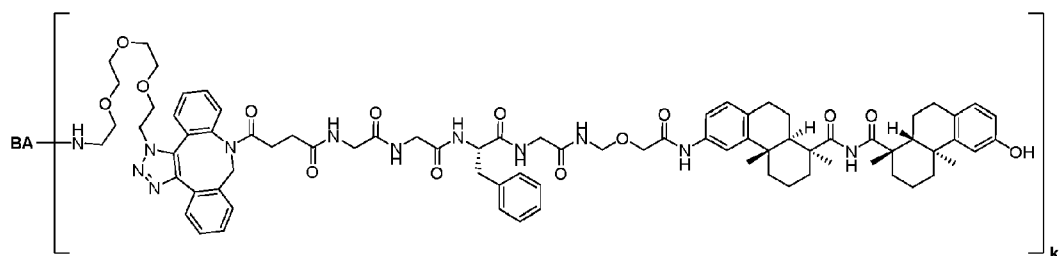


;

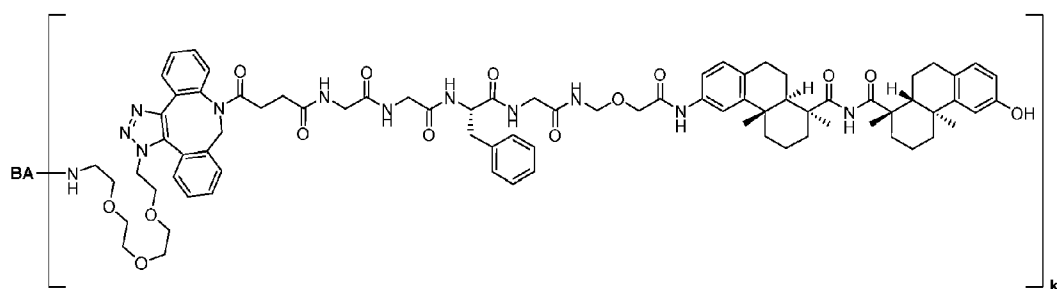


5

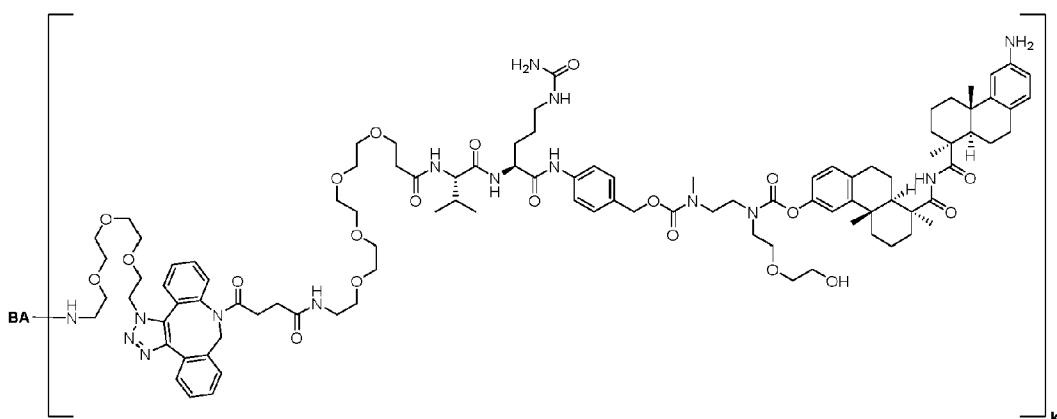
;



;

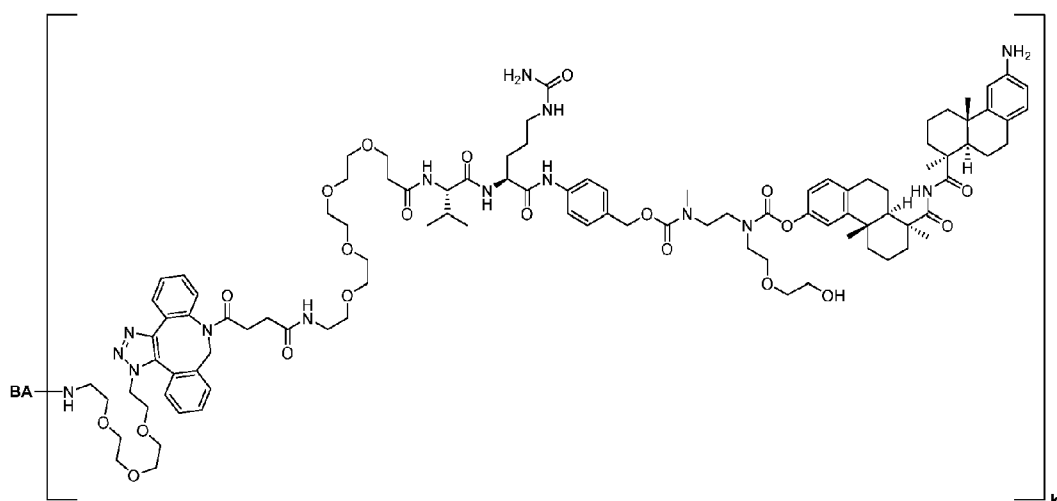


;



;

5 y



- En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a HER2. En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a PRLR. En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y la conjugación se realiza a través de al menos un resto Q295. En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y la conjugación se realiza a través de dos restos Q295. En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo anti-N297Q o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y la conjugación se realiza a través de al menos un resto Q295 y al menos un resto Q297. En cualquiera de las realizaciones del compuesto o conjugado proporcionadas, **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y la conjugación se realiza a través de dos restos Q295 y dos restos Q297.

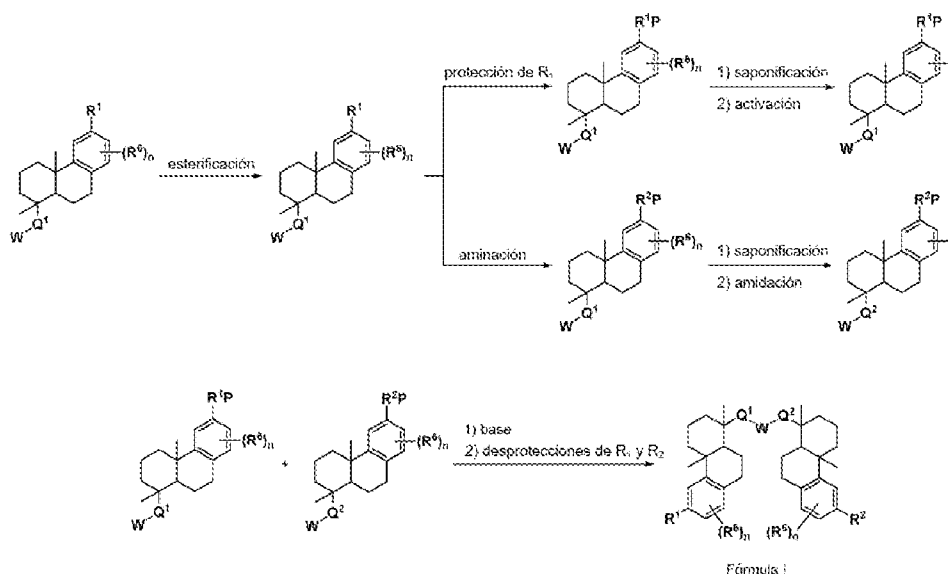
En realizaciones particulares, la numeración se realiza según el sistema de numeración EU.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, **BA** es un anticuerpo anti-MSR1. En determinadas realizaciones, **BA** es el anticuerpo anti-MSR1 H1H21234N descrito en los Ejemplos siguientes. En determinadas realizaciones, **BA** es el anticuerpo anti-MSR1 H1H21234N N297Q descrito en los ejemplos siguientes. En determinadas realizaciones, **BA** es un anticuerpo anti-MSR1 que comprende una HCVR según la SEQ ID NO:2 y una LCVR según la SEQ ID NO:10. En determinadas realizaciones, **BA** es un anticuerpo anti-MSR1 que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco o seis de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 según las SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 12, 14 y 16, respectivamente. En determinadas realizaciones, la HCVR está codificada por la SEQ ID NO:1. En determinadas realizaciones, la LCVR está codificada por la SEQ ID NO:9. En determinadas realizaciones, uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 están codificados por las secuencias de polinucleótidos SEQ ID NOS: 3, 5, 7, 11, 13 y 15, respectivamente. N297Q indica que uno o más restos 297 están mutados de asparagina (N) a glutamina (Q). Preferentemente, cada resto 297 está mutado a Q. En realizaciones preferidas, la numeración se realiza según el sistema de numeración EU. En determinadas realizaciones de este párrafo, k es de 1 a 4. En determinadas realizaciones, k es 1, 2, 3 o 4. En determinadas realizaciones, **BA** es un anticuerpo anti-MSR1 descrito en el documento WO 2019/217591, presentada el 8 de mayo de 2019.

Métodos de preparación de compuestos

Los compuestos proporcionados en el presente documento se pueden preparar, aislar u obtener por cualquier método evidente para los expertos en la técnica. Los métodos de preparación ilustrativos se describen con detalle en los ejemplos siguientes. En determinadas realizaciones, los compuestos proporcionados en el presente documento se pueden preparar según los esquemas A y B.

Esquema A. Esquema de preparación ilustrativo



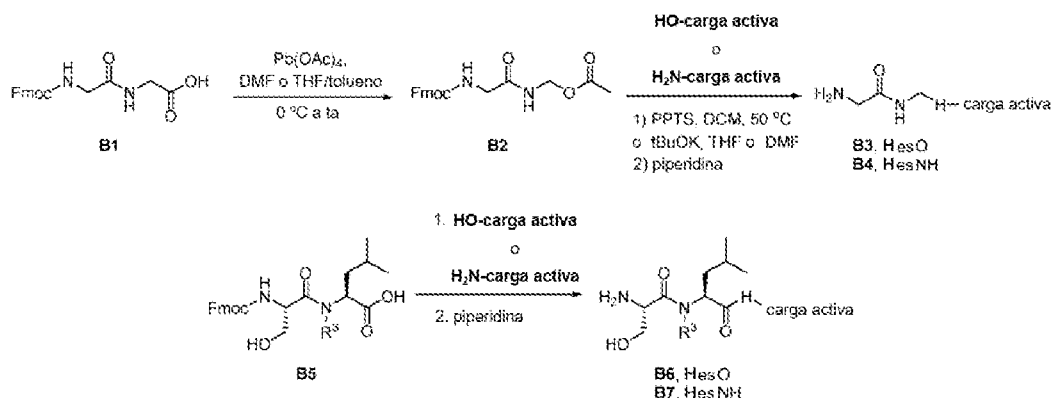
En el esquema de preparación ilustrativo A, Q^1 , Q^2 , W , R^1 , R^2 , R^6 y n se definen como se describe en el contexto de la Fórmula (I). La esterificación inicial es seguida por la protección de R^1 y/o aminación de R^1 para dar R^2P . Después de la protección de R^1 , una saponificación y activación de, por ejemplo, una fracción de ácido carboxílico proporciona un primer compañero de acoplamiento que tiene Q^1 . Después de la aminación, saponificación y amidación de, por ejemplo, una fracción de ácido carboxílico, proporciona un segundo compañero de acoplamiento que tiene Q^2 . Unificación de compañeros de acoplamiento que tienen Q^1 y Q^2 , respectivamente, seguido de desprotecciones de R^1 y R^2 , respectivamente, proporciona compuestos de Fórmula I. Los métodos de preparación ilustrativos se describen con detalle en los Ejemplos siguientes.

En determinadas realizaciones, se pueden incluir una o más etapas de protección o desprotección en los métodos de preparación descritos en el Esquema A, anteriormente.

El enlazador-cargas activas descritos en el presente documento se pueden sintetizar mediante una serie de etapas de acoplamiento. Por ejemplo, la carga activa en el lado derecho se puede unir a SP^2 mediante una o más reacciones de acoplamiento estándar. En realizaciones ventajosas, los compuestos de carga activa descritos en el presente documento incluyen grupos amino libres disponibles para acoplarse mediante condiciones de síntesis de amida, descritas en el presente documento. Los aminoácidos de $(AA)_{p1}$ se puede añadir mediante condiciones de síntesis de amida, por ejemplo, condiciones de síntesis de péptidos. El espaciador SP^2 se puede unir a $(AA)_{p1}$ mediante una o

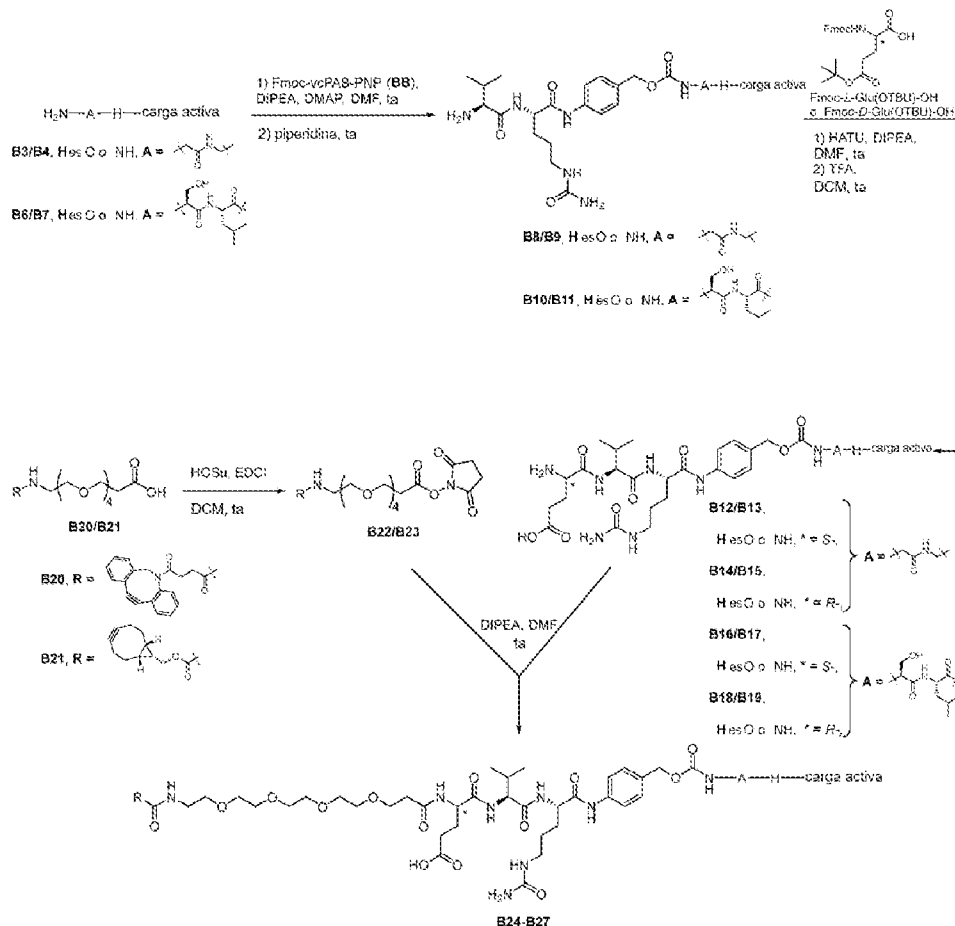
más reacciones de acoplamiento estándar. En realizaciones ventajosas, los grupos SP^2 y $(AA)_{p1}$ descritos en el presente documento incluyen grupos amino o carboxilo libres disponibles para acoplarse mediante condiciones de síntesis de amida, descritas en el presente documento. Cuando está presente, el espaciador SP^3 se puede unir a $(AA)_{p1}$ mediante una o más reacciones de acoplamiento estándar. En realizaciones ventajosas, los grupos SP^3 y $(AA)_{p1}$ descritos en el presente documento incluyen grupos amino o carboxilo libres disponibles para acoplarse mediante condiciones de síntesis de amida, descrito en el presente documento.

Esquema B1. Esquema de preparación ilustrativo



En el esquema de preparación B1 ilustrativo, **B1** se descarboxila oxidativamente para proporcionar **B2** y luego **B2** se sustituye con cargas activas (HO-carga activa o H₂N-carga activa) para dar **B3** o **B4**. Como alternativa, **B5** está esterificado o es un péptido acoplado con cargas activas (HO-carga activa o H₂N-carga activa, respectivamente) para dar **B6** o **B7**.

Esquema B2. Esquema de preparación ilustrativo



En un esquema de preparación ilustrativo **B2, B3, B4, B6 o B7** es un péptido acoplado con **BB** y luego se desprotege para dar **B8, B9, B10** o B11. **B8-B11** son péptidos acoplados independientemente con cualquiera de las antípodas del ácido glutámico protegido para dar **B12-B19**. Los carboxilatos de B20 o **B21** se activan para proporcionar B22 o B23, que luego se acoplan independientemente a uno de **B12-B19** para proporcionar **B24-B27**.

El espaciador **SP³**, cuando está presente, termina con un grupo reactivo **RG**. Este grupo reactivo se puede unir al agente potenciador **EG** mediante condiciones de acoplamiento consideradas adecuadas para los expertos en la técnica. En determinadas realizaciones, el espaciador **SP³** está unido al agente potenciador **EG** a través de condiciones de síntesis de amida. En determinadas realizaciones, el espaciador **SP³** está unido al agente potenciador **EG** mediante química de clic. En estas realizaciones, el espaciador **SP³** termina con un grupo reactivo adecuado para una reacción de clic, por ejemplo, una azida o un alquino, y un agente potenciador **EG** comprende un grupo reactivo complementario adecuado para una reacción de clic, por ejemplo un alquino o una azida. En las realizaciones preferidas, el **SP³** termina con un alquino tensionado y **EG** comprende una azida; o **SP³** termina en un ácido carboxílico y **EG** comprende una amina. Cuando **EG** es una fracción de ciclodextrina, la ciclodextrina puede comprender una azida. Las azidociclodextrinas pueden prepararse sintéticamente u obtenerse de fuentes comerciales. Cuando **EG** es una fracción de ácido sulfónico, uno de los extremos del **EG** terminan con uno o más grupos de ácido sulfónico y el otro extremo termina con una amina primaria o secundaria.

Los conjugados descritos en el presente documento se pueden sintetizar acoplando el enlazador-cargas activas descritos en el presente documento con un agente de unión, por ejemplo, un anticuerpo en condiciones de conjugación estándar (véase, por ejemplo, Doronina *et al.* Nature Biotechnology 2003, 21, 7, 778). Cuando el agente de unión es un anticuerpo, el anticuerpo puede acoplarse a un enlazador-carga activa mediante uno o más restos de cisteína o lisina del anticuerpo. El enlazador-cargas activas se pueden acoplar a restos de cisteína, por ejemplo, sometiendo el anticuerpo a un agente reductor, por ejemplo, ditiotritol, para escindir los enlaces disulfuro del anticuerpo, purificar el anticuerpo reducido, por ejemplo, mediante filtración en gel, y posteriormente tratar el anticuerpo con un enlazador-carga activa que contiene una fracción reactiva adecuada, por ejemplo, un grupo maleimido. Los disolventes adecuados incluyen, pero sin limitación, agua, DMA, DMF y DMSO. El enlazador-cargas activas que contienen un grupo reactivo, por ejemplo, un grupo éster activado o haluro de ácido, se puede acoplar a restos de lisina del anticuerpo. Los disolventes adecuados incluyen, pero sin limitación, agua, DMA, DMF y DMSO. Los conjugados se pueden purificar usando técnicas de proteínas conocidas, incluidos, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño, diálisis y ultrafiltración/diafiltración.

Los agentes de unión, por ejemplo, anticuerpos, también se puede conjugar mediante reacciones químicas de clic. En algunas realizaciones de dichas reacciones de química de clic, el enlazador-carga activa incluye un grupo reactivo, por ejemplo un alquino, que es capaz de sufrir una reacción de 1,3-cicloadición con una azida. Estos grupos reactivos adecuados se han descrito anteriormente. El anticuerpo incluye uno o más grupos azida. Dichos anticuerpos incluyen anticuerpos funcionalizados con, por ejemplo, grupos azido-polietilenglicol. En determinadas realizaciones, dicho anticuerpo funcionalizado se obtiene tratando un anticuerpo que tiene al menos un resto de glutamina, por ejemplo, Gln295 o Gln55 de cadena pesada, con un compuesto de amina primaria en presencia de la enzima transglutaminasa. En determinadas realizaciones, dicho anticuerpo funcionalizado se obtiene tratando un anticuerpo que tiene al menos un resto de glutamina, por ejemplo, Gln297 de la cadena pesada, con un compuesto de amina primaria en presencia de la enzima transglutaminasa. Dichos anticuerpos incluyen mutantes Asn297Gln (N297Q). En determinadas realizaciones, dicho anticuerpo funcionalizado se obtiene tratando un anticuerpo que tiene al menos dos restos de glutamina, por ejemplo, Gln295 de cadena pesada y Gln297 de cadena pesada, con un compuesto de amina primaria en presencia de la enzima transglutaminasa. Dichos anticuerpos incluyen mutantes Asn297Gln (N297Q). En determinadas realizaciones, el anticuerpo tiene dos cadenas pesadas como se describe en este párrafo para un total de dos o un total de cuatro restos de glutamina.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo comprende dos restos de glutamina, uno en cada cadena pesada. En realizaciones particulares, el anticuerpo comprende un resto Q295 en cada cadena pesada. En realizaciones adicionales, el anticuerpo comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más restos de glutamina. Estos restos de glutamina pueden estar en cadenas pesadas, cadenas ligeras o tanto en cadenas pesadas como en cadenas ligeras. Los restos de glutamina ilustrativos incluyen Q55. Estos restos de glutamina pueden ser restos de tipo salvaje o restos modificados. Los anticuerpos se pueden preparar según técnicas estándar.

Los expertos reconocerán que los anticuerpos a menudo están glicosilados en el resto N297, cerca del resto Q295 en una secuencia de cadena pesada. La glicosilación en el resto N297 puede interferir con una transglutaminasa en el resto Q295 (Dennler *et al.*, anteriormente). En consecuencia, en realizaciones ventajosas, el anticuerpo no está glicosilado. En determinadas realizaciones, el anticuerpo está desglicosilado o aglicosilado. En realizaciones particulares, una cadena pesada de anticuerpo tiene una mutación N297. Como alternativa a lo indicado, el anticuerpo está mutado para que ya no tenga un resto de asparagina en la posición 297. En realizaciones particulares, una cadena pesada de anticuerpo tiene una mutación N297Q. Un anticuerpo de este tipo puede prepararse mediante mutagénesis dirigida al sitio para eliminar o desactivar una secuencia de glicosilación o mediante mutagénesis dirigida al sitio para insertar un resto de glutamina en un sitio sin dar como resultado una función o unión del anticuerpo desactivada. En algunas realizaciones, un anticuerpo que tiene un resto Q295 y/o una mutación N297Q contiene uno

o más restos de glutamina naturales adicionales en sus regiones variables, que puede ser accesible a la transglutaminasa y, por lo tanto, capaz de conjugarse con un enlazador o un enlazador-carga activa. Se puede encontrar un resto de glutamina natural ilustrativo, por ejemplo, en Q55 de la cadena ligera. En tales casos, el anticuerpo conjugado mediante transglutaminasa puede tener un valor de relación fármaco:anticuerpo (DAR) superior al esperado (por ejemplo, un DAR superior a 4). Cualquiera de estos anticuerpos puede aislarse de fuentes naturales o artificiales.

A continuación, el anticuerpo sin interferir en la glicosilación se hace reaccionar con un compuesto de amina primaria. En determinadas realizaciones, un anticuerpo aglicosilado se hace reaccionar con un compuesto de amina primaria para producir un anticuerpo modificado con glutaminilo. En determinadas realizaciones, un anticuerpo desglicosilado se hace reaccionar con un compuesto de amina primaria para producir un anticuerpo modificado con glutaminilo.

La secuencia de aminoácidos de un anticuerpo se puede numerar usando cualquier esquema de numeración conocido, incluyendo los descritos por Kabat *et al.*, (esquema de numeración "Kabat"); Al-Lazikani *et al.*, 1997, J. Mol. Biol., 273:927-948 (esquema de numeración de "Chothia"); MacCallum *et al.*, 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (esquema de numeración de "Contact"); Lefranc *et al.*, Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (esquema de numeración de "IMGT"); y Honegge y Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70 (esquema de numeración de "AHO"). Salvo que se especifique lo contrario, el esquema de numeración utilizado en el presente documento es el esquema de numeración de Kabat. Sin embargo, la selección de un esquema de numeración no pretende implicar diferencias en secuencias cuando no existen, y un experto en la técnica puede confirmar fácilmente una posición de secuencia examinando la secuencia de aminoácidos de uno o más anticuerpos. A menos que se indique lo contrario, el "esquema de numeración de EU" se utiliza generalmente cuando se hace referencia a un resto en una región constante de la cadena pesada de un anticuerpo (por ejemplo, como se indica en Kabat *et al.*, anteriormente).

La expresión "anticuerpo aglicosilado" se refiere a un anticuerpo que no comprende una secuencia de glicosilación que pueda interferir con una reacción de transglutaminación, por ejemplo, un anticuerpo que no tiene un grupo sacárido en N297 en una o más cadenas pesadas. En realizaciones particulares, una cadena pesada de anticuerpo tiene una mutación N297. Dicho de otro modo, el anticuerpo está mutado para que ya no tenga un resto de asparagina en la posición 297 según el sistema de numeración de EU según lo divulgado por Kabat *et al.* En realizaciones particulares, la cadena pesada de un anticuerpo tiene una mutación N297Q o N297D. Un anticuerpo de este tipo puede prepararse mediante mutagénesis dirigida al sitio para eliminar o desactivar una secuencia de glicosilación o mediante mutagénesis dirigida al sitio para insertar un resto de glutamina en un sitio aparte de cualquier sitio de glicosilación que interfiera o cualquier otra estructura que interfiera. Un anticuerpo de este tipo también puede aislarse a partir de fuentes naturales o artificiales.

La expresión "anticuerpo desglicosilado" se refiere a un anticuerpo en el que se eliminó un grupo sacárido en N297, abriendo así Q295 a la transglutaminación. En realizaciones particulares, en el presente documento se proporcionan procesos que abarcan una etapa adicional de desglicosilación de un anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo N297.

La amina primaria puede ser cualquier amina primaria que sea capaz de formar un enlace covalente con un resto de glutamina en presencia de una transglutaminasa. Las aminas primarias útiles se han descrito anteriormente. La transglutaminasa puede ser cualquier transglutaminasa que los expertos en la técnica consideren adecuada. En determinadas realizaciones, la transglutaminasa es una enzima que cataliza la formación de un enlace isopéptido entre un grupo amina libre en el compuesto de amina primaria y el grupo acilo en la cadena lateral de un resto de glutamina. La transglutaminasa también se conoce como proteína-glutamina-γ-glutamilttransferasa. En realizaciones particulares, la transglutaminasa está clasificada como EC 2.3.2.13. La transglutaminasa puede proceder de cualquier fuente que se considere adecuada. En determinadas realizaciones, la transglutaminasa es microbiana. Se han aislado transglutaminasas útiles de *Streptomyces mobaraense*, *Streptomyces cinnamoneum*, *Streptomyces griseo-carneum*, *Streptomyces lavendulae* y *Bacillus subtilis*. También se pueden usar transglutaminasas no microbianas, incluidas las transglutaminasas de mamífero. En determinadas realizaciones, la transglutaminasa puede producirse mediante cualquier técnica u obtenerse de cualquier fuente que el experto considere adecuada. En realizaciones particulares, la transglutaminasa se obtiene de una fuente comercial.

En realizaciones particulares, el compuesto de amina primaria comprende un grupo reactivo capaz de reaccionar adicionalmente después de la transglutaminación. En estas realizaciones, el anticuerpo modificado con glutaminilo se puede hacer reaccionar o tratar con un compuesto de carga activa reactiva, enlazador-carga activa o un compuesto enlazador-reactivo-carga activa para formar un conjugado de anticuerpo-carga activa. En determinadas realizaciones, el compuesto de amina primaria comprende una azida.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo modificado con glutaminilo se hace reaccionar o se trata con un enlazador-carga activa o enlazador reactivo-carga activa para formar un conjugado de anticuerpo-carga activa. La reacción puede desarrollarse en condiciones consideradas adecuadas por los expertos en la técnica. En determinadas realizaciones, el anticuerpo modificado con glutaminilo se pone en contacto con el enlazador-carga activa o el compuesto enlazador reactivo-carga activa en condiciones adecuadas para formar un enlace entre el anticuerpo modificado con glutaminilo y el compuesto enlazador-carga activa. Otras condiciones de reacción son bien conocidas por los expertos en la materia.

En los ejemplos siguientes se proporcionan reacciones ilustrativas.

Composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento

En el presente documento se proporcionan métodos para tratar y prevenir enfermedades, afecciones o trastornos que comprenden administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz o uno o más de los compuestos o cargas activas divulgados en el presente documento, por ejemplo, uno o más de los compuestos de una fórmula proporcionada en el presente documento. Las enfermedades, trastornos y/o afecciones incluyen, aunque sin limitación, aquellas asociadas con los antígenos enumerados en el presente documento.

Los compuestos descritos en el presente documento se pueden administrar solos o junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales. El uno o más agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar justo antes de, simultáneamente con o poco después de la administración de los compuestos descritos en el presente documento. La presente divulgación también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, y métodos de tratamiento que comprenden administrar dichas combinaciones a sujetos que lo necesitan.

Los agentes terapéuticos adicionales adecuados incluyen, pero sin limitación: un segundo glucocorticoide, un agente terapéutico autoinmunitario, una hormona, una sustancia biológica o un anticuerpo monoclonal. Los agentes terapéuticos adecuados también incluyen, pero sin limitación, cualquier sal, ácido o derivado farmacéuticamente aceptable de un compuesto expuesto en el presente documento.

En algunas realizaciones de los métodos descritos en el presente documento, pueden administrarse múltiples dosis de un compuesto descrito en el presente documento (o una composición farmacéutica que comprende una combinación de un compuesto descrito en el presente documento y cualquiera de los agentes terapéuticos adicionales mencionados en el presente documento) a un sujeto durante un transcurso de tiempo definido. Los métodos de acuerdo con este aspecto de la divulgación comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis de un compuesto descrito en el presente documento. Como se usa en el presente documento, "administrar de manera secuencial" significa que cada dosis del compuesto se administra al sujeto en un punto temporal diferente, por ejemplo, en días diferentes separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente divulgación incluye métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una dosis inicial única de un compuesto descrito en el presente documento, seguida de una o más dosis secundarias del compuesto y seguida opcionalmente de una o más dosis terciarias del compuesto.

Las expresiones "dosis inicial", "dosis secundarias" y "dosis terciarias" se refieren a la secuencia temporal de administración de los compuestos descritos en el presente documento. Por lo tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al inicio de la pauta terapéutica (también denominada "dosis basal"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundaria y terciaria pueden incluir todas la misma cantidad del compuesto descrito en el presente documento, pero generalmente pueden diferir entre sí en términos de frecuencia de administración. En determinadas realizaciones, la cantidad del compuesto incluido en las dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía entre sí (por ejemplo, ajustadas hacia arriba o hacia abajo según corresponda) durante el transcurso del tratamiento. En determinadas realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4 o 5) dosis al comienzo del régimen de tratamiento como "dosis de carga" seguidas de dosis posteriores que se administran con menos frecuencia (por ejemplo, "dosis de mantenimiento").

En determinadas realizaciones ilustrativas de la presente divulgación, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra de 1 a 26 (por ejemplo, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ o más) semanas después de la dosis inmediatamente anterior. La expresión "la dosis inmediatamente anterior", como se usa en el presente documento, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis del compuesto que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis de la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos de acuerdo con este aspecto de la divulgación pueden comprender administrar a un paciente cualquier cantidad de dosis secundarias y/o terciarias del compuesto. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, al paciente se le administra únicamente una sola dosis secundaria. En otras realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias al paciente. Asimismo, en determinadas realizaciones, al paciente se le administra únicamente una sola dosis terciaria. En otras realizaciones, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias al paciente. El régimen de administración puede llevarse a cabo indefinidamente durante la vida de un sujeto particular, o hasta que dicho tratamiento ya no sea terapéuticamente necesario o ventajoso.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse a la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente de 1

a 2 semanas o de 1 a 2 meses después de la dosis inmediatamente anterior. De manera similar, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente de 2 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En ciertas realizaciones de la divulgación, la frecuencia con la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar durante el transcurso del régimen de tratamiento. La frecuencia de administración también puede ajustarla un médico en el transcurso del tratamiento, dependiendo de las necesidades del paciente individual después del examen clínico.

La presente divulgación incluye la administración de regímenes en los que se administran de 2 a 6 dosis de carga a un paciente en una primera frecuencia (por ejemplo, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, etc.), seguido de la administración de dos o más dosis de mantenimiento al paciente de forma menos frecuente. Por ejemplo, de acuerdo con este aspecto de la divulgación, si las dosis de carga se administran con una frecuencia de una vez al mes, entonces las dosis de mantenimiento pueden administrarse al paciente una vez cada seis semanas, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, etc.

La presente divulgación incluye composiciones farmacéuticas de los compuestos, cargas activas, enlazador-cargas activas y/o conjugados descritos en el presente documento, por ejemplo, los compuestos de Fórmula I, II y/o III, por ejemplo, composiciones que comprenden un compuesto descrito en el presente documento, una sal, estereoisómero, polimorfo del mismo, y un vehículo, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de vehículos, diluyentes y excipientes adecuados incluyen, aunque sin limitación, tampones para el mantenimiento del pH adecuado de la composición (por ejemplo, tampones citrato, tampones succinato, tampones acetato, tampones fosfato, tampones lactato, tampones oxalato y similares), proteínas transportadoras (por ejemplo, seroalbúmina humana), solución salina, polioles (por ejemplo, trehalosa, sacarosa, xilitol, sorbitol y similares), tensioactivos (por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 80, polioxolato y similares), antimicrobianos y antioxidantes.

En algunos ejemplos, en el presente documento se expone un método de tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección que comprende administrar a un paciente que tiene dicho trastorno una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, II y/o III o una composición farmacéutica del mismo.

En algunos ejemplos, en el presente documento se expone un método para prevenir una enfermedad, trastorno o afección que comprende administrar a un paciente que tiene dicho trastorno una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, II y/o III o una composición farmacéutica del mismo.

En algunos ejemplos, en el presente documento se exponen métodos para tratar o prevenir cualquier enfermedad, trastorno o afección que responde a la modulación de la señalización LXR. En algunos ejemplos, la enfermedad o trastorno se asocia con la función LXR, polimorfismos de LXR, actividad agonista de LXR o actividad antagonista de LXR. En algunos ejemplos, en el presente documento se expone un método para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección seleccionado entre el grupo que consiste en un trastorno proliferativo, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno inmunológico, una enfermedad autoinmunitaria, un trastorno inflamatorio, una enfermedad dermatológica, una enfermedad metabólica, enfermedad cardiovascular y una enfermedad gastrointestinal.

El trastorno proliferativo puede ser cualquier trastorno proliferativo conocido por los expertos. En determinadas realizaciones, los trastornos proliferativos incluyen, sin limitación, trastornos oncológicos, donde el trastorno oncológico puede ser cualquier trastorno canceroso conocido por los expertos. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir un melanoma. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el melanoma metastásico. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir cáncer de pulmón. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir cáncer de pulmón resistente al inhibidor de tirosina quinasa EGFR. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir cáncer oral. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir carcinoma de células escamosas oral. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir cáncer de próstata. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o controlar linfoma de Burkitt. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir cáncer mama.

El trastorno neurodegenerativo puede ser cualquier trastorno neurodegenerativo conocido por los expertos. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir enfermedad de Alzheimer. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de Parkinson. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de Huntington,. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la expresión del gen de mielina. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir afecciones, enfermedades o trastornos relacionados con la mielinización y remielinización.

El trastorno inmunológico puede ser cualquier trastorno inmunológico conocido por los expertos. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad intestinal inflamatoria. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la colitis ulcerosa. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o

prevenir la enfermedad de Crohn.

El trastorno inflamatorio puede ser cualquier trastorno inflamatorio conocido por los expertos. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la artritis. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la artritis reumatoide.

La enfermedad metabólica puede ser cualquier enfermedad metabólica conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la enfermedad metabólica es la dislipidemia. La dislipidemia puede ser cualquier dislipidemia conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, la dislipidemia se selecciona entre el grupo que consiste en hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperlipoproteinemia, deficiencia de HDL, deficiencia de ApoA-I y enfermedades cardiovasculares, tal como enfermedad de las arterias coronarias (incluyendo, por ejemplo, tratamiento y prevención de la angina, infarto de miocardio y la muerte súbita cardíaca); aterosclerosis (incluyendo, por ejemplo, tratamiento y prevención de la aterosclerosis); y reestenosis (incluyendo, por ejemplo, prevención o tratamiento de las placas ateroscleróticas que se desarrollan como consecuencia de procedimientos médicos como la angioplastia con balón). En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la diabetes.

La enfermedad cardiovascular puede ser cualquier enfermedad cardiovascular conocida por los expertos. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la aterosclerosis. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la aterosclerosis derivada del procesamiento anormal de los macrófagos. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la aterosclerosis derivada de la formación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL), donde los macrófagos no logran procesar las oxLDL. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad cardíaca isquémica. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el ictus. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad cardíaca por hipertensión. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir los aneurismas. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la endocarditis. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de las arterias periféricas. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir combinaciones de cualquiera de las enfermedades proporcionadas en este párrafo.

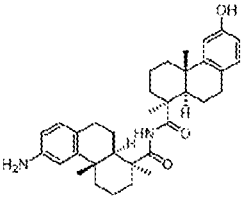
En algunos ejemplos, en el presente documento se expone un método para modular la función de un receptor nuclear. A modo de ejemplo no limitante, la función puede seleccionarse entre la expresión/secreción de mediadores inflamatorios (por ejemplo, citocinas, quimiocinas), regulación del colesterol, ingesta de colesterol, eflujo de colesterol, oxidación del colesterol, migración, quimiotaxis, apoptosis y necrosis, una actividad inflamatoria, regulación de lípidos, apoptosis, migración, quimiotaxis, transcripción de genes y expresión de proteínas.

Ejemplos

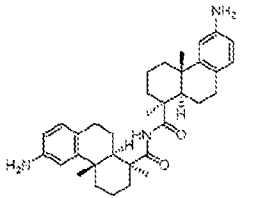
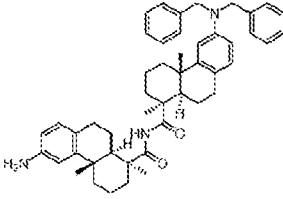
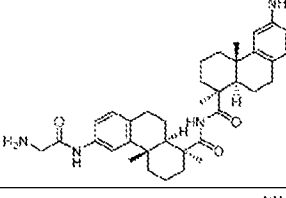
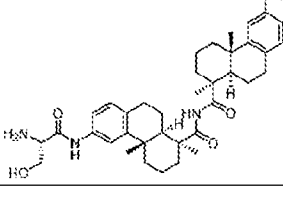
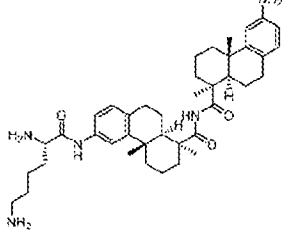
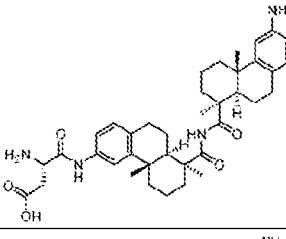
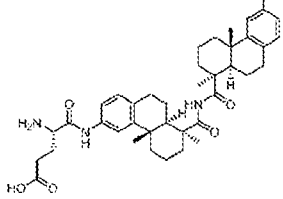
En el presente documento se proporcionan nuevas bis-octahidrofenantreno carboxamidas, conjugados de proteínas de las mismas y métodos para tratar enfermedades, trastornos y afecciones, que incluyen la administración de bis-octahidrofenantreno carboxamidas y conjugados.

En algunos ejemplos, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto identificado en la Tabla 1.

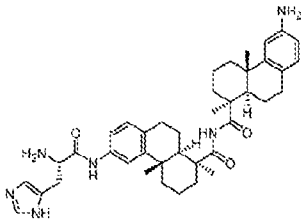
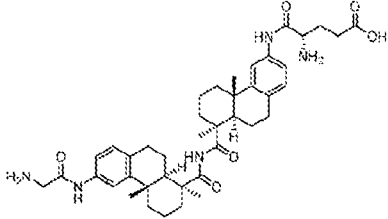
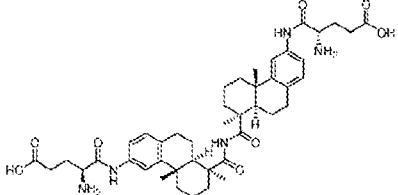
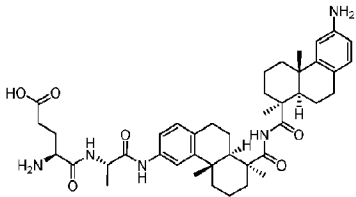
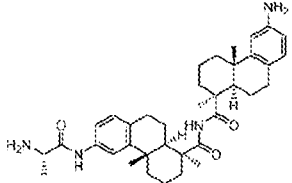
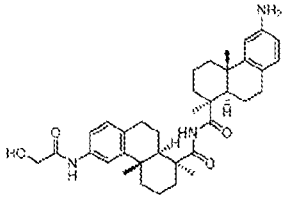
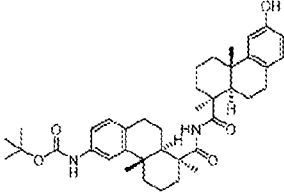
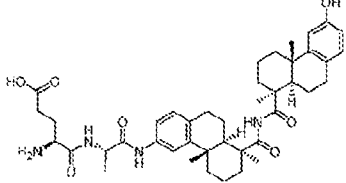
Tabla 1. Lista de cargas activas

Código del cdp.	Estructuras	MF	FW	Masa exacta
P1		C ₃₄ H ₄₄ N ₂ O ₃	528,72	528,72

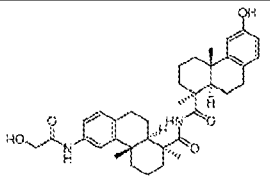
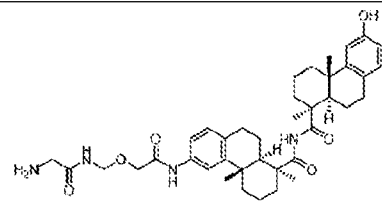
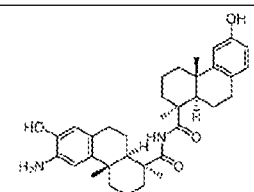
(continuación)

Código del cdp.	Estructuras	MF	FW	Masa exacta
P2		$C_{34}H_{45}N_3O_2$	527,74	527,74
P3		$C_{48}H_{57}N_3O_2$	707,99	707,45
P4		$C_{36}H_{46}N_4O_3$	584,79	584,37
P5		$C_{37}H_{50}N_4O_4$	614,82	614,38
P6		$C_{40}H_{57}N_5O_3$	655,91	655,45
P7		$C_{38}H_{50}N_4O_5$	642,83	642,38
P8		$C_{39}H_{52}N_4O_5$	656,85	656,39

(continuación)

Código del cdp.	Estructuras	MF	FW	Masa exacta
P9		C ₄₀ H ₅₂ N ₆ O ₃	664,88	664,41
P10		C ₄₁ H ₅₅ N ₅ O ₆	713,91	713,42
P11		C ₄₄ H ₅₉ N ₅ O ₈	785,97	785,44
P12		C ₄₂ H ₅₇ N ₅ O ₆	727,93	727,43
P13		C ₃₇ H ₅₀ N ₄ O ₃	598,82	398,39
P14		C ₃₆ H ₄₇ N ₃ O ₄	585,78	585,36
P15		C ₃₉ H ₅₂ N ₂ O ₅	628,84	628,39
P16		C ₄₂ H ₅₆ N ₄ O ₇	728,92	728,41

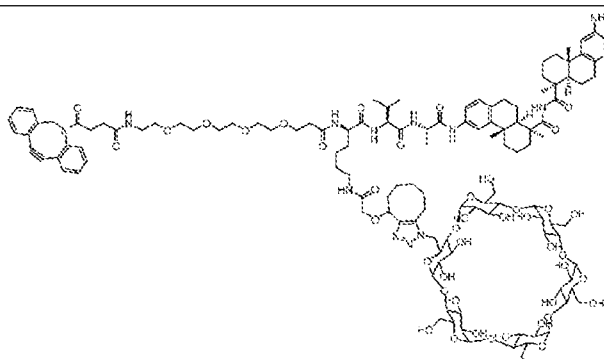
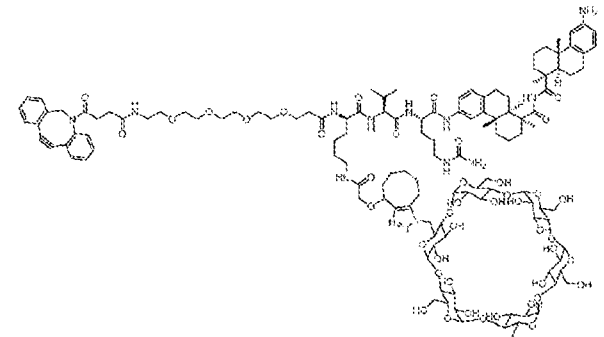
(continuación)

Código del cdp.	Estructuras	MF	FW	Masa exacta
P17		C ₃₆ H ₄₆ N ₂ O ₅	586,77	586,34
P18		C ₃₉ H ₅₂ N ₄ O ₆	672,87	672,39
P19		C ₃₄ H ₄₄ N ₂ O ₄	544,74	544,33

Ejemplos de enlazador-cargas activas de la presente divulgación incluyen, aunque sin limitación, los descritos en la Tabla 2 a continuación.

5

Tabla 2. Lista de enlazador-cargas activas

LP	Nombre del enlazador	Estructuras
LP1	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-CD)-VA	
LP2	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-CD)-vc	

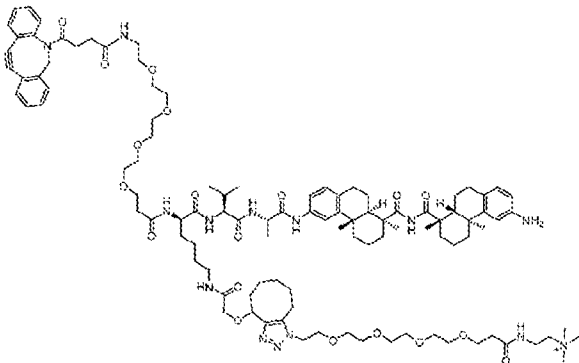
(continuación)

LP	Nombre del enlazador	Estructuras
LP3	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-PEG4-aurina)-VA	
LP4	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-PEG4-aurina)-vc	
LP5	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-PEG4-Maltosa)-VA	
LP6	DIBAC-suc-PEG4-VA	
LP7	DIBAC-suc-PEG4-vcPABC	
LP8	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-CD)-vcPABC	
LP9	DIBAC-suc-PEG4-vcPABC	

(continuación)

LP	Nombre del enlazador	Estructuras
LP1 0	DIBAC-suc-PEG4-vcPABC	
LP1 1	DIBAC-suc-PEG4-vcPABC	
LP1 2	DIBAC-suc-PEG4-EA	
LP1 3	DIBAC-suc-PEG4-Glu-VA	
LP1 4	DIBAC-suc-PEG4-dGlu-VA	
LP1 5	DIBAC-suc-PEG3-CDBCA-Cit-PAB	
LP1 6	DIBAC-suc-PEG4-Glu-Ala	
LP1 7	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Gly-NCO-GLA	
LP1 8	DIBAC-suc-GGFG-NCO-GLA	
LP1 9	DIBAC-suc-PEG4-vcPABC-MeEDA(PEG)	

(continuación)

LP	Nombre del enlazador	Estructuras
LP2 0	DIBAC-suc-PEG4-dlys(COT-PEG4-aurina)-VA	

En los siguientes ejemplos no limitantes se ilustran determinadas realizaciones de la invención.

- 5 Los reactivos y disolventes se obtuvieron de fuentes comerciales, tales como Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma-Aldrich, Alfa u otros proveedores, a menos que se indique explícitamente lo contrario.

RMN ^1H y otros espectros de RMN se registraron en un Bruker AVIII 400 o Bruker A VIII 500. Los datos se procesaron con el software Nuts o el software MestReNova, midiendo los cambios de protones en partes por millón (ppm) en el campo desde un patrón interno de tetrametilsilano.

La medición de HPLC-MS se realizó en el sistema Agilent 1200 HPLC/6100 SQ utilizando las siguientes condiciones:

Se incluye el método A para la medición por HPLC-MS, como la Fase Móvil: A: Agua (0,01 % de TFA) y B: acetonitrilo (0,01 % de TFA). La fase de gradiente fue del 5 % de B aumentada al 95 % de B durante 15 minutos (min) a 1,0 ml/min. La columna de HPLC utilizada era una Sunfire C18, 4,6 x 50 mm, 3,5 μm . La temperatura de la columna fue de 50 °C. Los detectores incluían un detector de dispersión de luz evaporativa con convertidor analógico a digital (en adelante "ADC ELSD"), Detector de matriz de diodos (DAD, 214 nm y 254 nm) e ionización por electropulverización-ionización por presión atmosférica (ES-API).

Método B para medición HPLC-MS incluido, como la Fase Móvil: A: Agua (NH_4HCO_3 10 mM) y B: acetonitrilo. La fase de gradiente fue del 5 % de B aumentada al 95 % de B durante 15 min a 1,0 ml/min. La columna usada era una XBridge C18, 4,6 x 50 mm, 3,5 μm . La temperatura de la columna fue de 50 °C. Los detectores incluían un ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm) y un detector selectivo de masas (MSD ES-API).

La medición LC-MS se realizó en el sistema Agilent 1200 HPLC/6100 SQ utilizando las siguientes condiciones:

El método A para la medición LC-MS se realizó en un instrumento WATERS 2767. La columna era un Shimadzu Shim-Pack, PRC-ODS, 20 x 250 mm, 15 μm , dos conectados en serie. La Fase Móvil fue A: Agua (0,01 % de TFA) y B: acetonitrilo (0,01 % de TFA). La fase de gradiente fue del 5 % de B aumentada al 95 % de B durante 3 min a 1,8 - 2,3 ml/min. La columna utilizada fue SunFire C18, 4,6 x 50 mm, 3,5 μm . La temperatura de la columna fue de 50 °C. Los detectores incluían un ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm) y un MSD ES-API.

El método B para la medición LC-MS se realizó en un instrumento Gilson GX-281. La columna era una Xbridge Prep C18 10 μm OBD, 19 x 250 mm. La Fase Móvil fue A: agua (NH_4HCO_3 10 mM) B: Acetonitrilo. La fase de gradiente fue del 5 % de B aumentada al 95 % de B durante 3 min a 1,8 - 2,3 ml/min. La columna usada era una XBridge C18, 4,6 x 50 mm, 3,5 μm . La temperatura de la columna fue de 50 °C. Los detectores incluían ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm) y un MSD ES-API.

La cromatografía líquida preparativa de alta presión (Prep-HPLC) se realizó en un instrumento Gilson GX-281. Se utilizaron dos sistemas de disolventes, uno ácido y otro básico. El sistema de disolvente ácido (Método A) incluía una columna Waters Sunfire C18 de 10 μm (100 Å, 250 x 19 mm). El disolvente A para HPLC preparatoria fue TFA al 0,05 % en agua y el disolvente B fue acetonitrilo. La condición de elución fue un gradiente lineal que aumentó el disolvente B del 5 % al 100 % durante 20 minutos a 30 ml/min. El sistema de disolvente básico (Método B) incluía una columna Waters Xbridge C18 de 10 μm (100 Å, 250 x 19 mm). El disolvente A para la HPLC preparatoria fue bicarbonato de amonio 10 mM (NH_4HCO_3) en agua y el disolvente B era acetonitrilo. La condición de elución fue un gradiente lineal que aumentó el disolvente B del 5 % al 100 % durante 20 minutos a 30 ml/min.

La cromatografía flash se realizó en un instrumento Biotage, con Agela Flash Column sílice-CS. La cromatografía flash de fase inversa se realizó en un instrumento Biotage, con Boston ODS o Agela C18, a menos que se indique explícitamente lo contrario.

Como se usa en el presente documento, los símbolos y convenciones usados en estos procesos, esquemas y ejemplos, independientemente de si se define específicamente una abreviatura particular, son consistentes con los usados en la bibliografía científica contemporánea, por ejemplo, el Journal of the American Chemical Society o el Journal of Biological Chemistry. Específicamente, pero sin limitación, se pueden usar las abreviaturas siguientes en los ejemplos y a lo largo de la memoria descriptiva:

Abreviatura	Término
CAF	Conjugados de anticuerpo y fármaco
Anticuerpo aglicosilado	El anticuerpo no tiene ningún glucano
Ac.	Acuoso
Boc	N- <i>tert</i> -butoxicarbonilo
BupH	Thermo Scientific Prod# 28372, que contiene fosfato de sodio 100 mM y cloruro de sodio 150 mM, libre de potasio, el pH se ajustó de 7,2 a 7,6-7,8 MQ, a menos que se indique lo contrario
CD	Ciclodextrina
COT	Ciclooctinol
Da	Dalton
DAR	Relación de fármaco a anticuerpo
DCM	Diclorometano o cloruro de metileno
DIBAC	Dibenzo[b,f]azocina, 11,12-dideshidro-5,6-dihidro-
DIBAC-Suc	Ácido dibenzo[b,f]azocina-5(6H)-butanoico, 11,12-dideshidro
DIBACT	3H-Benzo[c]-1,2,3-triazolo[4,5-e][1]benzazocina, 8,9-dihidro-
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
CE	Comisión de enzimas
ELSD	Detector de dispersión de luz por evaporación
ESI	Ionización por electropulverización
g	Gramo
HATU	Hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HC	Cadena pesada de inmunoglobulina
HEK	Células de riñón embrionario humano
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento
h, hr o hrs	Horas
CL	Cadena ligera de inmunoglobulina
LCh	Cromatografía líquida
MALDI	Desorción/ionización láser asistida por matriz
MC	Maleimidocaproilo
mg	miligramos
min	minutos

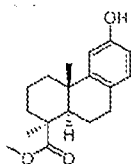
(continuación)

Abreviatura	Término
ml	mililitros
mmh	etiqueta de myc-myc-hexahistidina
μl	microlitros
mM	milimolar
μM	micromolar
MMAE	Monometil auristatina E
EM	Espectrometría de masas
MsCl	Cloruro de metanosulfonilo
MSD	Detector selectivo de masas
PM	Peso molecular
SHN	N-hidroxi-succinimida
nM	nanomolar
RMN	Resonancia magnética nuclear
PAB	Para-aminobeciloxicarbonilo
PBS	Tampón fosfato de sodio 10 mM y cloruro de sodio 150 mM
PBSg	fosfato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, Glicerol al 5 %
PEG	Polietilenglicol
ppm	Partes por millón (desplazamiento químico)
RP	Fase inversa
TA o ta	Temperatura ambiente
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño molecular
Suc	Ácido succínico
TCEP	Clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
TG	Transglutaminasa
THF	Tetrahidrofurano
TOF	Tiempo de vuelo
UPLC	Cromatografía líquida de ultra rendimiento
UV	Ultravioleta
VA	Valina-Alanina
VC	Valina-Citrulina

Métodos de preparación**5 EJEMPLO 1**

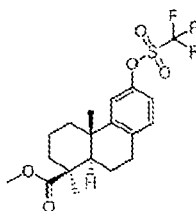
Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis de los derivados del ácido podocárpico **P1**, **P15** y **P2** en la Tabla 1, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados desde **1 a 12a-b** y **P1**, **P15** y **P2** en la

Figura 1.

(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (2)

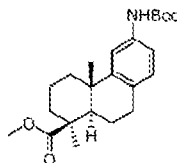
5

A una solución de ácido podocárpico (**1**, 90 g, 0,33 mol) en metanol (200 ml) y tolueno (600 ml) se añadió (trimetilsilil)diazometano (2 M en hexano, 200 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas. El ácido podocárpico se consumió totalmente según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se trituró en éter de petróleo (2 l) para dar el compuesto **2** (91 g, rendimiento del 96 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 289 (M + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,95 (s, 1H), 6,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,63 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,48 (dd, *J* = 8,2, 2,4 Hz, 1H), 3,58 (s, 3H), 2,80-2,55 (m, 2H), 2,20-2,02 (m, 3H), 1,96-1,71 (m, 2H), 1,56-1,45 (m, 2H), 1,27 (t, *J* = 13,5 Hz, 1H), 1,21 (s, 3H), 1,09 (td, *J* = 13,5, 4,1 Hz, 1H), 0,91 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-1,4a-dimetil-6-(trifluorometanosulfonilo)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (3)

A una solución de compuesto **2** (10 g, 35 mmol) en cloruro de metileno (200 ml) se añadieron piridina (3,3 g, 42 mmol) y DMAP (0,84 g, 6,9 mmol) en nitrógeno. La mezcla se enfrió a -78 °C y se añadió anhídrido trifílico (12 g, 42 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a 25 °C y se agitó a 25 °C durante otras 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (500 ml), se lavó con agua (100 ml), clorhidrato acuoso (1 N, 150 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío para dar el compuesto bruto. **3** (14 g, 97 % de rendimiento bruto) como aceite viscoso, que era lo suficientemente puro para la siguiente etapa. El compuesto bruto **3** podría purificarse mediante cromatografía ultrarrápida (0-10 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **3** puro como un aceite viscoso. ESI m/z: 421,2 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,12 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,97 (dd, *J* = 8,5, 2,5 Hz, 1H), 3,67 (s, *J* = 3,4 Hz, 3H), 2,93 (dd, *J* = 17,2, 4,4 Hz, 1H), 2,85-2,71 (m, 1H), 2,29 (d, *J* = 13,5 Hz, 1H), 2,25-2,14 (m, 2H), 2,03-1,89 (m, 2H), 1,71-1,61 (m, 1H), 1,56-1,48 (m, 1H), 1,40 (td, *J* = 13,4, 4,2 Hz, 1H), 1,30-1,22 (m, 3H), 1,09 (td, *J* = 13,6, 4,2 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H) ppm.

30

(1S,4aS,10aR)-6-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (4)

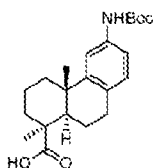
35

A una solución del compuesto **3** (14 g, 34 mmol) y carbamato de *tert*-butilo (BocNH₂, 7,9 g, 68 mmol) en *tert*-butanol (100 ml) se añadieron, sucesiva, carbonato de cesio (22 g, 68 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0) (Pd₂(dba)₃, 1,8 g, 2,0 mmol) y X-Phos (1,8 g, 4,0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se desgasificó y se purgó con argón 3 veces y luego se agitó a 80 °C bajo un globo de argón durante la noche hasta que el compuesto **3** estaba totalmente consumido, según lo monitorizado por TLC. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se filtró a través de celite. Los sólidos se lavaron con acetato de etilo 3 veces. El filtrado combinado se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-6,25 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **4** (11 g, 80 % de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 410 (M + 23)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,07 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,13 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 3,59 (s, 3H), 2,76 (dd, *J* = 16,4, 4,5 Hz, 1H), 2,70-2,61 (m, 1H), 2,16-2,05 (m, 3H), 2,00-1,75 (m, 2H), 1,65-1,50 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,31-1,25 (m, 1H), 1,21 (s, 3H), 1,10 (td, *J* = 13,5, 4,1 Hz, 1H), 0,92 (s, 3H) ppm.

45

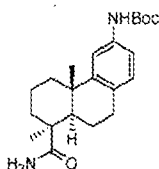
Ácido (1S,4aS,10aR)-6-(((*tert*-butoxi)carbonil)amino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (5)

50



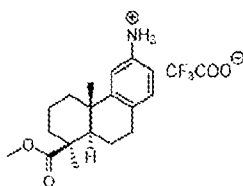
- 5 A una solución de compuesto **4** (4,9 g, 13 mmol) en DMSO se añadió *tert*-butóxido de potasio (15 g, 0,13 mol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 3 horas en atmósfera de argón hasta que se completó la reacción según LCMS. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se vertió en hielo y se acidificó lentamente con clorhidrato acuoso (0,5 M) a pH 5, durante el cual no se permitió que la temperatura alcanzara más de 25 °C. Los precipitados se recogieron por filtración y se lavaron con agua varias veces. El producto bruto se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-20 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **5** (4,5 g, rendimiento del 93 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 318 (M - 55)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,08 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 2,79-2,68 (m, 1H), 2,65 (d, *J* = 12,6 Hz, 1H), 2,17-2,03 (m, 4H), 1,94-1,76 (m, 2H), 1,53 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 1,46 (d, *J* = 7,4 Hz, 9H), 1,29-1,14 (m, 5H), 1,04 (s, 3H) ppm.

- 15 **N-[(4bS,8S,8aR)-8-carbamoyl-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *tert*-butilo (6)**



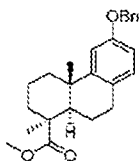
- 20 A una solución de **5** (4,5 g, 12 mmol) y HATU (4,9 g, 13 mmol) en DMF (50 ml) se le añadió diisopropiletilamina (20 ml, 0,12 mol) y la mezcla se agitó a 25 °C durante una hora. Después se añadió a la mezcla cloruro de amonio (16 g, 0,30 moles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (0-20 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **6** (4,2 g, 94 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ESI m/z: 373,3 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, metanol-*d*₄) δ 7,20 (s, 1H), 6,97 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,80 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 2,77-2,68 (m, 2H), 2,66-2,55 (m, 1H), 2,20 (d, *J* = 12,9 Hz, 1H), 2,13 (dd, *J* = 13,2, 5,3 Hz, 1H), 2,08 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 2,03-1,86 (m, 2H), 1,54 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,26 (t, *J* = 26,7 Hz, 1H), 1,18 (s, 3H), 1,14-1,03 (m, 4H) ppm.

- 30 **(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carboxilato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (7)**



- 35 A una solución del compuesto **4** (6,0 g, 15 mmol) en DCM (60 ml) se le añadió TFA (12 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que Boc se eliminó por completo, según lo monitorizado por TLC. La mezcla de reacción se concentró al vacío para dar el compuesto bruto **7** como una sal de TFA, que se usó en la etapa siguiente sin más purificación. ESI m/z: 288 (M+1)⁺.

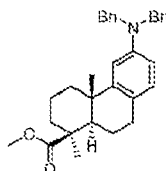
- 40 **(1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carboxilato de metilo (8a)**



- 45 Una mezcla del compuesto **2** (12 g, 40 mmol) y carbonato de cesio (14 g, 44 mmol) en DMF (100 ml) se agitó a 20-25 °C durante 15 minutos. A la mezcla se le añadió bromuro de bencilo (7,1 ml, 60 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar a TA durante 4 h, la mezcla resultante se vertió en agua fría y se extrajo con acetato de etilo. La

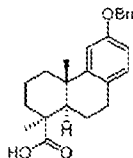
solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (0-10 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto del título **8a** (13 g, rendimiento del 89 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 379 (M + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, metanol-*d*₄) δ 7,60 - 7,20 (m, 5H), 7,00-6,82 (m, 2H), 6,73 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 5,03 (s, 2H), 3,66 (s, 3H), 2,95-2,58 (m, 2H), 2,36-2,10 (m, 3H), 2,10-1,85 (m, 2H), 1,70-1,48 (m, 2H), 1,44-1,21 (m, 4H), 1,15 (t, *J* = 17,2 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-6-(dibencilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carboxilato de metilo (8b)



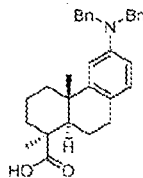
A una solución del compuesto bruto **7** obtenido anteriormente (*calc.* 15 mmol) en DMF (60 ml) se añadieron carbonato potásico (6,4 g, 46 mmol) y bromuro de bencilo (5,8 g, 34 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante la noche hasta que se completó la reacción según se controló por TLC. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se vertió en agua fría (300 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 veces). La solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío para dar el producto bruto **8b**, que se usó en la etapa siguiente sin más purificación. ESI m/z: 468 (M + 1)⁺.

Ácido (1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (9a)



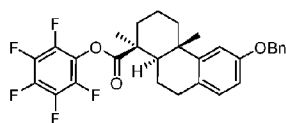
Una mezcla del compuesto **8a** (11 g, 29 mmol) y *tert*-butóxido de potasio (33 g, 0,29 mol) en DMSO (0,19 l) se agitó a 100 °C durante una hora hasta que el éster se consumió por completo, según lo monitorizado por LCMS y TLC. Después del enfriamiento a 25 °C, la mezcla se inactivó con clorhidrato acuoso (1N) y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El residuo se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-24 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **9a** (7,5 g, rendimiento del 71 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 365 (M + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, metanol-*d*₄) δ 7,42 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,36 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,30 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 6,72 (dd, *J* = 8,4, 2,5 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 2,82 (dd, *J* = 16,3, 4,4 Hz, 1H), 2,77-2,65 (m, 1H), 2,24 (d, *J* = 13,2 Hz, 2H), 2,19 (dd, *J* = 13,8, 6,0 Hz, 1H), 2,11-1,96 (m, 2H), 1,64-1,56 (m, 1H), 1,53 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 1,35 (td, *J* = 13,3, 3,7 Hz, 1H), 1,30 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1,11-1,05 (m, 1H) ppm.

Ácido (1S,4aS,10aR)-6-(dibencilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (9b)



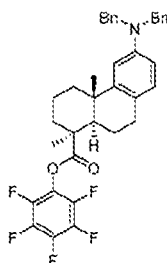
A una solución del compuesto bruto **8b** obtenido anteriormente (*calc.* 15 mmol) en DMSO (100 ml) se añadió *tert*-butóxido de potasio (17 g, 0,15 mol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 2 horas en atmósfera de argón hasta que se completó la reacción según LCMS. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se vertió en hielo y se acidificó lentamente con clorhidrato acuoso (4 M) a pH 5, durante el cual no se permitió que la temperatura alcanzara más de 25 °C. La mezcla se extrajo con acetato de etilo y la solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-20 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **9b** (6,8 g, 99 % de rendimiento en 3 etapas a partir del compuesto **4**) como un sólido blanco. ESI m/z: 454 (M + 1)⁺.

(1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de pentafluorofenilo (10a)



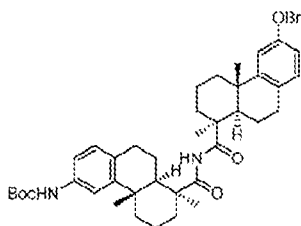
A una solución de **9a** (9,6 g, 26 mmol) en DMF (100 ml) se añadió DIPEA (14 ml, 79 mmol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (15 g, 53 mmol). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se controló por LCMS. Después, la mezcla de reacción se diluyó con éter (200 ml) y se lavó con agua (300 ml) y salmuera (200 ml). La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (0-10 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **10a** (12 g, rendimiento del 88 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 531 (M + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,43 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 7,38 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,31 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,93 (dd, *J* = 10,2, 5,5 Hz, 2H), 6,76 (dd, *J* = 8,4, 2,5 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 2,81 (dd, *J* = 16,3, 4,5 Hz, 1H), 2,77-2,68 (m, 1H), 2,28-2,19 (m, 2H), 2,18 (dd, *J* = 13,4, 5,6 Hz, 1H), 2,00-1,83 (m, 2H), 1,74 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 1,65 (d, *J* = 14,1 Hz, 1H), 1,47 (s, 3H), 1,38-1,27 (m, 2H), 1,08 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-6-(dibencilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carboxilato de pentafluorofenilo (10b)



A una solución de **9b** (6,8 g, 15 mmol) en DMF (100 ml) se añadió DIPEA (10 ml, 0,61 mol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (10 ml, 58 mmol). Esta mezcla se agitó a 25 °C durante la noche en atmósfera de nitrógeno y luego se diluyó con éter. Las fases orgánicas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron al vacío. El residuo se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-10 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **10b** (7,5 g, rendimiento del 81 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 620 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,36-7,25 (m, 10H), 6,92 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,63 (dd, *J* = 8,4, 2,6 Hz, 1H), 4,63 (m, 4H), 2,85-2,73 (m, 2H), 2,41-2,37 (m, 1H), 2,22-2,20 (m, 1H), 2,15-1,91 (m, 3H), 1,71-1,65 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,37-1,19 (m, 2H), 1,10 (s, 3H) ppm.

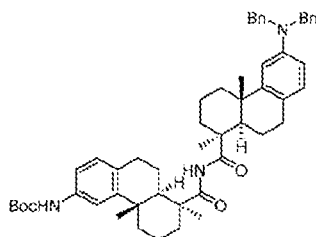
N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *tert*-butilo (11a)



A una solución de compuesto **6** (2,3 g, 6,2 mmol) en THF (20 ml) se añadió gota a gota *n*-BuLi (2,5 M en hexano, 5,5 ml, 14 mmol) a -78 °C. La reacción se agitó a -78 °C durante 1 hora. A la mezcla se le añadió una solución de **10a** (3,0 g, 5,6 mmol) en THF (20 ml) y luego la mezcla resultante se agitó a 10-20 °C durante la noche hasta que el compuesto **10a** se hubo consumido, según lo controlado mediante LCMS. La reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (0-30 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **11a** (1,59 g, rendimiento del 51 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 719 (M + 1)⁺.

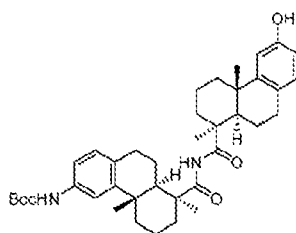
(En comparación con el procedimiento de **11b** más adelante, aquí se utilizó *n*-BuLi en lugar de LiHMDS. Aunque **6** no se consumió por completo, este procedimiento condujo a menos productos secundarios y al rendimiento de **11a** aumentó de aproximadamente 40 % a 51 %. Se recuperó el compuesto **6** sin reaccionar (rendimiento recuperado: 10-20 %).

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(dibencilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *tert*-butilo (11b)



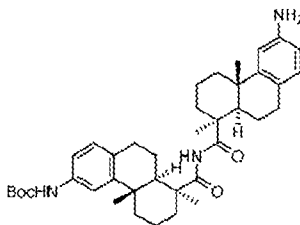
A una solución del compuesto **6** (1 g, 2,7 mmol) en THF (15 ml) se añadió gota a gota bis(trimetilsilil)amida de litio (1 M en hexano, 8,0 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante una hora. A la mezcla se añadió una solución del compuesto **10b** (2,5 g, 4,0 mmol) en THF (10 ml) y luego la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (0-35 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto **11b** (0,95 g, rendimiento del 44 %) como un sólido blanco; y compuesto recuperado **6** (rendimiento recuperado 37 %). ESI m/z: 808 (M + 1)⁺. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,16 (s, 1H), 7,35-7,24 (m, 10H), 7,12 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,62-6,59 (m, 2H), 6,42 (s, 1H), 4,62 (s, 3H), 2,98-2,75 (m, 4H), 2,31-2,22 (m, 5H), 2,10-1,97 (m, 5H), 1,69-1,63 (m, 4H), 1,56 (s, 9H), 1,32-1,27 (m, 9H), 1,43-1,27 (m, 5H), 1,05 (s, 3H) ppm.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de terc-butilo (12a) (P15)



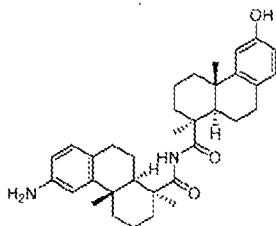
A una solución de **11a** (2,0 g, 2,78 mmol) en acetato de etilo (40 ml) se añadió paladio húmedo sobre carbón (10% Pd, 0,9 g) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se desgasificó, se purgó con hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente bajo un balón de hidrógeno durante la noche hasta que **11a** estaba totalmente consumido, según lo controlado mediante LCMS. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-55 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **12a** (**P15**; 1,06 g, rendimiento del 61 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 629 (M + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9,10 (s, 1H), 8,98 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,15 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 6,50 (dd, J = 8,2, 2,4 Hz, 1H), 2,84 (td, J = 16,3, 3,8 Hz, 2H), 2,77-2,64 (m, 2H), 2,30-2,22 (m, 2H), 2,14 (t, J = 10,9 Hz, 4H), 2,00-1,80 (m, 4H), 1,65-1,54 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,34-1,28 (m, 2H), 1,27 (d, J = 2,5 Hz, 6H), 1,15-1,08 (m, 2H), 0,99 (s, 6H) ppm.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de terc-butilo (12b)



A una solución de **11b** (0,45 g, 0,56 mmol) en acetato de etilo (5 ml) se añadió paladio húmedo sobre carbón (10 % de Pd, 50 mg) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se desgasificó, se purgó con hidrógeno 3 veces y se agitó a temperatura ambiente bajo un globo de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar el compuesto **12b** (0,33 g, rendimiento del 94 %) en forma de un sólido blanco. ESI m/z: 628 (M + 1)⁺.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-Amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-

hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P1)

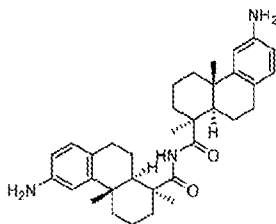
A una solución del compuesto **12a** (0,17 g, 0,27 mmol) en DCM (10 ml) se añadió gota a gota TFA (3 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó Boc según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (método B) para dar **P1** (0,10 g, rendimiento del 70 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 529,3 (M + 1)⁺. Rotación óptica (α): + 2,53° (1,7 g/100 ml de THF, 25 °C).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,14 (s, 1H), 6,92 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,65-6,57 (m, 2H), 6,50 (dd, J = 8,1, 2,3 Hz, 1H), 4,75 (s, 1H), 3,49 (s, 1H), 2,99-2,85 (m, 2H), 2,79 (tt, J = 11,6, 5,8 Hz, 2H), 2,34-2,14 (m, 6H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,74-1,51 (m, 5H), 1,46-1,34 (m, 2H), 1,30 (s, 6H), 1,21-1,06 (m, 8H) ppm.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,99 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 6,81 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,50 (dd, J = 8,0, 2,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 8,0, 2,5 Hz, 1H), 4,69 (s, 2H), 2,86-2,60 (m, 4H), 2,28-2,10 (m, 6H), 1,94-1,75 (m, 4H), 1,65-1,53 (m, 4H), 1,35-1,20 (m, 8H), 1,20-1,06 (m, 2H), 0,98 (s, 6H) ppm.

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 174,03, 173,92, 155,34, 148,39, 147,63, 146,43, 129,56, 129,09, 124,60, 121,65, 113,23, 112,58, 111,81, 110,77, 52,32, 52,09, 45,56, 45,52, 39,20, 39,36, 38,23, 38,17, 37,18, 37,12, 31,08, 31,00, 27,65, 27,64, 23,08, 23,03, 21,43, 21,27, 19,64, 19,61 ppm.

HPLC (método B): Tiempo de retención: 8,92 min, pureza: 99,4 %. HPLC quiral: >99,9 % (en la columna AD, AS, OD y OJ).

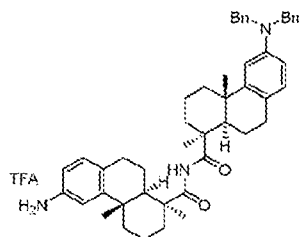
(1S,4aS,10aR)-6-amino-N-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P2)

A la solución del compuesto. **12b** (0,63 g, 1,0 mmol) en DCM (10 ml) se añadió gota a gota TFA (3 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas hasta que se eliminó Boc según LCMS. La mezcla se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar **P2** (0,42 g, rendimiento del 79 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 528,2 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,28 (s, 1H), 6,67 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 6,47 (d, J = 2,0 Hz, 2H), 6,33 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz, 2H), 4,69 (s, 4H), 2,80-2,75 (m, 2H), 2,70-2,60 (m, 2H), 2,26-2,20 (m, 2H), 2,19-2,05 (m, 4H), 1,95-1,75 (m, 4H), 1,62-1,50 (m, 4H), 1,33-1,20 (m, 8H), 1,12 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 0,98 (s, 6H) ppm.

EJEMPLO 2

Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis del derivado del ácido podocárpico. **P3** en la Tabla 1, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados desde **11b** y **P3** en la Figura 2A.

(3S,8R,9S,10R,13S,14S)-17-imino-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantren-3-ol, sal del ácido trifluoroacético (P3)



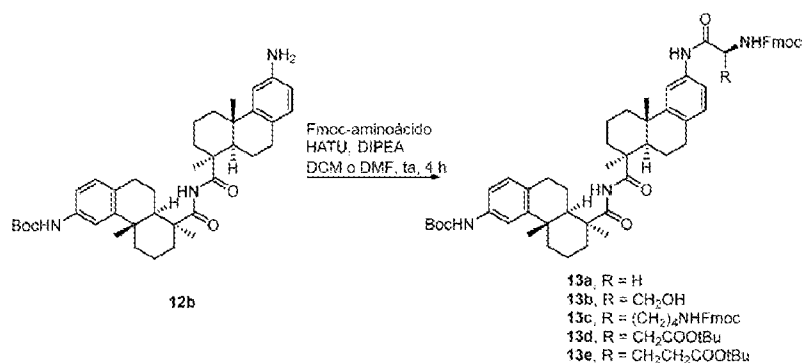
A una solución de compuesto **11b** (10 mg, 12 μ mol) en DCM (2 ml) se añadió TFA (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que se eliminó Boc según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se disolvió en acetonitrilo al 5 % en agua. La solución se liofilizó para proporcionar el compuesto **P3** (7 mg, rendimiento del 80 %) como un sólido amarillo claro. ESI m/z : 354,8 ($M/2 + H$)⁺. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,38 (s a, 2H), 8,08 (s, 1H), 7,35-7,06 (m, 12H), 6,97 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,73 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,51 (s, 1H), 6,46 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 4,68-4,55 (m, 4H), 3,00-2,50 (m, 4H), 2,40-2,00 (m, 6H), 1,94-1,73 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 3H), 1,50-1,00 (m, 11H), 0,98 (s, 3H), 0,83 (s, 3H) ppm. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ -74,08 ppm.

EJEMPLO 3

Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis de los derivados del ácido podocárpico. **P4-P8** en la Tabla 1, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados desde **12b** y **P4-P9**, **P13**, **P14** y **P17** en la Figura 2A.

Ejemplo 3a

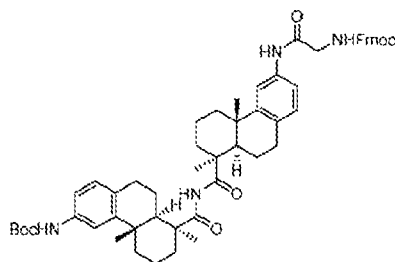
Intermedios 13a-e



A una solución de compuesto **12b** (1,0 equiv.) en DMF o DCM se añadió Fmoc-aminoácido (1,1-1,2 equiv.), HATU (1,2-1,5 equiv.) y DIPEA (2,0-3,0 equiv.) sucesivamente. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 4 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se concentró al vacío (cuando DCM era disolvente) y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-90 % de acetato de etilo en éter de petróleo); o la mezcla de reacción (cuando DMF era disolvente) se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (50-90 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **13** como sólidos blancos.

12b g (mmol)	Fmoc-aminoácido		HATU g (mmol)	DIPEA g (mmol)	Disolvente (ml)	Tiempo (h)	purificación	Producto	
	R	g (mmol)						N.º	g
0,13 (0,20)	H	0,071 (0,24)	0,11 (0,29)	0,077 (0,60)	DMF (10)	4	RP-B	13a	0,14
0,31 (0,50)	CH ₂ OH	0,18 (0,55)	0,23 (0,60)	0,19 (1,50)	DCM (20)	4	SGC	13b	0,39
0,20 (0,32)	(CH ₂) ₄ NHFmoc	0,21 (0,35)	0,15 (0,38)	0,083 (0,64)	DMF (20)	4	RP-B	13c	0,30
0,31 (0,50)	CH ₂ COOtBu	0,22 (0,55)	0,23 (0,60)	0,19 (1,50)	DCM (20)	4	SGC	13d	0,43
0,31 (0,50)	(CH ₂) ₂ COOtBu	0,23 (0,55)	0,23 (0,60)	0,19 (1,50)	DCM (20)	4	SGC	13e	0,42

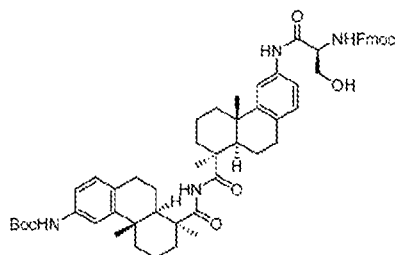
***N*-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-{[(*tert*-butoxi)carbonil]amino}-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil]carbamato de 9*H*-Fluoren-9-ilmetilo (13*a*)**



5

Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **13a-e**, el compuesto **13a** (0,14 g, 78 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI *m/z*: 907 (*M* + *H*)⁺.

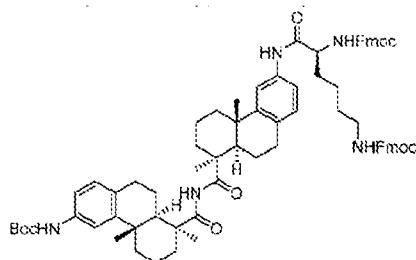
10 ***N*-{[(1*S*)-1-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-{[(*tert*-butoxi)carbonil]amino}-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietyl]carbamato de 9*H*-Fluoren-9-ilmetilo (13*b*)**



15

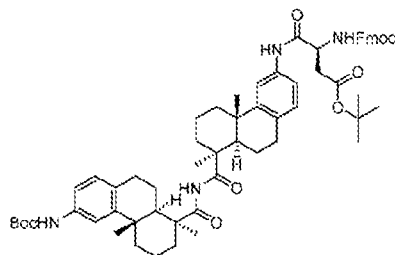
Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **13a-e**, el compuesto **13b** (0,39 g, 83 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI *m/z*: 938 (*M* + *H*)⁺.

20 ***N*-{[(5*S*)-5-{[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-{[(*tert*-butoxi)carbonil]amino}-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-5-1[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)pentil]carbamato de 9*H*-Fluoren-9-ilmetilo (13*c*)**



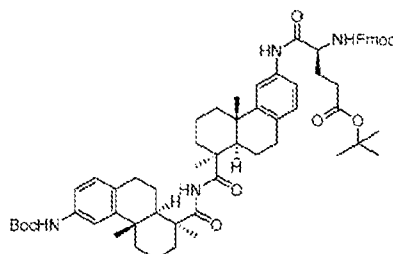
25 Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **13a-e**, el compuesto **13c** (0,30 g, 78 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI *m/z*: 1201 (*M* + *H*)⁺.

30 **3-(((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-4-((4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-4-oxobutanoato de (*S*)-*tert*-Butilo (13*d*)**



Seguendo el procedimiento general para los Intermedios **13a-e**, el compuesto **13d** (0,43 g, 85 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 1021 (M + H)⁺.

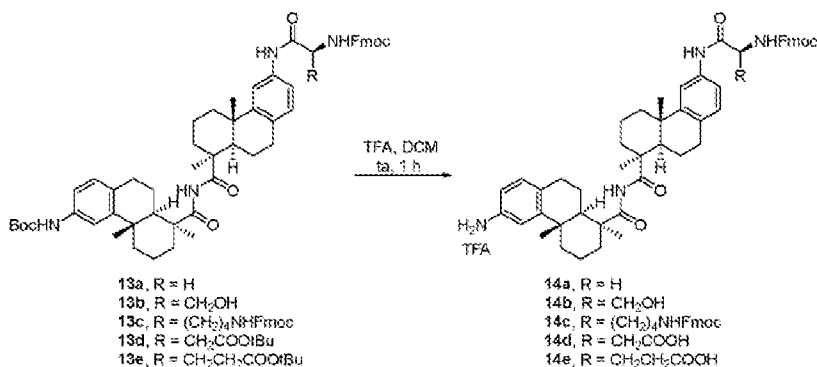
- 5 **4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-5-oxopentanoato de (S)-*tert*-Butilo (**13e**)**



- 10 Seguendo el procedimiento general para los Intermedios **13a-e**, el compuesto **13e** (0,42 g, 82 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 1036 (M + H)⁺.

Ejemplo 3b

- 15 **Intermedios 14a-e**



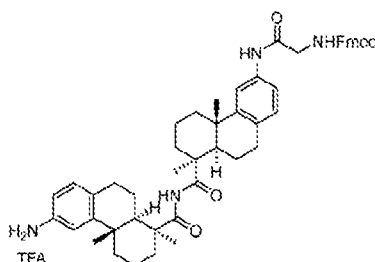
A una solución del compuesto **13** (1,0 equiv.) en DCM se añadió TFA a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora y se concentró al vacío para dar el producto bruto **14** como aceite incoloro, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

20

13			TFA (ml)	DCM (ml)	Producto bruto 14		
N.º	R	g (mmol)			N.º	R	g
13a	H	0,14 (0,16)	3	10	14a	H	0,13
13b	CH ₂ OH	0,10 (0,11)	3	10	14b	CH ₂ OH	0,09
13c	(CH ₂) ₄ NHFmoc	0,24 (0,20)	3	10	14c	(CH ₂) ₄ NHFmoc	0,22
13d	CH ₂ COOtBu	0,12 (0,12)	3	10	14d	CH ₂ COOH	0,10
13e	(CH ₂) ₂ COOtBu	0,10 (0,10)	3	20	14e	(CH ₂) ₂ COOH	0,08

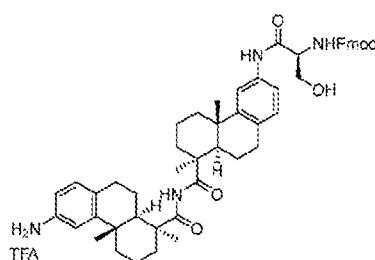
N-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il)]formamido)carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il)]carbamoil)metil)carbamato de 9H-Fluoren-9-ilmetilo, sal del ácido trifluoroacético (14a**)**

25



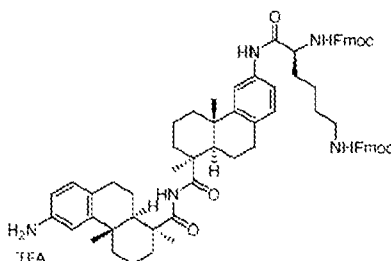
5 Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **14a-e**, el compuesto bruto **14a** (0,14 g, rendimiento del 99 %, sal TFA) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 807 (M + 1)⁺.

(S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-ilcarbamato de 9H-Fluoren-9-ilmetilo, sal del ácido trifluoroacético (14b)



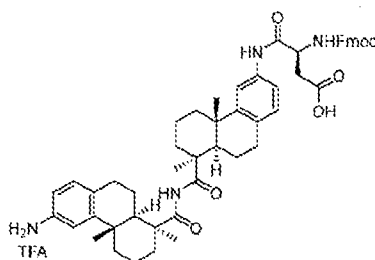
10 Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **14a-e**, el compuesto bruto **14b** (0,14 g, rendimiento del 99 %, sal TFA) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 837 (M + 1)⁺.

15 **N-[(5S)-5-(((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido)carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil)-5[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)pentil]carbamato de 9H-Fluoren-9-ilmetilo, sal del ácido trifluoroacético (14c)**



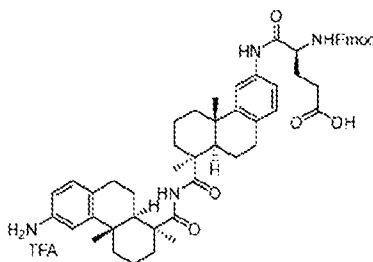
20 Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **14a-e**, el compuesto bruto **14c** (0,22 g, rendimiento del 92 %, sal TFA) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 1101 (M + 1)⁺.

25 **Ácido (S)-3-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-4-oxobutanoico, sal del ácido trifluoroacético (14d)**



30 Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **14a-e**, el compuesto bruto **14d** (0,10 g, rendimiento del 87 %, sal TFA) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 866 (M + 1)⁺.

Ácido (S)-4-(((9*H*-Fluoren-9-yl)metoxi)carbonilamino)-5-((4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-((1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-amino-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-5-oxopentanoico, sal del ácido trifluoroacético (**14e**)

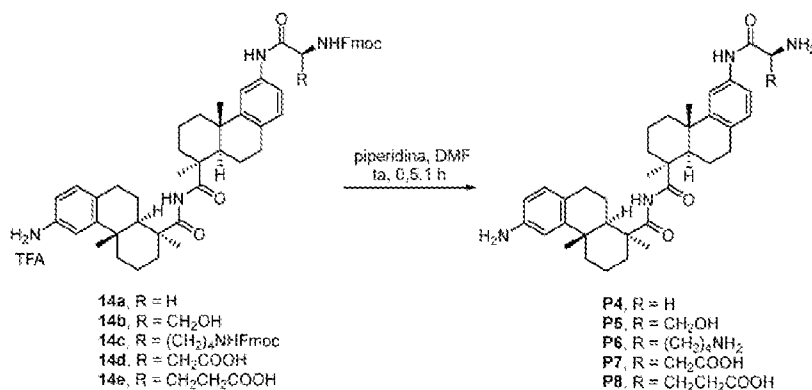


5

Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios **14a-e**, el compuesto bruto **14e** (84 mg, rendimiento del 86 %, sal TFA) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 880 (M + 1)⁺.

10 Ejemplo 3c

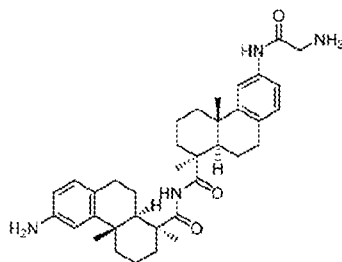
Cargas activas **P4-9**, **13**, **14** y **17**



15 A una solución de **14** bruto, obtenido anteriormente, en DMF se añadió piperidina. La mezcla se agitó a ta durante media hora, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar cargas activas. **P4-8** como sólidos blancos.

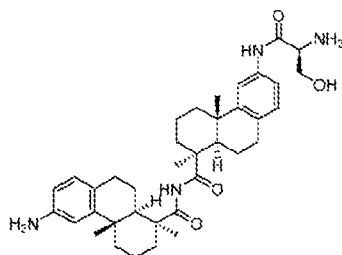
Crudo 14			DMF (ml)	Tiempo (horas)	purificación	Cargas activas P4-8		
N.º	R	g (mmol)				N.º	R	mg (Rendimiento)
14a	H	0,066 (0,073)	3	0,5	Prep.-B	P4	H	12 (28 %)
14b	CH ₂ OH	0,10 (0,11)	3	0,5	Prep.-B	P5	CH ₂ OH	41 (67 %)
14c	(CH ₂) ₄ NHFMoc	0,050 (0,045)	5	1	Prep.-B	P6	(CH ₂) ₄ NH ₂	5 (17 %)
14d	CH ₂ COOH	0,10 (0,12)	3	0,5	Prep.-B	P7	CH ₂ COOH	39 (51 %)
14e	(CH ₂) ₂ COOH	0,10 (0,12)	3	0,5	Prep.-B	P8	(CH ₂) ₂ COOH	44 (58 %)

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-(2-aminoacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P4)



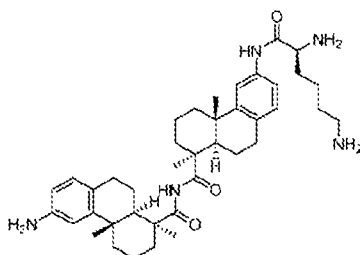
5 Siguiendo el procedimiento general para cargas activas **P4-8**, el compuesto **P4** (12 mg, 28 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 585 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,79 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 8,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 7,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 4,70 (m, 2H), 3,20 (s, 3H), 2,95-2,83 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 2H), 2,70-2,60 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,20-2,10 (m, 4H), 2,05-1,70 (m, 4H), 1,70-1,50 (m, 4H), 1,31-1,25 (m, 8H), 1,20-1,10 (m, 2H), 1,05 (d, J = 7,5 Hz, 6H) ppm.

15 **(1S,4aS,10aR)-6-Amino-N-[(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-amino-3-hidroxiopropanamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octadrohenantreno-1-carboxamida (P5)**



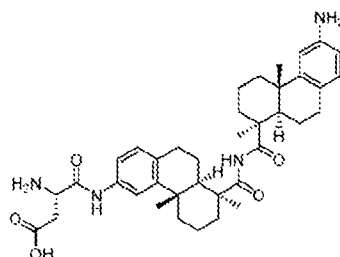
20 Siguiendo el procedimiento general para cargas activas **P4-8**, el compuesto **P5** (41 mg, 67 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 615 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,09 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 8,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 7,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 4,84-4,76 (m, 1H), 4,67 (s, 2H), 3,60-3,45 (m, 2H), 2,95-2,83 (m, 1H), 2,80-2,60 (m, 4H), 2,30-2,20 (m, 3H), 2,20-2,10 (m, 4H), 1,95-1,75 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 4H), 1,40-1,30 (m, 2H), 1,28 (s, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,20-1,10 (m, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,98 (s, 3H) ppm.

25 **(1S,4aS,10aR)-6-Amino-N-[(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2,6-diaminohexanamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octadrohenantreno-1-carboxamida (P6)**



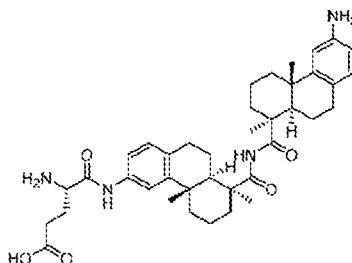
30 Siguiendo el procedimiento general para cargas activas **P4-8**, el compuesto **P6** (5 mg, 17 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 656 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,09 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 8,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 7,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 4,70 (m, 2H), 3,20 (s, 2H), 2,95-2,83 (m, 2H), 2,80-2,70 (m, 2H), 2,70-2,60 (m, 2H), 2,37-2,35 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 3H), 2,20-2,10 (m, 5H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,95-1,75 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 6H), 1,31-1,25 (m, 8H), 1,20-1,10 (m, 3H), 1,05 (d, J = 7,5 Hz, 6H), 0,85 (t, J = 6,0 Hz, 1H) ppm.

40 **Ácido (S)-3-Amino-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-4-oxobutanoico (P7)**



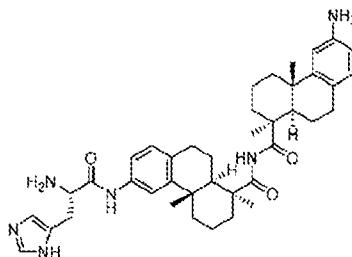
Seguendo el procedimiento general para cargas activas **P4-8**, el compuesto **P7** (39 mg, 51 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 643 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10,5-10,0 (s a, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 8,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 7,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 4,84-4,50 (m, 2H), 3,75-3,68 (m, 2H), 2,95-2,83 (m, 1H), 2,80-2,60 (m, 4H), 2,40-2,20 (m, 4H), 2,20-2,10 (m, 5H), 1,95-1,70 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 5H), 1,27 (d, J = 7,5 Hz, 6H), 1,20-1,10 (m, 2H), 1,01 (s, 3H), 0,98 (s, 3H) ppm.

Ácido (S)-4-amino-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-5-oxopentanoico (P8)



Seguendo el procedimiento general para cargas activas **P4-8**, el compuesto **P8** (44 mg, 58 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 657 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8,09 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,41 (dd, J = 8,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 7,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 4,70 (m, 2H), 2,95-2,83 (m, 1H), 2,80-2,60 (m, 5H), 2,30-2,20 (m, 4H), 2,20-2,10 (m, 5H), 1,95-1,75 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 5H), 1,50-1,40 (m, 4H), 1,27 (d, J = 7,5 Hz, 6H), 1,20-1,10 (m, 2H), 1,01 (s, 3H), 0,98 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-6-amino-N-((1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-amino-3-(1H-imidazol-4-il)propanamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P9)

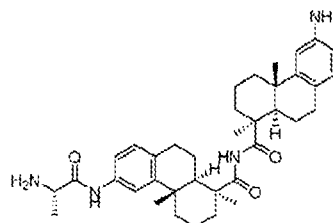


A una solución de Fmoc-His-OH (0,38 g, 1,0 mmol) en DCM (5 ml) se le añadieron Fmoc-OSu (0,37 g, 1,1 mmol) y DIPEA (0,26 g, 2,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (metanol al 5-10 % en DCM) para dar Fmoc-His(Fmoc)-OH (0,50 g, rendimiento del 84 %, ESI m/z: 600 (M + 1)⁺) en forma de un sólido de color blanco.

A una solución de compuesto **12b** (0,31 g, 0,50 mmol) en DCM (20 ml) se añadió el Fmoc-His(Fmoc)-OH (0,33 g, 0,55 mmol), obtenido anteriormente, HATU (0,23 g, 0,60 mmol) y DIPEA (0,19 g, 1,5 mmol) sucesivamente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, que se monitorizó mediante LCMS. A la mezcla de reacción se le añadió piperidina (0,5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó totalmente el Fmo, según lo controlado mediante LCMS. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (50-80 % de acetonitrilo en agua) para dar **Boc-P9** (0,15 g) como un sólido blanco, la mitad del cual se disolvió en DCM (20 ml). A la solución se le añadió TFA (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó Boc según LCMS. Los volátiles se eliminaron al

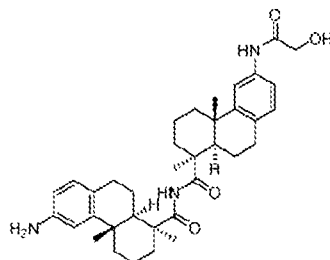
vacío y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (método B) para dar el **compuesto P9** (17 mg, rendimiento del 12 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 665 (M + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 11,82 (s, 1H), 9,75 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,52-7,50 (m, 2H), 7,41 (dd, J = 8,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,90-6,80 (m, 1H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 6,34 (dd, J = 7,5 Hz, 1,5 Hz, 1H), 4,84-4,50 (m, 2H), 3,60-3,45 (m, 2H), 2,95-2,83 (m, 2H), 2,80-2,70 (m, 2H), 2,70-2,60 (m, 2H), 2,40-2,10 (m, 8H), 1,95-1,70 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 4H), 1,27 (d, J = 7,5 Hz, 6H), 1,20-1,10 (m, 2H), 1,01 (s, 3H), 0,98 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-[(2S)-2-aminopropanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P13)



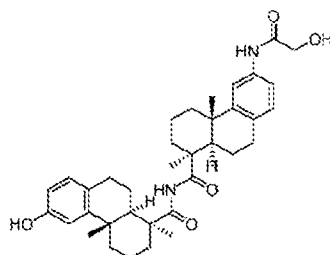
Si siguiendo el mismo procedimiento que **P9**, excepto sustituir Fmoc-Ala-OH por Fmoc-His(Fmoc)-OH, el compuesto **P13** (12 mg, 59 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,85 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,54-7,51 (m, 1H), 7,41-7,39 (m, 1H), 6,95 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 6,35-6,32 (m, 1H), 4,69 (s, 2H), 3,58-3,41 (m, 3H), 2,91-2,61 (m, 4H), 2,26-2,14 (m, 6H), 1,91-1,78 (m, 4H), 1,66-1,55 (m, 4H), 1,33-1,08 (m, 13H), 1,00 (s, 3H), 0,98 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-(2-hidroxiacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P14)



A una mezcla de ácido glicólico (2,2 mg, 29 μmol) y HATU (18,2 mg, 48 μmol) en DMF (2,0 ml) se le añadió DIPEA (12 μl, 72 μmol) y el compuesto **12b** (15 mg, 24 μmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar **Boc-P14**, que se disolvió en DCM (2 ml). A la solución se añadió TFA (0,5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que Boc se eliminó por completo, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (método B) para dar la carga activa **P14** (4,3 mg, rendimiento del 31 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 686,5 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,46 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 7,59 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,49 (dd, J = 8,3, 1,9 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,47 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,33 (dd, J = 8,1, 2,1 Hz, 1H), 5,65 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,70 (s, 2H), 3,94 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,93-2,85 (m, 1H), 2,80-2,72 (m, 2H), 2,71-2,63 (m, 1H), 2,34-2,08 (m, 6H), 1,94-1,76 (m, 4H), 1,68-1,52 (m, 4H), 1,35-1,23 (m, 8H), 1,19-1,10 (m, 2H), 0,99 (d, J = 8,1 Hz, 6H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-(2-hidroxiacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P17)



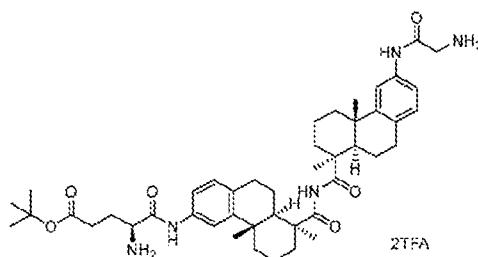
A una solución de carga activa P1 (10 mg, 0,019 mmol) en DMF (2 ml) se le añadieron HATU (14 mg, 0,038 mmol) y

DIPEA (9,8 mg, 0,076 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la adición de ácido glicólico (1,73 mg, 0,0228 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar la **P17** (5,7 mg, rendimiento del 51 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 587,4 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,46 (s, 1H), 9,00 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,53-7,45 (m, 1H), 6,96 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,82 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,63 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,50 (dd, *J* = 8,2, 2,4 Hz, 1H), 5,64 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,94 (d, *J* = 5,9 Hz, 2H), 2,93-2,66 (m, 4H), 2,29-2,10 (m, 6H), 2,00-1,80 (m, 4H), 1,72-1,50 (m, 4H), 1,30-0,90 (m, 16H) ppm.

EJEMPLO 4

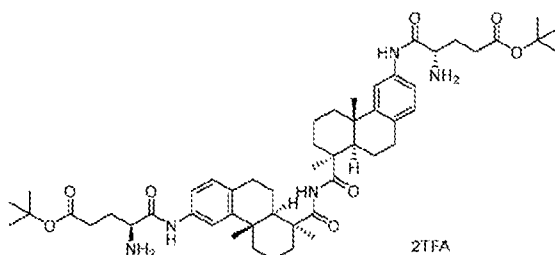
Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis de los derivados del ácido podocárpico. **P10** y **P11** en la Tabla 1, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados desde **14a**, **15a-b**, y **P10** y **P11** en la Figura 2B.

4-amino-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(2-aminoacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-5-oxopentanoato de (S)-terc-butilo, sal del ácido ditrifluoroacético (15a)



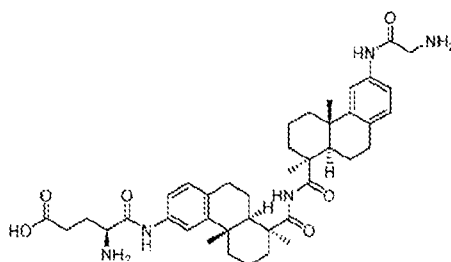
A una solución de Fmoc-Glu(OtBu)-OH (74 mg, 0,17 mmol) y DIPEA (55 µl, 0,32 mmol) en DMF (5,0 ml) se le añadió HATU (91 mg, 0,24 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la adición del compuesto **14a** (0,14 g, 0,16 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, que se monitorizó mediante LCMS. Después se añadió gota a gota piperidina (1 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó totalmente Fmoc según LCMS. La mezcla resultante se separó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)) para dar el compuesto **15a** (0,13 g, rendimiento del 80 %) como un sólido amarillo. ESI m/z: 770,5 (M + 1)⁺.

5,5'-((4bS,4b'S,8S,8aR,8'S,8a'R)-8,8'-((azanodiilbis(oxometileno))bis(4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantreno-8,3-diil)bis(azanodiil)bis(4-amino-5-oxopentanoato) de (4S,4'S)-terc-butilo sal de ácido ditrifluoroacético (15b)



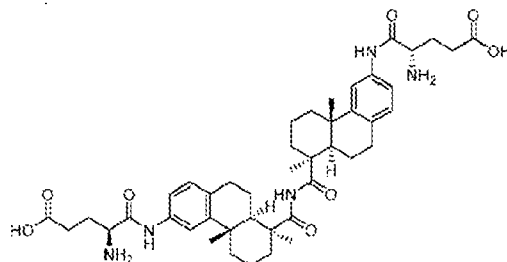
A una solución de Fmoc-Glu(OtBu)-OH (0,15 g, 0,35 mmol) y DIPEA (83 µl, 0,48 mmol) en DMF (5,0 ml) se le añadió HATU (0,15 g, 0,40 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min antes de la adición del compuesto **P2** (0,10 g, 0,16 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, que se monitorizó mediante LCMS. Después se añadió gota a gota piperidina (1 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que se eliminó totalmente Fmoc según LCMS. La mezcla resultante se separó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)) para dar el compuesto **15b** (0,14 g, rendimiento del 78 %) como un sólido amarillo. ESI m/z: 899 (M + 1)⁺.

Ácido (S)-4-Amino-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(2-aminoacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-5-oxopentanoico (P10)



Una mezcla de los compuestos **15a** (0,13 g, 0,13 mmol) en TFA puro (2,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una hora, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 ml) y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de sodio acuoso (10 mM)) para dar **P10** (20 mg, rendimiento del 22 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 358 ($M/2 + 1$)⁺; 714,5 ($M + 1$)⁺. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,85 (s a, 1H), 8,12 (s, 1H), 7,51 (s, 2H), 7,42-7,36 (m, 2H), 6,96 (dd, *J* = 8,0 Hz y 3,0 Hz, 2H), 3,67 (s a, 8H), 3,36-3,33 (m, 1H), 3,22 (s, 2H), 2,91-2,87 (m, 2H), 2,80-2,71 (m, 2H), 2,31-2,28 (m, 4H), 2,17-2,14 (m, 4H), 1,91-1,82 (m, 5H), 1,69-1,58 (m, 5H), 1,34-1,23 (m, 6H), 1,19-1,12 (m, 2H), 1,01 (s, 6H) ppm.

Ácido (4S,4'S)-5,5'-(4bS,4b'S,8S,8aR,8'S,8a'R)-8,8'-(azanodiilbis(oxometileno))bis(4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantreno-8,3-diil)bis(azanodiil)bis(4-amino-5-oxopentanoico) (P11)

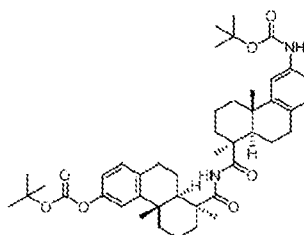


Una mezcla del compuesto **15b** (0,14 g, 0,14 mmol) en TFA puro (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una hora, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (30 ml) y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de sodio acuoso (10 mM)) para dar **P11** (20 mg, rendimiento del 18 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 394 ($M/2 + 1$)⁺. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,85 (s a, 2H), 8,12 (s, 1H), 7,51 (s, 2H), 7,9 (dd, *J* = 8,4 Hz y 1,6 Hz, 2H), 6,97 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,5 (s a, 6H), 3,40-3,37 (m, 2H), 3,16 (s, 1H), 2,91-2,88 (m, 2H), 2,79-2,66 (m, 2H), 2,33-2,29 (m, 7H), 2,18-2,15 (m, 4H), 1,91-1,84 (m, 6H), 1,71-1,59 (m, 6H), 1,35-1,23 (m, 6H), 1,18-1,12 (m, 2H), 1,01 (s, 6H) ppm.

Ejemplo 4a

Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis del derivado del ácido podocárpico. **P19** en la Tabla 1, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos de la Figura 2C.

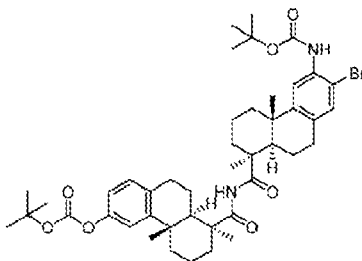
(4bS,8S,8aR)-8-[(1S,4aS,10aR)-6-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil[carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantreno-3-ilcarbonato de *tert*-butilo (16)



A una mezcla de carga activa **P1** (0,10 g, 0,19 mmol) en *tert*-butanol (2 ml), carbonato de potasio (78 mg, 0,57 mmol) y anhídrido de Boc (0,12 g, 0,57 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 3 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante luego se enfrió y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM (100 ml) y la solución se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío para dar el producto bruto **16** (0,14 g, bruto) como un sólido blanco, que se usó en la siguiente

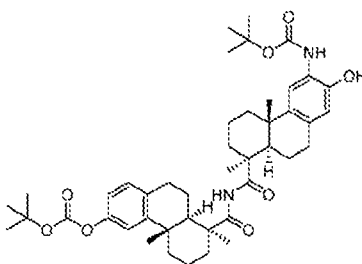
etapa sin purificación adicional. ESI m/z: 729,4 (M + 1)⁺.

(4bS,8S,8aR)-8-1[(1S,4aS,10aR)-7-bromo-6-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbonato de *tert*-butilo (17)



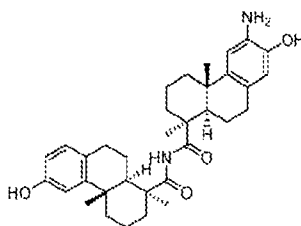
A una solución de compuesto bruto **16** (0,14 g, obtenido anteriormente) en DMF (4 ml) se le añadió NBS (50 mg, 0,28 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)) para dar el compuesto **17** (40 mg, rendimiento del 26 % en 2 etapas) como un sólido amarillo. ESI m/z: 807,3 (M + 1)⁺.

(4bS,8S,8aR)-8-1[(1S,4aS,10aR)-6-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino)-7-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbonato de *tert*-butilo (19)



Una mezcla de compuestos **17** (40 mg, 50 μmol), acetato de potasio (12 mg, 0,12 mmol) y bis(pinacolato)diboro **18** (50 mg, 0,20 mmol) en dioxano seco (5 ml) se desgasificó y se purgó con nitrógeno 3 veces. A la mezcla se le añadió Pd(dppf)Cl₂ (1,8 mg, 2,5 μmol) en atmósfera de nitrógeno. La suspensión resultante se agitó a 90 °C en una atmósfera de nitrógeno durante media hora, que se monitorizó mediante LCMS. Luego se enfrió la mezcla a temperatura ambiente y se filtró a través de Celite. Al filtrado se le añadió peróxido de hidrógeno (30 % ac., 2,0 ml) gota a gota durante 10 minutos a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante otra media hora, que se monitorizó mediante LCMS. Luego, la mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en TFA ac. (0,01 %)) para dar el compuesto bruto **19** (35 mg, 50 % de pureza, 95 % de rendimiento bruto) como un sólido amarillo, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESI m/z: 745,5 (M + 1)⁺.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-amino-7-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P19)



A una solución de compuesto bruto **19** (35 mg, obtenido anteriormente) en DCM (5 ml) se añadió gota a gota TFA (2 ml) a 0 °C durante 5 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante media hora hasta que Boc se eliminó por completo, que se monitorizó mediante LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío y el resto se purificó mediante HPLC preparativa (método A) para obtener la carga activa **P19** (6,5 mg, 24 % de rendimiento del compuesto **17**) como un sólido blanquecino. ESI m/z: 545,3 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,03 (s, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 6,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,62 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,49 (dd, J = 8,4, 2,8 Hz, 1H), 6,47 (s, 1H),

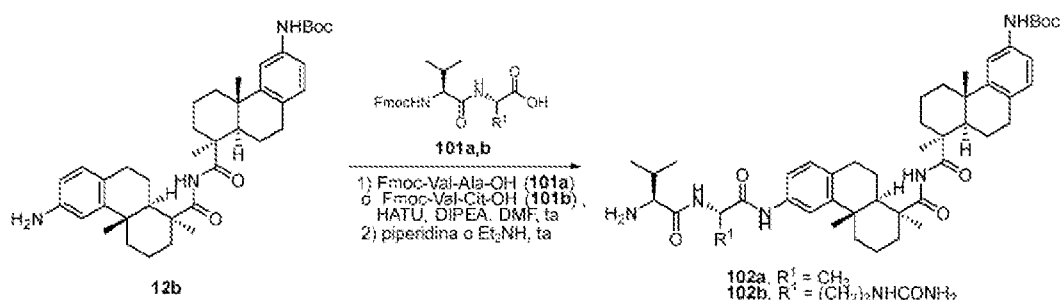
6,27 (s, 1H), 4,21 (s, 2H), 2,84-2,80 (m, 1H), 2,73-2,57 (m, 3H), 2,25-2,19 (m, 2H), 2,15-2,08 (m, 4H), 1,89-1,77 (m, 4H), 1,62-1,54 (m, 4H), 1,30 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 1,31-1,20 (m, 2H), 1,14-1,10 (m, 2H), 0,98 (s, 3H), 0,94 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 5

Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis del enlazador-cargas activas **LP1-LP5**, y **LP20** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **12b** y de **102a-b** a **106a-e** y enlazador-cargas activas **LP1-LP5** en la Figura 3.

10 Ejemplo 5a

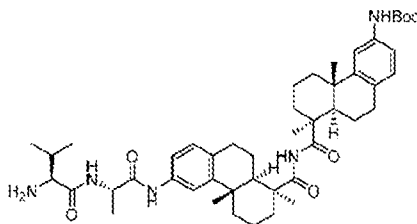
Intermedios 102a-b



- 15 A una solución de ácido (Fmoc-Val-Ala-OH (**101a**, 1,2 equivalentes) o Fmoc-Val-Cit-OH (**101b**, 1,2 equiv.) en DMF se añadieron HATU (1,2 equiv.) y DIPEA (2,0-3,0 equiv.) a temperatura ambiente. Después de que la mezcla se agitate a temperatura ambiente durante 5 minutos, se añadió compuesto **12b** (1,0 equiv.). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4-20 h hasta que la amina se consumió según LCMS. Luego se añadió a la mezcla piperidina (exceso) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1-6 h hasta que se eliminó totalmente el Fmoc, según lo controlado mediante LCMS. La mezcla de reacción se filtró a través de una membrana y el filtrado se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) o cromatografía ultrarrápida de fase inversa para dar el compuesto **102** (38-72 % de rendimiento) como un sólido blanco.
- 20

Amina g (mmol)	Ácido g (mmol)	Etapa 1				Etapa 2		Purificación	Producto	
		HATU g (mmol)	DIPEA g (mmol)	DMF (ml)	Tiempo (h)	Piperidina (ml)	Tiempo (h)		N.º	g (rendimiento)
12b	0,31 (0,50)	0,23 (0,60)	0,19 (1,5)	20	4	0,5	1	RP	102a	0,29 (72 %)
12b	0,50 (0,80)	0,36 (0,96)	0,28 ml (1,6)	6	20	0,5	6	Prep.-B	102b	0,27 (38 %)

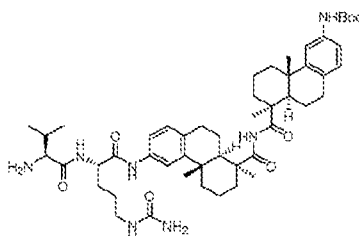
***N*-[[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-amino-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]carbonilcarbamoil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *terc*-butilo (102*a*)**



5

Seguendo el procedimiento general para los Intermedios 102*a,b*, el compuesto **102*a*** (0,29 g, 72 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI *m/z*: 799 (*M* + 1)⁺.

10 ***N*-[[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]carbonil}carbamoil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *terc*-butilo (102*b*)**



15

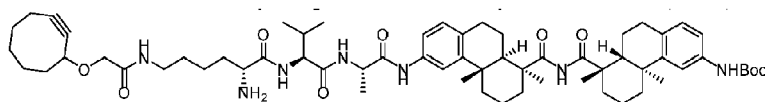
Seguendo el procedimiento general para los Intermedios 102*a,b*, el compuesto **102*b*** (0,27 g, 38 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI *m/z*: 885 (*M* + 1)⁺.

Ejemplo 5b

20

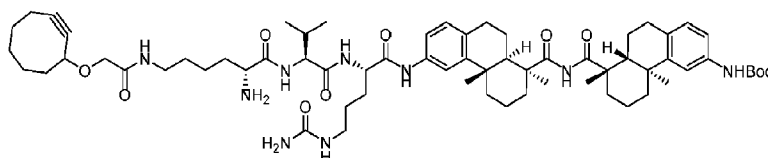
Intermedios 104*a-b*

25 ***N*-[[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-amino-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]hexanamido]-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]carbonil}carbamoil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *terc*-Butilo (104*a*)**



30 A una solución de compuesto **103** (70 mg, 0,13 mmol) en DMF (2 ml) se añadieron HATU (68 mg, 0,18 mmol) y DIPEA (44 µl, 0,24 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos antes de la adición del compuesto **102*a*** (95 mg, 0,12 mmol). Luego la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que el compuesto **102*a*** estaba totalmente consumido, según lo controlado mediante LCMS. Después se añadió piperidina (0,5 ml, exceso) a la mezcla de reacción. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2
35 horas. A continuación, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **104*a*** (0,13 g, rendimiento del 96 %) como un sólido blanco. ESI *m/z*: 518,0 ((*M*-55)/2)⁺.

40 ***N*-[[(4*bS*,8*S*,8*aR*)-8-{{{[(1*S*,4*aS*,10*aR*)-6-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-amino-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]hexanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]-1,4*a*-dimetil-1,2,3,4,4*a*,9,10,10*a*-octahidrofenantren-1-il]carbonilcarbamoil)-4*b*,8-dimetil-4*b*,5,6,7,8,8*a*,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *terc*-butilo (104*b*)**



A una solución de compuesto **103** (0,27 g, 0,31 mmol) y DIPEA (0,11 ml, 0,61 mmol) en DMF (6 ml) se añadió el compuesto **102b** (0,18 g, 0,34 mmol) seguido de la adición de HATU (0,14 g, 0,37 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La solución resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa para dar el compuesto **Fmoc-104b** (0,30 g, ESI m/z: 711 ((M + Na)/2 + 1)⁺) como un sólido amarillo pálido, que se disolvió en DCM (6,0 ml). A la solución se le añadió piperidina (0,5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que Fmoc se eliminó totalmente según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se trituró con éter de petróleo para dar el compuesto **104b** (0,26 g, rendimiento del 65 %) como un sólido amarillo claro. ESI m/z: 1177,6 (M + H)⁺.

Ejemplo 5c

Intermedios 105a-c

El intermedio azido α -CD-N₃ (**105a**) se sintetizó según J. Am. Chem. Soc., 2012, 134(46), 19108-19117 (FIG. 10).

Ácido azido-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azaoctadecano-18-sulfónico (**105b**) (Figura 11)

A una solución de 1-azido-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (N₃-PEG₄-OSu, 0,10 g, 0,26 mmol) y taurina **105b-A** (39 mg, 0,31 mmol) en DMF anhidra (4 ml) se añadió DIPEA (15 mg, 0,52 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y la solución se purificó mediante HPLC preparativa (método A) para dar el intermedio **105b** (0,80 g, rendimiento 78 %) como un aceite incoloro. ESI m/z: 399,1 (M + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, D₂O) δ 3,69 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,64-3,59 (m, 14H), 3,49 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,41 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 3,00 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,45 (t, J = 6,0 Hz, 2H) ppm.

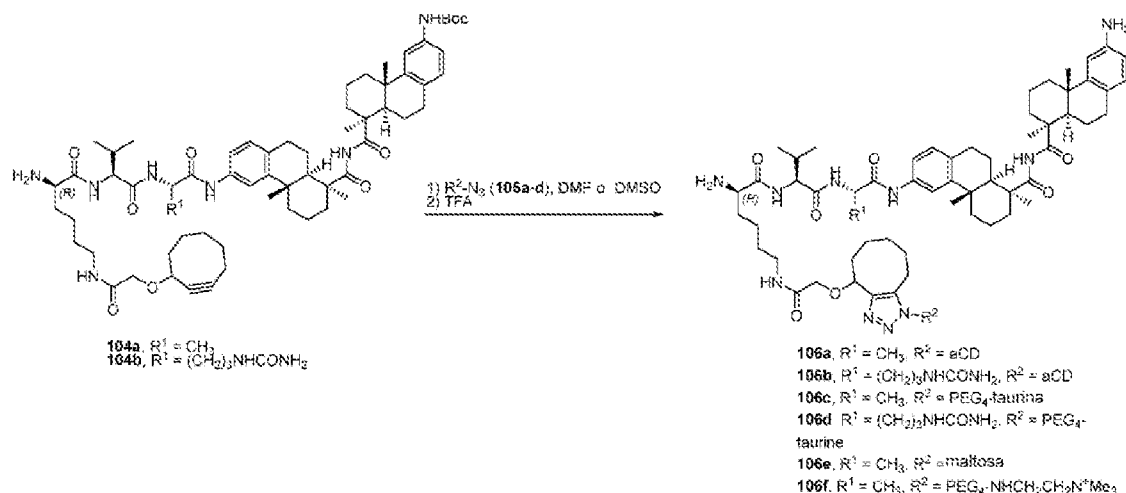
Cloruro de [2-(1-azido-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido)etil]trimetilazanio (**105d**)

Siguiendo un procedimiento similar para **105b** anterior, excepto sustituir **105d-A** para **105b-A**, se obtuvo cloruro de trimetilamonio **105d** (0,13 g, rendimiento del 64 %) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 376 (M + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3,65-3,58 (m, 4H), 3,58-3,45 (m, 16H), 3,45-3,30 (m, 12H), 2,35 (t, J = 6,5 Hz, 2H) ppm.

El intermedio azido maltosa-N₃ (**105c**) se sintetizó según Tetrahedron Letters, 2001, 42 (7), 1325-1328 (FIG. 12).

Ejemplo 5d

Intermedios 106a-f

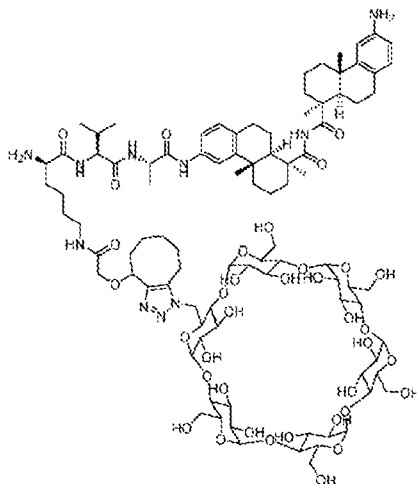


A una solución del compuesto **104** en DMF se le añadió el intermedio azido **105** a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3-48 h hasta que el análisis por LCMS mostró que la reacción se ha completado. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC preparativa para dar el compuesto **Boc-106** en forma de un sólido blanco, que se disolvió en solución de TFA (o TFA puro). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 0,5-20 horas hasta que se eliminó Boc según LCMS. La solución se concentró para dar **106** (como la sal de TFA).

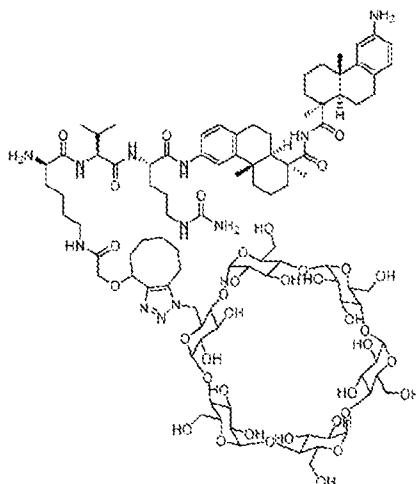
Alquino g (mmol)		Azida g (mmol)		Etapas 1				Etapas 2			Producto	
				DMF (ml)	T (°C)	Tiempo (h)	Purificación	TFA (ml)	Disolvente (ml)	Tiempo (h)	N.º	g (rendimiento)
104a	0,050 (0,045)	105a	0,11 (0,12)	4	TA	48	RP-A	1	DCM (3 ml)	1	106a	0,019* (69 %)
104b	0,050 (0,042)	105a	0,085 (0,085)	4	TA	20	RP	2	/	0,5	106b	0,076 (87 %)
104a	0,17 (0,16)	105b	0,12 (0,31)	6	TA	20	RP-A	2	/	1	106c	0,090 (39 %)
104b	0,050 (0,042)	105b	0,034 (0,084)	2	TA	3	RP	1	MeOH (2 ml)	20	106d	0,022 (36 %)
104a	0,035 (0,032)	105c	0,024 (0,064)	DMSO 5 ml	TA	4	RP	3	/	2	106e	0,034 (77 %)
104a	0,035 (0,032)	105d	0,026 (0,064)	4	TA	20	RP	1	DCM (9 ml)	2	106f	0,020 (42 %)

*no todo **Boc-106a** se usó para de-Boc.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-Amino-1,4a-dimetil-2,3,4,9,10,10a-hexahidrofenantreno-1-carbonil]-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentaquis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4a-dimetil-2,3,4,9,10,10a-hexahidrofenantreno-1-carboxamida sal de ácido trifluoroacético (106a)

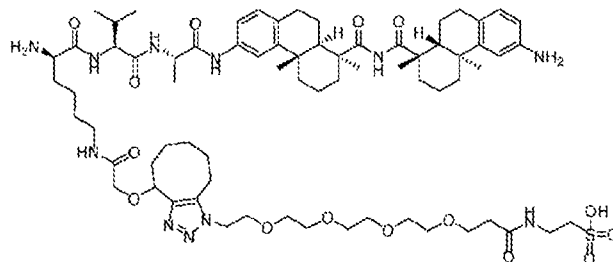


- 10 Siguiendo el procedimiento general para los Intermedios 106a-e, el compuesto **Boc-106a** (72 mg, 76 % de rendimiento, como una mezcla de regioisómeros de triazol) se obtuvo como un sólido blanco (ESI m/z: 1045 (M/2 + 1)⁺). Se pudo obtener una pequeña cantidad del isómero principal puro (7 mg) después de una purificación adicional mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-60 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)), que fue determinado por RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) ((con regioisómeros) δ 9,92 (s, 0,5H), 9,82 (s, 0,5H), 9,10 (s, 1H), 8,58-8,53 (m, 1H), 8,50-8,35 (m, 1H), 8,12 (s, 1H), 8,04 (s, 3H), 7,88-7,82 (m, 1H), 7,55 (s, 0,5H), 7,46 (s, 0,5H), 7,41 (s, 1H), 7,40-7,26 (m, 1H), 7,14 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,51 (a, 12H), 4,83-4,70 (m, 8H), 4,57-4,51 (m, 3H), 4,44-4,36 (m, 4H), 4,00-3,98 (m, 1H), 3,88-3,55 (m, 27H), 3,26-3,09 (m, 6H), 2,91-2,85 (m, 4H), 2,76-2,63 (m, 3H), 2,29-2,25 (m, 2H), 2,17-1,99 (m, 4H), 1,96-1,93 (m, 6H), 1,88-1,63 (m, 9H), 1,56-1,54 (m, 15H), 1,33-1,28 (m, 15H), 1,18-1,13 (m, 3H), 1,01-0,99 (m, 6H), 0,89-0,83 (m, 7H) ppm). A una mezcla de **Boc-106a** (como una mezcla de regioisómeros) (20 mg, 9,6 μmol) en DCM (3 ml) se añadió TFA (1 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó Boc, según lo controlado mediante LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío para dar el compuesto **106a** (19 mg, 69 % de rendimiento de **104a**) como un sólido de color amarillo pálido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESI m/z: 995 (M/2 + 1)⁺.
- 25 (1S,4aS,10R)-N-[(1S,4aS,10R)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Amino-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentaquis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3, 4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]carbonil]-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carboxamida sal del ácido trifluoroacético (106b)



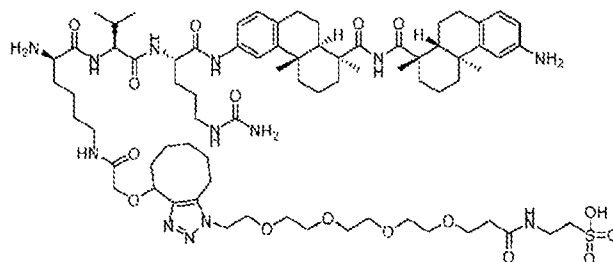
Seguendo el procedimiento general para los Intermedios 106a-e, el compuesto 106b (76 mg, 87 % de rendimiento a partir de **104b**) se obtuvo como un sólido amarillo. ESI m/z: 692 (M/3 + 1)⁺.

Ácido 1-(4-(2-(((R)-5-Amino-6-(((S)-1-(((S)-1-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)carbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il)amino)-1-oxopropan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-6-oxohexil)amino) -2-oxoetoxi)-4,5,6,7,8,9-hexahidro-1H-Ácido cicloocta[d][1,2,3]triazol-1-il)-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azaoctadecano-18-sulfónico (106c)



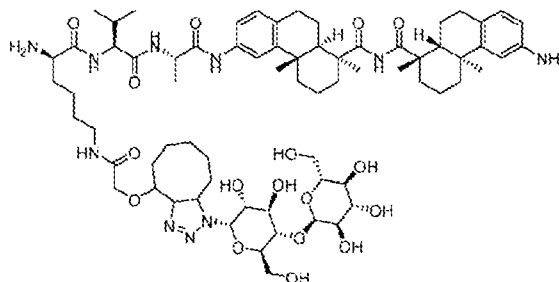
Seguendo el procedimiento general para los Intermedios 106a-e, el compuesto 106c (90 mg, 39 % de rendimiento a partir de **104c**) se obtuvo como un sólido amarillo. ESI m/z: 463,8 (M/3 + 1)⁺.

Ácido 1-(4-(((6S,9S,12R)-1,12-Diamino-6-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)carbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il)carbamoil)-9-isopropil-1,8,11,18-tetraoxo-2,7,10,17-tetraazanonadecan-19-il)oxi)-4,5,6,7,8,9-hexahidro-1H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-1-il)-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azaoctadecano-18-sulfónico (106d)



Seguendo el procedimiento general para los Intermedios 106a-e, el compuesto 106d como su sal de TFA (22 mg, 36 % de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco después de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-80 % de acetonitrilo en agua durante 25 minutos). ESI m/z: 788 (M/2 + H)⁺.

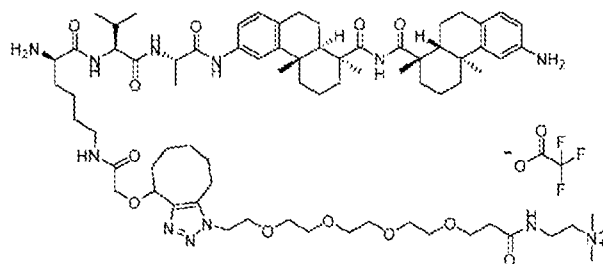
(1S,4aS,10aR)-6-Amino-N-((1S,4aS,1aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-amino-6-(2-((1-((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4-dihidroxi-6-(hidroximetil)-5-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)-3a,4,5,6,7,8,9,9a-octahidro-1H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi)acetamido)hexanamido)-3-metilbutanamido)propanamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (106e)



Seguendo el procedimiento general para los Intermedios 106a-e, el compuesto **106e** como su sal de TFA (34 mg, 77 % de rendimiento) se obtuvo como un aceite incoloro. ESI m/z: 1358 (M + H)⁺.

Trifluoroacetato de (2-{1-[4-(((5R)-5-Amino-5-(((1S)-1-(((1S)-1-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido)carbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil)etil]carbamoil)-2-metilpropil]carbamoil}pentil]carbamoil}metoxi)-

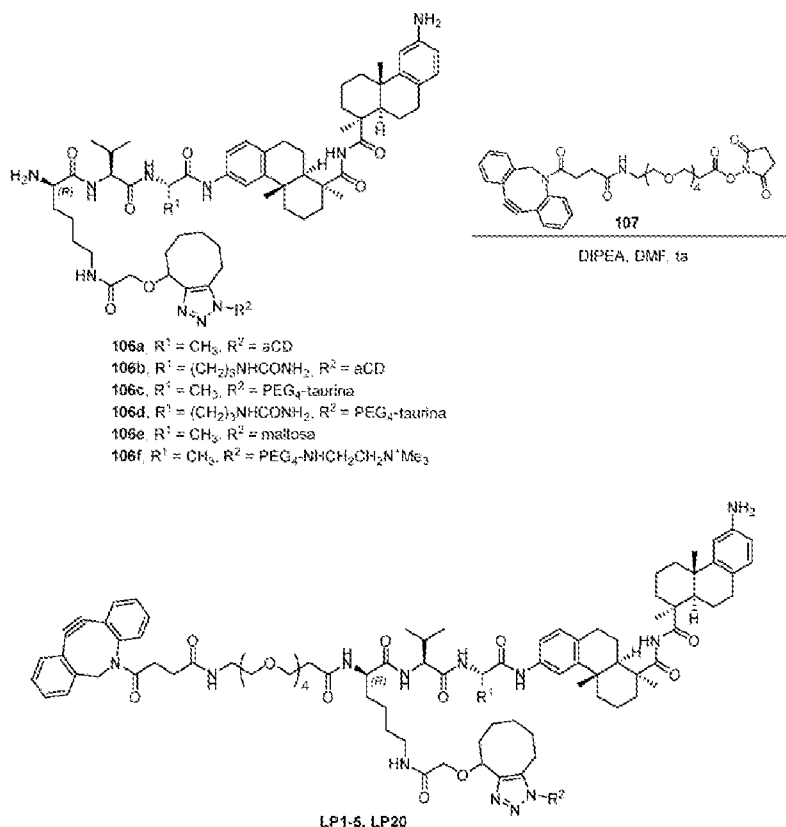
1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d] [1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etil)trimetilazanio (1061)



5 Siguiendo el procedimiento general, el compuesto 106f (20 mg, 42 % de rendimiento a partir de **104a**) se obtuvo como un sólido blanco. ESI m/z: 455,8 (M/3)⁺.

Ejemplo 5e

Enlazador-cargas activas LP1-LP5 y LP20



15 A una solución de compuesto. **106** en DMF se añadió el compuesto DIBAC-PEG₄-NHS **107** y DIPEA a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) o cromatografía ultrarrápida de fase inversa (método B) para dar el compuesto **LP1-5** y **LP20**.

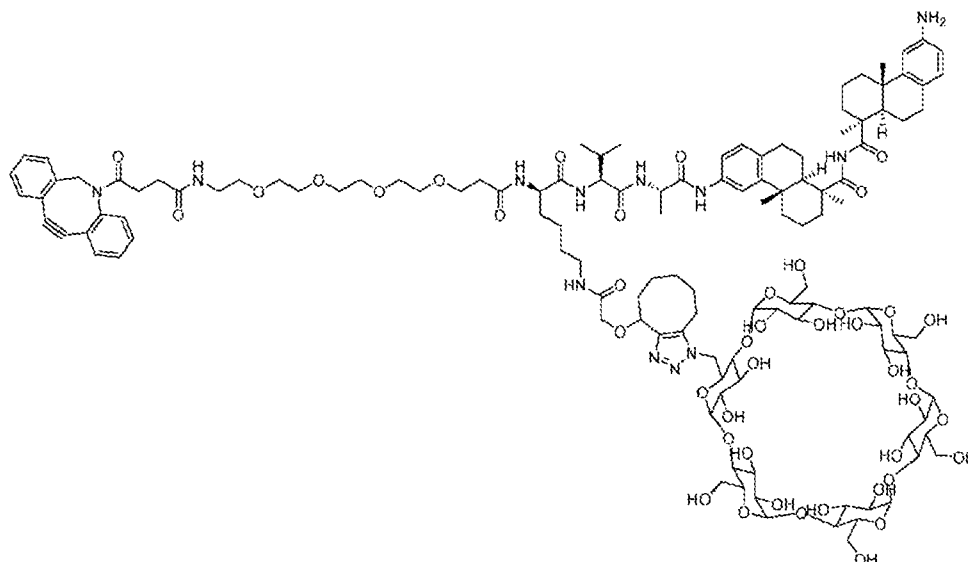
Amina 106		Éster de NHS 107 mg (μmol)	DIPEA (mmol)	DMF (ml)	Tiempo (h)	Purificación	Producto LP	
N.º	mg (μmol)						N.º	mg (rendimiento)
106a	19 (8,7)	7,0 (11)	4,0 mg (0,031)	1,5	1,5	RP-B (dos veces)	LP1	8 (36 %)*
106b	76 (37)	24 (37)	12 μl (0,073)	5	1,5	Preparatoria B (dos veces)	LP2	20 (21 %)

(continuación)

Amina 106		Éster de NHS 107 mg (μmol)	DIPEA (mmol)	DMF (ml)	Tiempo (h)	Purificación	Producto LP	
N.º	mg (μmol)						N.º	mg (rendimiento)
106c	90 (65)	39 (60)	0,02 ml (0,12)	5	1,5	Prep.-B	LP3	60 (52 %)
106d	22 (15)	9,7 (15)	5 μl (0,030)	2	1,5	Prep.-B	LP4	6 (20 %)
106e	40 (29)	23 (35)	7,6 mg (59)	5	4	Prep.-B	LP5	15 (27 %)
106f	22 (15)	9,7 (15)	5 μl (0,030)	2	1,5	RP	LP20	7 (24 %)

*Se reciclaron 7 mg de compuesto **106a** como base libre.

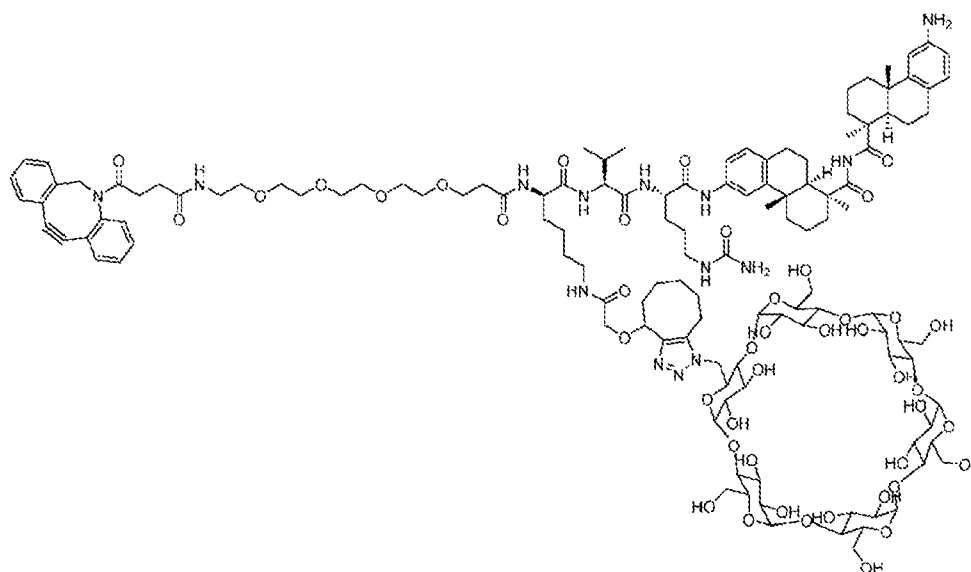
1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-
 5-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-2,3,4,9,10,10a-hexahidrofenantreno-1-
 carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-5,6,7,8a,9,10-hexahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-
 metilpropil]carbamoil]-5-{2-[(1-[[[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-
 pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-
 10-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2<sup>3,6,28,11,213,16,218,21,223,26]
 cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il]oxi]acetamido}pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (LP1)</sup>



Seguendo el procedimiento general para enlazador-cargas activas LP1-5, enlazador-carga activa LP1 (8 mg, rendimiento del 36 %) se obtuvo como un sólido blanco. ESI m/z: 842 (M/3 + 1)⁺; 1262 (M/2 + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,69 (s, 0,5H), 9,28 (s, 0,5H), 8,20-8,00 (m, 5H), 7,81-7,75 (m, 2H), 7,66 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,60 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,53-7,27 (m, 9H), 6,96-6,92 (m, 1H), 6,67 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,32 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,57-5,47 (m, 14H), 5,13-4,99 (m, 2H), 4,81-4,68 (m, 11H), 4,59-4,52 (m, 5H), 4,36-4,29 (m, 3H), 4,16-4,08 (m, 1H), 3,99-3,98 (m, 1H), 3,84-3,53 (m, 30H), 3,45-3,38 (m, 12H), 3,13-3,03 (m, 4H), 2,90-2,66 (m, 5H), 2,36-2,32 (m, 1H), 2,26-2,20 (m, 3H), 2,15-2,12 (m, 4H), 2,00-1,99 (m, 2H), 1,88-1,72 (m, 6H), 1,64-1,40 (m, 14H), 1,33-1,24 (m, 17H), 1,14-1,09 (m, 3H), 1,00-0,97 (m, 7H), 0,89-0,81 (m, 8H) ppm.

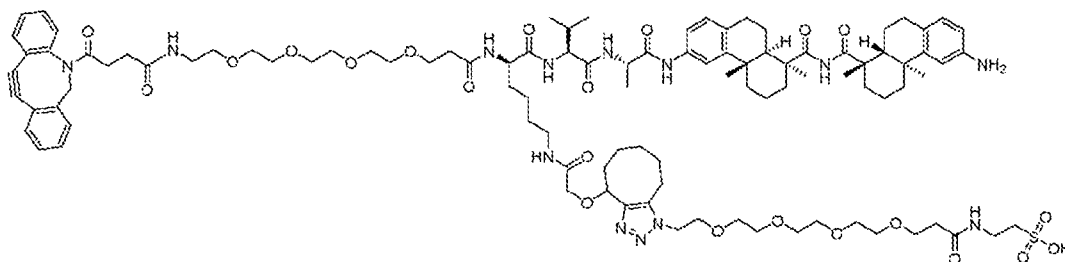
Anal. HPLC: 95 %, Tiempo de retención: 7,93 min (método B).

1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-
 25-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-
 octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-
 il]carbamoil]-4-(carbamoilamino)butil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]-5-{2-[(1-
 {31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-
 2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2<sup>3,6,28,11,213,16,218,21,223,26]
 30-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il]oxi]acetamido}pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-
 amida (LP2)</sup>



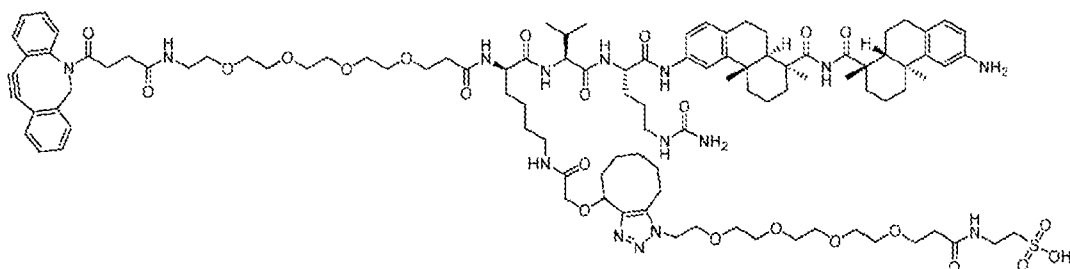
Siguiendo el procedimiento general para enlazador-cargas activas LP1-5, enlazador-carga activa LP2 (20 mg, rendimiento del 21 %) se obtuvo como un sólido blanco. ESI m/z: 870 (M/3 + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,76 (s, 1H), 9,31 (s, 1H), 8,26-8,16 (m, 1H), 8,11-8,07 (m, 1H), 8,03-7,98 (m, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,68-7,66 (m, 1H), 7,62-7,60 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,55-7,52 (m, 1H), 7,48-7,44 (m, 4H), 7,39-7,30 (m, 4H), 6,96-6,93 (m, 1H), 6,68-6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,47 (m, 1H), 6,34-6,32 (dd, J = 8,0 Hz, 1,6 Hz, 1H), 5,96 (s a, 1H), 5,59-5,56 (m, 5H), 5,52-5,45 (m, 7H), 5,38 (s, 2H), 5,13 (s a, 1H), 5,04-5,00 (d, J = 14,0 Hz, 1H), 4,81-4,69 (m, 10H), 4,60-4,51 (m, 5H), 4,36-4,11 (m, 5H), 3,98 (s a, 2H), 3,85-3,77 (m, 11H), 3,70-3,58 (m, 10H), 3,45-3,40 (m, 20H), 3,30-3,27 (m, 4H), 3,12-3,04 (m, 5H), 2,98-2,86 (m, 4H), 2,77-2,67 (m, 4H), 2,27-2,19 (m, 4H), 2,16-2,10 (m, 4H), 2,02-1,96 (m, 2H), 1,89-1,73 (m, 8H), 1,64-1,57 (m, 11H), 1,50-1,43 (m, 7H), 1,26-1,20 (m, 12H), 1,15-1,10 (m, 4H), 1,01-0,97 (m, 6H), 0,89-0,82 (m, 6H) ppm. Anal. HPLC: 100 %, Tiempo de retención: 7,35 min (método B). Solubilidad: < 0,1 mg/ml de agua.

Ácido 2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-5-({[(1S)-1-({[(1S)-1-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]pentil]carbamoil]metoxi)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etano-1-sulfónico (LP3)



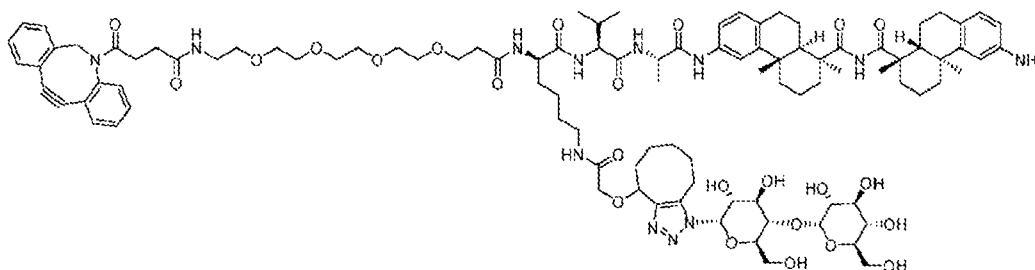
Siguiendo el procedimiento general para enlazador-cargas activas LP1-5, enlazador-carga activa LP3 (60 mg, rendimiento del 52 %) se obtuvo como un sólido blanco. ESI m/z: 642 (M/3 + H)⁺. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 9,68 (s, 0,6H), 9,25 (s, 0,4H), 8,22-8,07 (m, 3H), 8,02-7,86 (m, 2H), 7,77-7,72 (m, 2H), 7,68-7,60 (m, 2H), 7,54-7,52 (m, 1H), 7,50-7,42 (m, 4H), 7,39-7,27 (m, 4H), 7,22 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,97-6,94 (m, 2H), 6,74 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,43 (dd, J = 10,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 5,62 (s a, 1H), 5,04-5,00 (m, 1H), 4,93-4,90 (m, 0,4H), 4,76-4,72 (m, 0,6H), 4,52-4,26 (m, 4H), 4,16-4,08 (m, 1H), 3,81-3,75 (m, 4H), 3,61-3,55 (m, 4H), 3,46-3,44 (m, 24H), 3,30-3,27 (m, 5H), 3,08-3,06 (m, 5H), 2,97-2,89 (m, 2H), 2,80-2,74 (m, 4H), 2,54-2,52 (m, 2H), 2,40-2,31 (m, 2H), 2,27-2,22 (m, 4H), 2,16-2,13 (m, 4H), 2,02-1,71 (m, 8H), 1,69-1,45 (m, 10H), 1,40-1,21 (m, 14H), 1,17-1,08 (m, 4H), 1,01-0,98 (m, 6H), 0,89-0,82 (m, 6H) ppm.

Ácido 2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-5-({[(1S)-1-({[(1S)-1-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]-4-(carbamoilamino)butil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]pentil]carbamoil]metoxi)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etano-1-sulfónico (LP4)



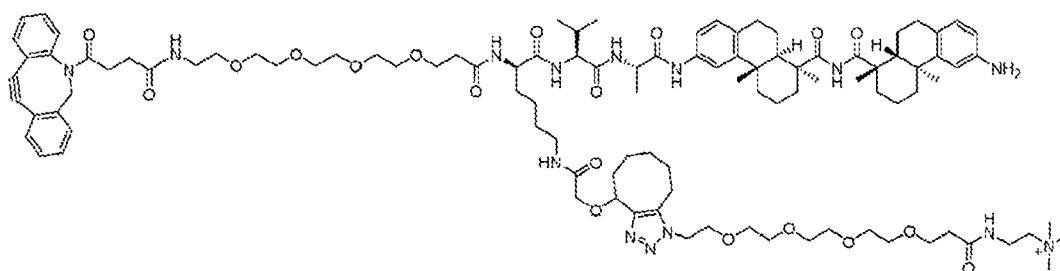
5 Siguiendo el procedimiento general para enlazador-cargas activas LP1-5, el compuesto LP4 (6,0 mg, 20 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 671 (M/3 + H)⁺. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 9,37 (s, 1H), 9,29 (s, 1H), 8,24-8,22 (m, 1H), 8,18-8,17 (m, 2H), 8,09 (s, 2H), 8,01-7,99 (m, 1H), 7,97-7,94 (m, 2H), 7,89-7,84 (m, 1H), 7,76 (m, 5H), 7,68 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,55 (m, 2H), 7,51-7,43 (m, 7H), 7,39-7,28 (m, 7H), 7,08 (m, 4H), 6,96-6,93 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 6,68 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,48 (s, 2H), 6,35-6,33 (m, 2H), 5,97-5,95 (m, 2H), 5,37 (s, 4H), 5,04-5,01 (m, 2H), 4,74-4,69 (m, 5H), 4,52 (m, 1H), 4,42 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 4,34-4,27 (m, 4H), 4,18 (m, 1H), 4,13-4,11 (m, 1H), 3,82-3,77 (m, 5H), 3,58-3,55 (m, 6H), 3,49-3,44 (m, 14H), 3,10-3,05 (m, 4H), 2,98-2,93 (m, 4H), 2,77-2,75 (m, 4H), 2,28-2,25 (m, 4H), 2,03-1,99 (m, 2H), 1,64-1,51 (m, 6H), 1,27-1,24 (m, 11H), 1,01-0,98 (m, 11H), 0,89-0,82 (m, 8H) ppm.

15 **1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-1[(1S)-1-1[(1S)-1-1[(4bS,8S,8aR)-8-1[(1S,4a,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil)etil]carbamoil)-2-metilpropil]carbamoil)-5-[2-{{1-[[2S,3R,4R,5S,6R]-3,4-dihidroxi-6-(hidroximetil)-5-[[[2R,3R,4S,5S,6R]-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxi]oxan-2-il]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il]oxi}acetamido)pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (LP5)**



25 Siguiendo el procedimiento general para enlazador-cargas activas LP1-5, el compuesto LP5 (15 mg, 27 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 947 (M/2 + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,69 (s, 0,55H), 9,27 (s, 0,45H), 8,25-8,15 (m, 2H), 8,15-8,05 (m, 2H), 8,05-7,90 (m, 1H), 7,90-7,80 (m, 1H), 7,76 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,55-7,40 (m, 4H), 7,40-7,25 (m, 3H), 7,00-6,90 (m, 1H), 6,67 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,32 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,75-5,70 (m, 1H), 5,56 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 5,50-5,40 (m, 2H), 5,20-4,92 (m, 4H), 4,80-4,70 (m, 1H), 4,70-4,65 (m, 1H), 4,65-4,55 (m, 2H), 4,40-4,25 (m, 2H), 4,20-3,95 (m, 2H), 3,80-3,75 (m, 2H), 3,75-3,45 (m, 23H), 3,30-3,20 (m, 3H), 3,20-2,90 (m, 5H), 2,90-2,65 (m, 3H), 2,60-2,55 (m, 1H), 2,40-1,95 (m, 12H), 1,90-1,70 (m, 5H), 1,70-1,35 (m, 14H), 1,35-1,20 (m, 15H), 1,15-1,05 (m, 3H), 1,00-0,90 (m, 7H), 0,90-0,80 (m, 7H) ppm.

35 **Trifluoroacetato de (2-{1-[4-{{[(5R)-5-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-5-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-1-[[[(1S,4a,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil)etil]carbamoil)-2-metilpropil]carbamoil)pentil]carbamoil]metoxi]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etil)trimetilazanio (LP20)**



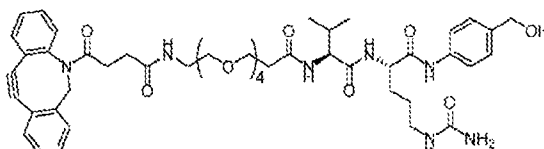
Seguindo el procedimiento general para enlazador-cargas activas LP1-5, el compuesto LP20 (7 mg, 24 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 950.8 (M/2)⁺.

5 EJEMPLO 6

Enlazador-carga activa LP6

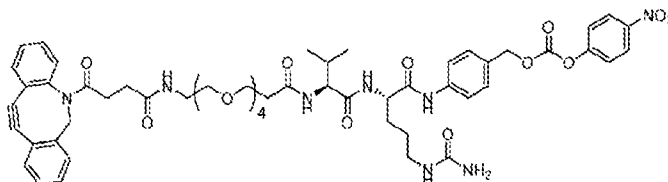
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-carga activa **LP6** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados desde **109** a **113** y enlazador-carga activa **LP6** en la Figura 4.

1-[4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1S)-1-[(1S)-4-(carbamoilamino)-1-{[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil}butil]carbamoil}-2-metilpropil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (110)



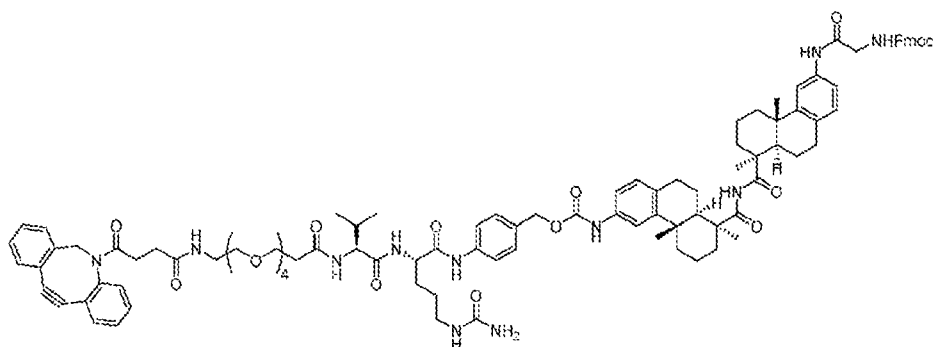
A una solución de compuesto **108** (0,30 g, 0,54 mmol) en DMF (10 ml) se añadieron HATU (0,31 g, 0,81 mmol) y DIPEA (0,14 g, 1,1 mmol) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. A la solución de reacción se le añadió luego VC-PAB-OH **109** (CAS: 159857-79-1, 0,21 g, 0,54 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que **108** o **109** se consumieron, según lo controlado mediante LCMS. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de una membrana filtrante y el filtrado se concentró y se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua (con 10 mmol/l de bicarbonato de amonio)) para dar el compuesto **110** (0,30 g, rendimiento del 60 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 617 (M + H)⁺.

4-nitrofenilcarbonato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (112)



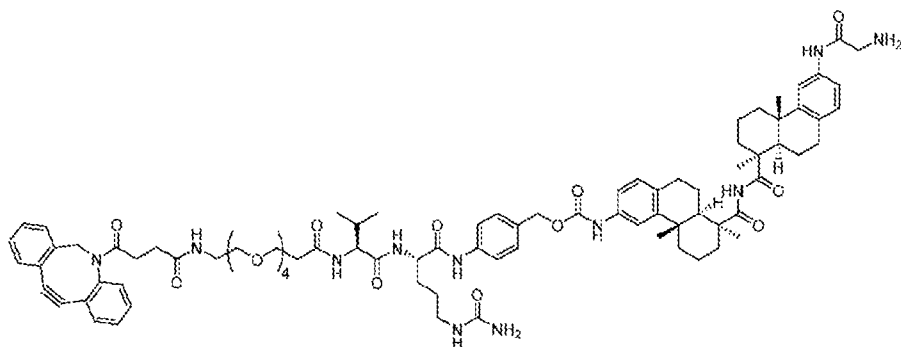
A una solución de compuesto **110** (0,15 g, 0,16 mmol) en DMF (10 ml) se añadió carbonato de bis(4-nitrofenilo) **111** (0,15 g, 0,49 mmol) y DIPEA (63 mg, 0,49 mmol) sucesivamente a 0 °C. Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que **110** se consumió, según lo controlado mediante LCMS. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de una membrana filtrante y el filtrado se concentró y se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua (con 10 mM/l de bicarbonato de amonio)) para dar el compuesto **112** (50 mg, rendimiento del 28 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 1079 (M + H)⁺.

40 *N*-[{{[(4bS,8S,8aR)-8-{{[(1S,4aS,10R)-6-{{[{{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil]metoxi]carbonil]amino]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-ilo [formamido]carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]metil]carbamatato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (113)]-3-



A una mezcla de compuesto **14a** (0,10 g, 0,12 mmol) y compuesto **112** (0,15 g, 0,14 mmol) en DMF (5 ml) se añadieron HOBt (20 mg, 0,15 mmol) y DIPEA (48 mg, 0,37 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa (método B) para dar el compuesto **113** (0,16 g, rendimiento del 72 %) en forma de un sólido amarillo claro. ESI m/z: 874 (M/2 + 1)⁺.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-(2-aminoacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de {4-[(25)-2-[(25)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP6)



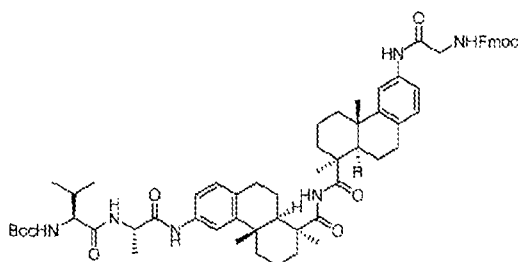
A una solución de compuesto **113** (0,10 g, 0,057 mmol) en DMF (5 ml) se añadió piperidina (1 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante media hora hasta que Fmoc se eliminó totalmente según LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar el compuesto **LP6** (35 mg, rendimiento del 23 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 763 (M/2 + 1)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,0 (s, 1H), 9,51 (s, 1H), 8,15-8,08 (m, 2H), 7,87 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,76 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,70-7,65 (m, 1H), 7,61 (t, *J* = 8,5 Hz, 3H), 7,51-7,42 (m, 4H), 7,41-7,30 (m, 8H), 7,20-7,10 (m, 1H), 7,00-6,90 (m, 2H), 6,00-5,95 (m, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,35-5,30 (m, 1H), 5,10-5,00 (m, 3H), 4,40-4,35 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 14H), 3,25 (s, 3H), 3,10-3,00 (m, 4H), 3,00-2,85 (m, 4H), 2,80-2,70 (m, 2H), 2,63-2,61 (m, 1H), 2,60-2,55 (m, 1H), 2,45-2,35 (m, 3H), 2,31-2,20 (m, 3H), 2,20-2,10 (m, 4H), 2,10-1,92 (m, 5H), 1,90-1,82 (m, 4H), 1,68-1,53 (m, 6H), 1,50-1,40 (m, 2H), 1,20-1,10 (m, 2H), 1,02-0,96 (m, 6H), 0,90-0,80 (m, 8H) ppm.

EJEMPLO 7

Enlazador-carga activa LP7

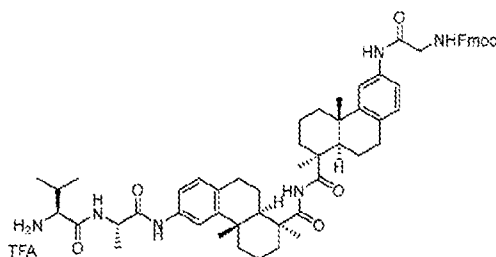
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-carga activa **LP7** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **14a**, **107**, **114** y **115** y enlazador-carga activa **LP7** en la Figura 5.

N-([[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(*tert*-butoxi)carbonil]amino]-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]metil]carbamato de 9H-Fluoren-9-ilmetilo (114)



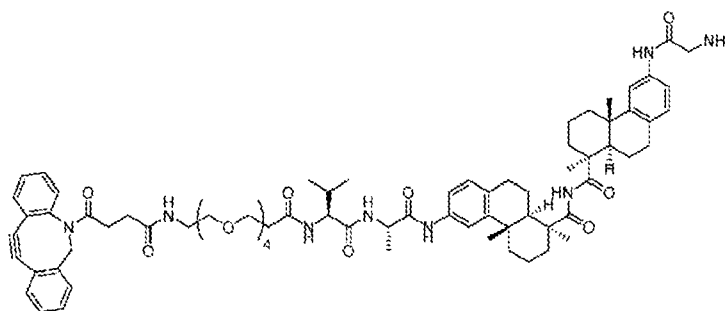
A una solución de compuesto **14a** (66 mg, 0,082 mmol) en DMF (10 ml) se añadió Boc-Val-Ala-OH **101c** (28 mg, 0,098 mmol), DIPEA (32 mg, 0,25 mmol) y HATU (47 mg, 0,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (50-90 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **114** (74 mg, rendimiento del 84 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 978 (M - Boc + 1)⁺.

N-([[(4bS,8S,8aR)-8-([[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]metil)carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo, sal de ácido trifluoroacético (115)



A una solución del compuesto **114** (74 mg, 0,069 mmol) en DCM (3 ml) se le añadió TFA (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que Boc se eliminó totalmente según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío para dar el producto bruto **115** (66 mg, 97 % de rendimiento como sal de TFA) en forma de un aceite incoloro. ESI m/z: 978 (M + 1)⁺.

1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1S)-1-([[(1S)-1-([[(4bS,8S,8aR)-8-([[(1S,4aS,10aR)-6-(2-aminoacetamido)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-metilpropil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (LP7)



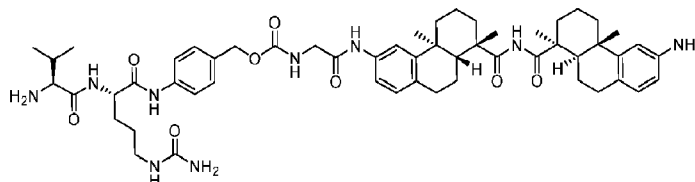
A una solución de compuesto **115** (60 mg, 61 μmol) en DMF (5 ml) se añadió DIBAC-suc-PEG4-OSu **107** (48 mg, 74 μmol) y DIPEA (24 mg, 0,18 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se monitorizó mediante LCMS. Después se añadió a la reacción piperidina (0,2 ml, exceso). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos hasta que se eliminó totalmente Fmoc según LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC preparatoria (método B) para dar **LP7** (22 mg, rendimiento del 28 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 1292 (M + H)⁺. RMN ¹H (500MHz, DMSO-*d*₆) (con regioisómeros) δ 9,66 (s, 0,5H), 9,51 (s, 0,5H), 8,43 (d, *J* = 7,5 Hz, 0,5H), 8,15-8,10 (m, 1,5H), 8,05 (d, *J* = 7,5 Hz, 0,5H), 7,90 (d, *J* = 7,5 Hz, 0,5H), 7,77 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 7,70-7,65 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 1H), 7,55-7,25 (m, 11H), 6,97 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 5,02 (d, *J* = 14,5 Hz, 1H), 4,40-4,35 (m, 1H), 4,18 (t, *J* = 7,5 Hz, 0,5H), 4,04 (t, *J* = 7,5 Hz, 0,5H), 3,65-3,50 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 14H), 3,23 (s, 3H), 3,15-3,05 (m, 3H), 2,95-2,85 (m, 3H), 2,80-2,70 (m, 3H), 2,60-2,55 (m, 1H), 2,40-2,10 (m, 12H), 2,00-1,80 (m, 5H), 1,80-1,70 (m, 1H), 1,70-1,55 (m, 5H), 1,24 (s, 1H), 1,20-1,10 (m, 3H), 1,10-0,90 (m, 8H), 0,90-0,80 (m, 8H) ppm.

EJEMPLO 8

Enlazador-carga activa LP8

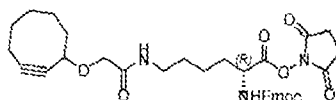
- 5 Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-carga activa **LP8** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **P4**, **117-120** y enlazador-carga activa **LP8** en la Figura 6.

10 **N-([[(4bS,8S,8aR)-8-([[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]metil)carbamatato de 14-[(2S)-2-[(2S)-2-Amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil]metilo (117)**



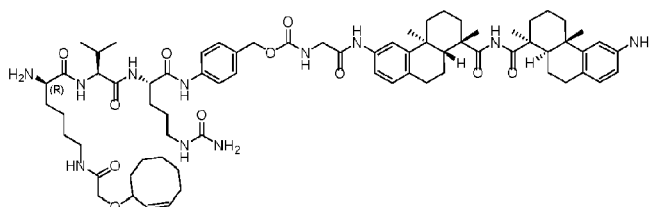
- 15 A una solución de Fmoc-vc-PAB-PNP **116** (0,14 g, 0,18 mmol) y carga activa **P4** (0,11 g, 0,18 mmol) en DMF (2 ml) se añadieron HOBt (24 mg, 0,18 mmol) y DIPEA (70 mg, 0,54 mmol) a temperatura ambiente con una jeringa. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y el compuesto **P4** se consumió según LCMS. A la mezcla resultante se le añadió piperidina (42 mg, 0,50 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que se eliminó totalmente el Fmoc, según lo controlado mediante LCMS. Después de filtrar a través de una membrana, el filtrado se concentró y se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar un
- 20 compuesto **117** (45 mg, rendimiento del 27 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 991 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,11 (s, 1H), 9,80 (s, 1H), 8,20-8,04 (m, 2H), 7,60 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,52-7,44 (m, 2H), 7,36-7,20 (m, 3H), 6,96 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,48 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 6,36-6,29 (m, 1H), 5,98 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 5,41 (s, 2H), 4,97 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,52-4,42 (m, 1H), 3,75 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,07-2,85 (m, 4H), 2,82-2,61 (m, 3H), 2,31-2,06 (m, 6H), 2,00-1,78 (m, 6H), 1,72-1,52 (m, 6H), 1,44-1,09 (m, 13H), 0,99 (d, J = 8,5 Hz, 6H), 0,87 (d, J = 8,1 Hz, 3H), 0,78 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm.
- 25

(2R)-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]-2-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}hexanoato de 2,5-Dioxopirrolidin-1-ilo (118)



- 30 Una mezcla del compuesto **103** (0,10 g, 0,19 mmol), EDCI (72 mg, 0,38 mmol) y HOSu (43 mg, 0,38 mmol) en DCM (3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (70 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el producto intermedio **118** (55 mg, rendimiento del 47 %) como un sólido blanco, que se usó en la siguiente etapa sin purificación. ESI m/z: 630 (M + 1)⁺.
- 35

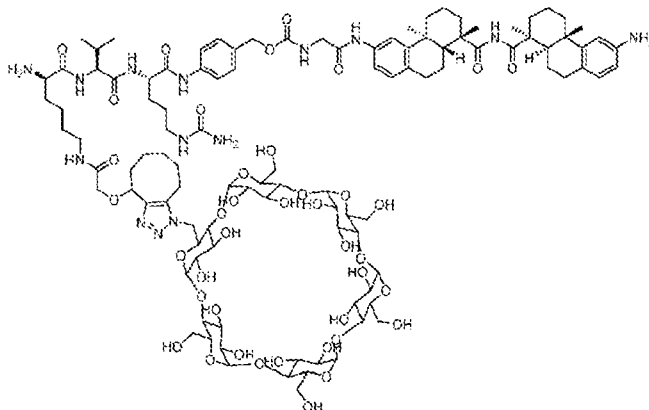
40 **N-([[(4bS,8S,8aR)-8-([[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]metil)carbamatato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Amino-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil]metilo (119)**



- 45 A una solución de compuesto **117** (55 mg, 56 μmol) y DIPEA (24 mg, 0,19 mmol) en DMF (1,5 ml) se añadió el intermedio bruto **118** (40 mg, 63 μmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que **118** se consumió según LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua) para dar **Fmoc-119** (60 mg, ESI m/z: 753 (M/2 + 1)⁺) como un sólido blanco, que se disolvió en DMF (1,5 ml). A la solución se le añadió dietilamina (24 mg, 0,33 mmol) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que el Fmoc se eliminó totalmente según LCMS.
- 50 La mezcla de reacción se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de

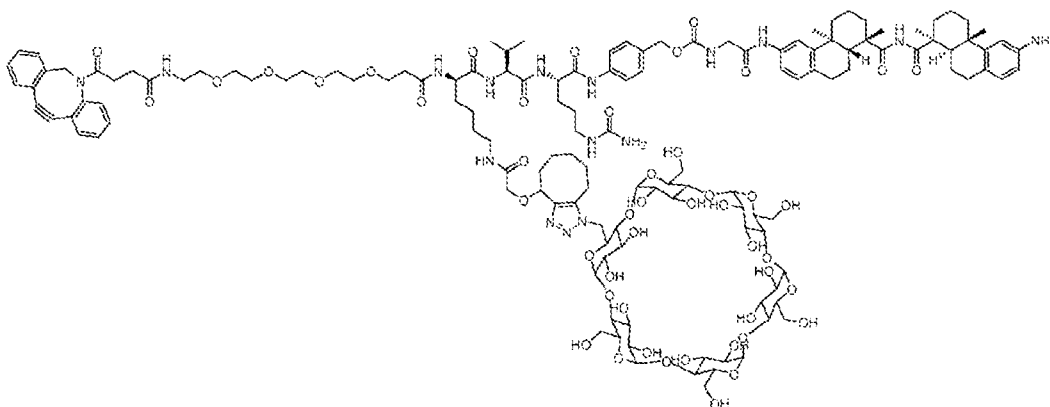
acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso) para dar el compuesto **119** (35 mg, 50 % de rendimiento del compuesto **117**) como un sólido blanco. ESI m/z: 1282 (M + H)⁺.

N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{{[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil)carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Amino-6-{2-[(1-{{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentaquis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il]oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (120)



A una solución del compuesto **119** (70 mg, 54 μmol) en DMF (3 ml) se añadió α-CD-N₃ **105a** (0,16 g, 0,16 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 3 días, que se monitorizó mediante LCMS. A continuación, la mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **120** (20 mg, rendimiento del 16 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 1141 (M/2 + 1)⁺.

N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{{[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil)carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-6-{2-[(1-{{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il]oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP8)



A una solución de compuesto **120** (10 mg, 4,4 μmol) y el intermedio **107** (5 mg, 7,7 μmol) en DMF (2 ml) se añadió DIPEA (16 mg, 0,12 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) dos veces para dar **LP8** (1,5 mg, rendimiento del 12 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 939 (M/3 + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,87-9,66 (m, 1H), 8,22-8,08 (m, 4H), 7,91-7,76 (m, 2H), 7,71-7,61 (m, 4H), 7,56-7,45 (m, 4H), 7,40-7,28 (m, 5H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,48 (s, 1H), 6,34 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,03-5,96 (m, 1H), 5,67-5,31 (m, 12H), 5,06-4,95 (m, 3H), 4,87-4,66 (m, 7H), 4,63-4,50 (m, 3H), 4,38-4,29 (m, 3H), 4,22-4,13 (m, 1H), 4,06-3,93 (m, 1H), 3,86-3,40 (m, 54H), 3,30-3,19 (m, 4H), 3,17-2,85 (m, 4H), 2,81-2,62 (m, 2H), 2,60-2,54 (m, 3H), 2,41-1,95 (m, 11H), 1,92-1,71 (m, 5H), 1,68-1,40 (m,

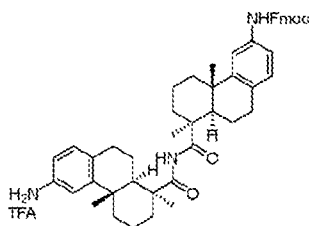
13H), 1,33-1,09 (m, 22H), 1,02-0,93 (m, 10H), 0,89-0,78 (m, 9H) ppm. *Anal.* HPLC (como una mezcla de regioisómeros de triazol): 63 %, Tiempo de retención: 6,03 min; 36 %, Tiempo de retención: 6,13 min (método B).

EJEMPLO 9

Enlazador-carga activa LP9

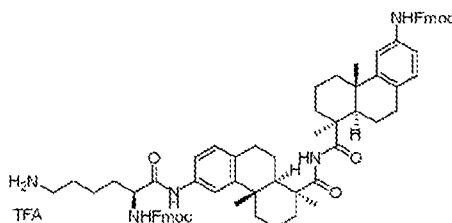
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-carga activa **LP9** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **12b**, **15**, **112**, **121** y **122** y enlazador-carga activa **LP9** en la Figura 7.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamidolcarbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo, sal del ácido trifluoroacético (15)



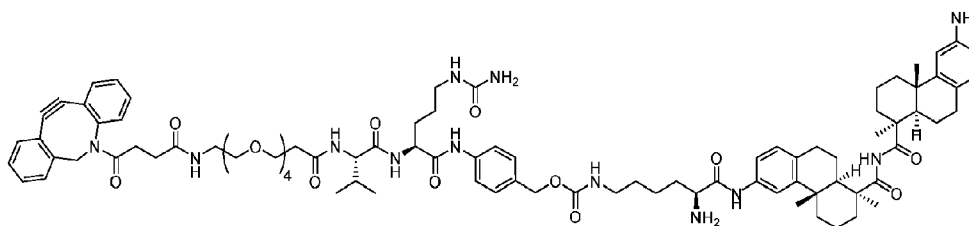
A una solución de compuesto. **12b** (0,63 g, 1,0 mmol) en DCM (50 ml) se añadieron Fmoc-OSu (0,40 g, 1,2 mmol) y DIPEA (0,26 g, 2,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (50-80 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar **Boc-15** (0,71 g) como un sólido blanco, que se disolvió en DCM (10 ml). A la solución se le añadió TFA (3 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas hasta que Boc se eliminó por completo según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío para dar el compuesto **15** como sal de TFA (0,62 g, rendimiento del 74 %) y aceite incoloro. ESI m/z: 751 (M + H)⁺.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-6-amino-2-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}hexanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de 9H-Fluoren-9-ilmetilo, sal del ácido trifluoroacético (122)



A la solución del compuesto. **15** (0,30 g, 0,40 mmol) en DMF (20 ml) se añadió Fmoc-Lys(Boc)-OH. **121** (0,23 g, 0,48 mmol), HATU (228 mg, 0,60 mmol) y DIPEA (0,16 g, 1,2 mmol) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (50-90 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar **Boc-122** (0,41 g) como un sólido blanco, de los cuales 0,24 g se disolvieron en DCM (20 ml). A la solución se le añadió TFA (3 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que Boc se eliminó totalmente según LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío para dar el compuesto **122** como sal de TFA (0,22 g, rendimiento del 79 %) y aceite incoloro. ESI m/z: 1101 (M + H)⁺.

N-[(5S)-5-amino-5-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoi]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoi]pentil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoiilamino)pentanamido]fenil]metilo (LP9)



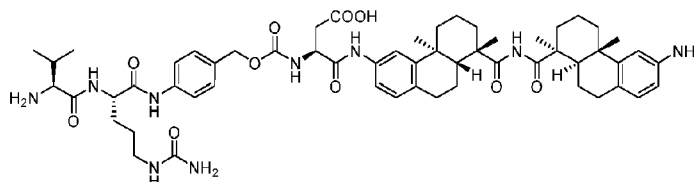
A una mezcla de compuesto **122** (14 mg, 12 μ mol) y compuesto **112** (15 mg, 14 μ mol) en DMF (5 ml) se añadieron HOBt (2 mg, 15 μ mol) y DIPEA (5 mg, 37 μ mol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, que se monitorizó mediante LCMS. A la mezcla de reacción se le añadió piperidina (0,5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas hasta que Fmoc se eliminó totalmente según LCMS. Después la mezcla de reacción se filtró a través de una membrana y el filtrado se concentró y se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar **LP9** (6 mg, rendimiento del 31 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 798 (M/2 + H)⁺. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10,0 (s, 1H), 8,15-8,08 (m, 2H), 7,87 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,76 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,61 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,60-7,56 (m, 2H), 7,51-7,42 (m, 4H), 7,41-7,24 (m, 6H), 7,20-7,16 (m, 1H), 6,95 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,50-6,46 (m, 1H), 6,36-6,32 (m, 1H), 6,00-5,96 (m, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,02 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,69 (s, 2H), 4,40-4,35 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 14H), 3,24-3,20 (m, 2H), 3,10-3,05 (m, 2H), 3,00-2,92 (m, 3H), 2,92-2,85 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 2H), 2,65-2,55 (m, 2H), 2,45-2,35 (m, 2H), 2,31-2,20 (m, 4H), 2,20-2,10 (m, 4H), 2,10-1,92 (m, 3H), 1,90-1,70 (m, 6H), 1,68-1,53 (m, 6H), 1,50-1,30 (m, 8H), 1,25-1,20 (m, 7H), 1,20-1,10 (m, 3H), 1,02-0,96 (m, 6H), 0,90-0,80 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 10

Enlazador-cargas activas LP10 y LP11

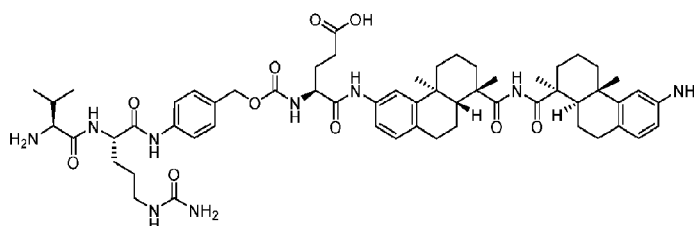
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-cargas activas **LP10-LP11** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **P7**, **P8**, **116**, **123a-b**, enlazador-cargas activas **LP10** y **LP11** en la Figura 8.

Ácido (S)-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-Amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-3-((4-((S)-2-((S)-2-amino-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)benciloxi)carbonilamino)-4-oxobutanoico (123a)



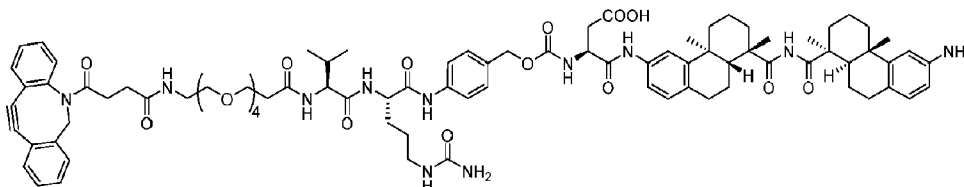
A una solución de carga activa **P7** (64 mg, 0,10 mmol) en DMF (5 ml) se le añadieron el intermedio **116** (92 mg, 0,12 mmol) y DIPEA (26 mg, 0,20 mmol) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se monitorizó mediante LCMS. Luego se añadió a la mezcla piperidina (0,5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos hasta que se eliminó totalmente Fmoc según LCMS. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (40-70 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **123a** (41 mg, rendimiento del 39 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 1049 (M + H)⁺.

Ácido (S)-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-4-((4-((S)-2-((S)-2-amino-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)benciloxi)carbonilamino)-5-oxopentanoico (123b)



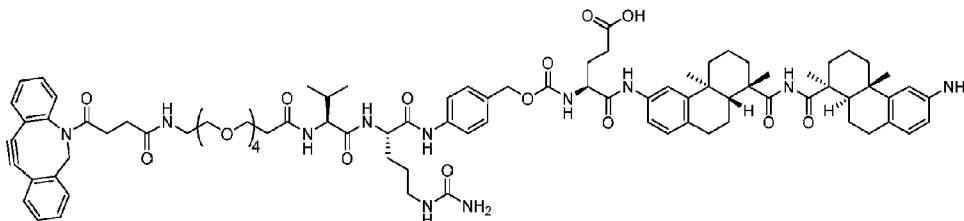
Siguiendo un procedimiento similar para **123a** excepto sustituir **P8** (0,53 g, 0,81 mmol) para **P7**, proporciona el compuesto **123b** (0,61 g, rendimiento del 71 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 1063 (M + H)⁺.

Ácido (3S)-3-[[[4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoylamino)pentanamido]fenil]metoxi]carbonil]amino]-3-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoyl]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoyl]propanoico (LP10)



A una solución de compuesto **123** (21 mg, 20 μ mol) en DMF (2 ml) se añadió el intermedio **107** (16 mg, 24 μ mol) y DIPEA (5 mg, 40 μ mol) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h y se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparatoria (método B) para dar el compuesto **LP10** (12 mg, rendimiento del 38 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 792 (M/2 + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,0 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,85-7,75 (m, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65-7,55 (m, 3H), 7,55-7,40 (m, 4H), 7,40-7,25 (m, 5H), 6,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,32 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,05-5,95 (m, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,05-4,90 (m, 3H), 4,80-4,60 (m, 1H), 4,40-4,35 (m, 2H), 4,25-4,20 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 25H), 3,20-2,85 (m, 4H), 2,80-2,55 (m, 3H), 2,40-2,30 (m, 3H), 2,30-2,20 (m, 3H), 2,20-2,05 (m, 4H), 2,0-1,50 (m, 12H), 1,50-1,30 (m, 3H), 1,30-1,20 (m, 6H), 1,20-1,05 (m, 2H), 1,05-0,90 (m, 5H), 0,90-0,80 (m, 6H) ppm.

Ácido (4S)-4-[[[4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoylamino)pentanamido]fenil]metoxi]carbonil]amino]-4-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoyl]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoyl]butanoico (LP11)



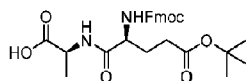
Si siguiendo un procedimiento similar para **LP10** excepto sustituir **123b** (0,10 g, 94 μ mol) para **123a**, proporciona el compuesto **LP11** (50 mg, rendimiento del 33 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 799 (M/2 + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,0 (s, 1H), 9,91 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,85-7,75 (m, 1H), 7,68 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65-7,55 (m, 3H), 7,55-7,40 (m, 4H), 7,40-7,25 (m, 6H), 6,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,32 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,05-5,95 (m, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,05-4,90 (m, 3H), 4,40-4,35 (m, 2H), 4,25-4,20 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 4H), 3,50-3,40 (m, 25H), 3,20-2,85 (m, 4H), 2,80-2,55 (m, 3H), 2,40-2,30 (m, 3H), 2,30-2,20 (m, 3H), 2,20-2,05 (m, 4H), 2,00-1,50 (m, 12H), 1,50-1,30 (m, 3H), 1,30-1,20 (m, 6H), 1,20-1,05 (m, 2H), 1,05-0,90 (m, 5H), 0,90-0,80 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 11

Carga activa P12 y P16; y enlazador-carga activa LP12 y LP16

Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de la carga activa **P12** y **P16** en la Tabla 1, anteriormente, y el enlazador-carga activa **LP12** y **LP16** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **12b**, **107**, **124**, **125** y **126**; y carga activa **P12** y **P16**; y enlazador-carga activa **LP12** y **LP16** en la Figura 9

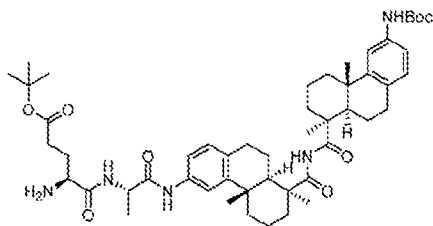
((S)-2-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil]amino)-5-(*tert*-butoxi)-5-oxopentanoil)-L-alanina (**125**)



A una solución de Fmoc-Glu(OtBu)-OH (6,0 g, 14 mmol) en DCM (300 ml) se le añadieron HOSu (3,2 g, 28 mmol) y EDCI (5,4 g, 28 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por LCMS. La mezcla

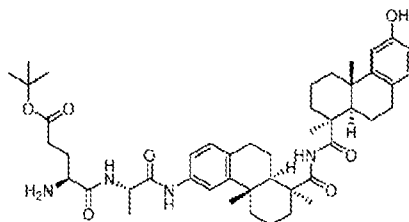
resultante se diluyó con DCM (200 ml) y se lavó con agua (100 ml x 2) y salmuera (100 ml). La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío para dar el compuesto bruto **124** (8,5 g, ESI m/z: 545 (M + 23)⁺), que se disolvió en DMF (10 ml). A la solución se le añadieron alanina (4,2 g, 48 mmol) y DIPEA (6,2 g, 48 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por LCMS. La mezcla resultante se vertió en agua (100 ml) y se acidificó con ácido acético hasta pH 5-6. La mezcla se extrajo con acetato de etilo y la solución orgánica combinada se concentró al vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-60 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)) para dar el compuesto **125** (1 g, rendimiento del 15 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 497 (M + H)⁺.

- 10 **4-amino-5-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-1-oxopropan-2-ilamino)-5-oxopentanoato de (S)-*tert*-butilo (126a)**



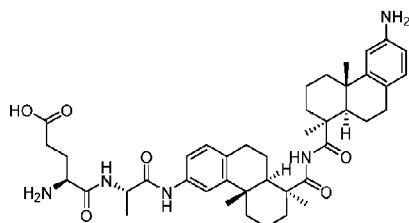
- 15 A una solución de compuesto **125** (42 mg, 84 μmol) y DIPEA (28 μl, 0,16 mmol) en DMF (3,0 ml) se añadió HATU (36 mg, 95 μmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de la adición del compuesto **12b** (50 mg, 80 μmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, que se monitorizó mediante LCMS. A la mezcla de reacción se le añadió piperidina (1,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que Fmoc se eliminó totalmente según LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)) para dar el compuesto **126a** (20 mg, rendimiento del 28 %) como un sólido amarillo. ESI m/z: 885 (M + H)⁺.

- 25 **(4S)-4-amino-4-(((1S)-1-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil)etil]carbamoil)butanoato de *tert*-Butilo (126b)**



- 30 Siguiendo un procedimiento similar para **126a**, excepto sustituir **P1** para **12b**, el compuesto **126b** (37 mg, 47 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 393,4 (M/2 + 1)⁺.

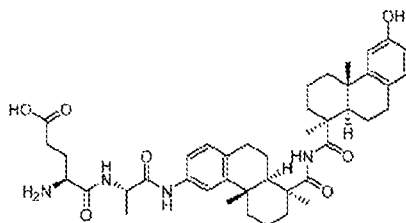
- 35 **Ácido (S)-4-Amino-5-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-1-oxopropan-2-ilamino)-5-oxopentanoico (P12)**



- 40 Una mezcla de compuesto **126a** (57 mg, 64 μmol) en TFA puro (2,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante una hora y se controló mediante LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 ml) y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de sodio acuoso (10 mM)) para dar **P12** (20 mg, rendimiento del 43 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 365 (M/2 + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,90 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,33 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,67 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,46 (s, 1H), 6,33 (dd, J = 7,6 Hz y 2,0 Hz, 1H), 4,70 (s, 1H), 4,41-4,36 (m, 1H), 3,42-3,30 (m, 6H), 2,91-2,85 (m, 1H), 2,78-2,75 (m, 2H), 2,67-2,61 (m, 1H), 2,32-2,27 (m, 4H), 2,16-2,13 (m,

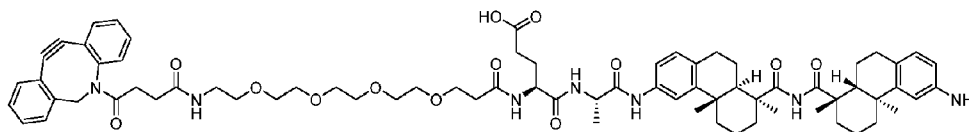
4H), 1,88-1,77 (m, 4H), 1,65-1,58 (m, 4H), 1,29-1,23 (m, 12H), 1,14-1,11 (m, 2H), 1,01 (d, $J = 7,6$ Hz, 6H) ppm.

Ácido (4S)-4-Amino-4-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]butanoico (P16)



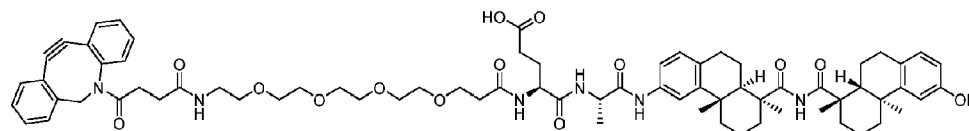
Siguiendo un procedimiento similar para **P12**, excepto sustituir **126b** para **126a**, la carga activa **P16** (18 mg, 53 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z : 729,5 ($M + 1$)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,95-9,90 (d, $J = 18,8$ Hz, 1H), 8,30 (s a, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,37-7,33 (m, 1H), 6,96 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 6,50 (dd, $J = 8,0, 2,0$ Hz, 1H), 4,39 (s a, 1H), 3,32-3,16 (m, 4H), 2,90-2,66 (m, 5H), 2,27-2,13 (m, 8H), 1,88-1,80 (m, 4H), 1,66-1,59 (m, 4H), 1,47 (s a, 1H), 1,31-1,23 (m, 11H), 1,17-1,10 (m, 2H), 1,00-0,98 (m, 6H) ppm.

Ácido (4S)-4-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-4-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]butanoico (LP12)



A una solución de compuesto **P12** (10 mg, 14 μ mol) en DMF (2,0 ml) se añadió DIPEA (6 μ l, 21 μ mol) y el compuesto **107** (11 mg, 16 μ mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparatoria (método B) para dar el compuesto **LP12** (3,5 mg, rendimiento del 20 %) como un sólido blanco. ESI m/z : 632 ($M/2 + H$)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,64 (s, 1H), 9,49 (s, 1H), 8,41-8,39 (m, 1H), 8,12-8,09 (m, 1H), 7,79 (s a, 1H), 7,67 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,60 (s a, 1H), 7,52-7,27 (m, 8H), 6,95 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,67 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,33 (dd, $J = 8,4$ Hz y 1,6 Hz, 1H), 5,02 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H), 4,70-4,67 (s a, 1H), 4,36-4,30 (m, 1H), 4,21-4,14 (m, 1H), 3,61-3,58 (m, 3H), 3,46-3,45 (m, 15H), 3,08-3,06 (m, 2H), 2,90-2,55 (m, 5H), 2,42-2,09 (m, 12H), 1,98-1,73 (m, 7H), 1,65-1,54 (m, 3H), 1,29-1,25 (m, 12H), 1,17-1,11 (m, 2H), 0,99-0,97 (m, 6H) ppm.

Ácido (4S)-4-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-4-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]butanoico (LP16)



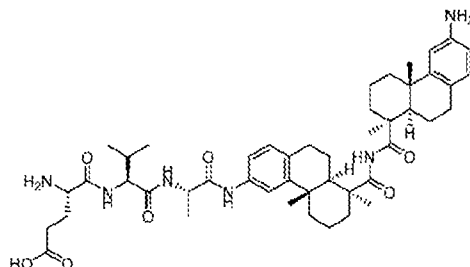
Siguiendo un procedimiento similar para **LP12**, excepto sustituir **P16** para **P12**, enlazador-carga activa **LP16** (12 mg, rendimiento del 69 %) se obtuvo como un sólido blanco. ESI m/z : 632,5 ($M/2 + 1$)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,63 (s, 1H), 9,49 (s, 1H), 8,97 (s, 1H), 8,38 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,78 (s a, 1H), 7,67 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 7,56-7,27 (m, 8H), 6,95 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,51-6,48 (m, 1H), 5,02 (d, $J = 13,6$ Hz, 1H), 4,36-4,30 (m, 1H), 4,20-4,15 (m, 1H), 3,61-3,54 (m, 3H), 3,46-3,43 (m, 14H), 3,10-3,06 (m, 2H), 2,89-2,66 (m, 5H), 2,44-2,11 (m, 12H), 2,02-1,73 (m, 7H), 1,65-1,56 (m, 3H), 1,31-1,22 (m, 12H), 1,17-1,09 (m, 2H), 1,00-0,98 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 12

Enlazador-carga activa LP13 y LP14

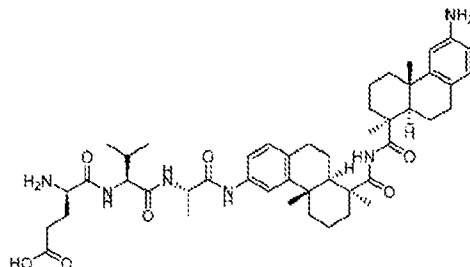
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis del enlazador-cargas activas **LP13** y **LP14** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **102a**, **127a/b**, **128a/b**, **107** y enlazador-cargas activas **LP13** y **LP14** en la Figura 9A.

- 5 **Ácido (4S)-4-Amino-4-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]butanoico (128a)**



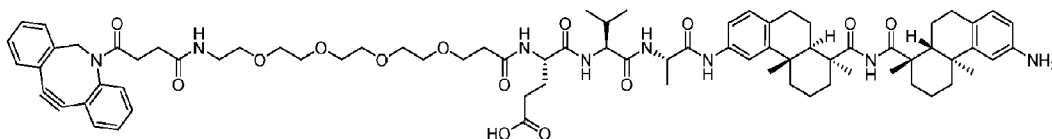
Una solución de compuesto **127a** (6,4 mg, 21 μ mol) y HATU (8,0 mg, 21 μ mol) en DMF (2,0 ml) se agitaron a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la adición del compuesto **102a** (14 mg, 17,5 μ mol) y DIPEA (6,8 mg, 52,5 μ mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua) para dar protección. **128a** (12 mg) como un sólido blanco, que se disolvió en DCM (4 ml). A la solución agitada se le añadió TFA (0,5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **128a** (7,1 mg, rendimiento del 49 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 827,5 (M + 1)⁺.

- 20 **Ácido (4R)-4-amino-4-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]butanoico (128b)**



Si siguiendo un procedimiento similar para **128a**, excepto sustituir el compuesto **127b** para **127a**, el compuesto **128b** (16 mg, 56 % de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido de color blanco. ESI m/z: 827,5 (M + 1)⁺.

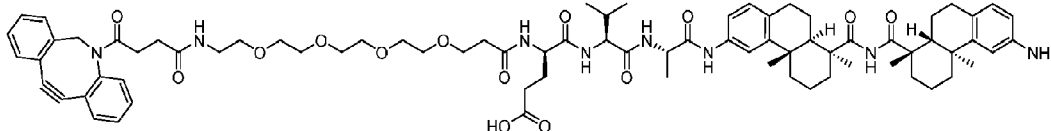
- 30 **Ácido (4S)-4-[1-(4-[2-Azatriciclo[10.4.0.0.4,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-4-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]butanoico (LP13)**



A una mezcla del compuesto. **128a** (7,1 mg, 8,6 μ mol) en DMF (2,0 ml) se añadió el compuesto **107** (5,6 mg, 8,6 μ mol) y DIPEA (3,3 mg, 26 μ mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar enlazador-carga activa **LP13** (5,5 mg, rendimiento del 47 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 681,6 (M/2 + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,75 (dd, J = 12, 0,6 Hz, 1H), 8,31 (dd, J = 12, 3,5 Hz, 1H), 8,19 (dd, J = 7,5, 2,1 Hz, 1H), 8,16-8,08 (m, 2H), 7,82-7,70 (m, 2H), 7,68 (dd, J = 7,5, 1,1 Hz, 1H), 7,64-7,59 (m, 1H), 7,56-7,44 (m, 4H), 7,41-7,27 (m, 4H), 6,96 (dd, J = 8,8, 3,2 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,47 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 6,33 (dd, J = 8,1, 2,1 Hz, 1H), 5,02 (d, J = 14,0 Hz, 1H), 4,43-4,26 (m, 3H), 4,22-4,08 (m, 2H), 3,62-3,55 (m, 3H), 3,51-3,42 (m, 12H), 3,30-3,20 (m, 2H), 3,12-2,84 (m, 3H), 2,80-

2,55 (m, 4H), 2,47-2,10 (m, 12H), 2,04-1,52 (m, 13H), 1,37-1,23 (m, 10H), 1,17-1,08 (m, 2H), 0,99 (d, $J = 7,7$ Hz, 6H), 0,88-0,78 (m, 6H) ppm.

Ácido (4R)-4-[1-(4-{2-Azatriciclo [10.4.0.0^{4,9}] hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-4-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[[(4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]etil]carbamoil]-2-metilpropil]carbamoil]butanoico (LP14)



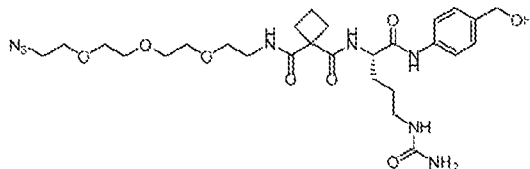
Siguiendo un procedimiento similar para **LP13**, excepto sustituir **128b** para **128a**, enlazador-carga activa **LP14** (10 mg, rendimiento del 76 %) se obtuvo como un sólido blanco. ESI m/z : 681,5 ($M/2 + 1$)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,79 (a, 1H), 9,35 (s, 1H), 8,28-8,23 (m, 1H), 8,21 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 8,17-8,13 (m, 1H), 8,12-8,03 (m, 2H), 8,02-7,95 (m, 1H), 7,76 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J = 7,3, 1,1$ Hz, 1H), 7,64-7,60 (m, 1H), 7,51 (dd, $J = 5,0, 1,9$ Hz, 1H), 7,49-7,42 (m, 3H), 7,40-7,31 (m, 3H), 7,29 (dd, $J = 7,4, 1,5$ Hz, 1H), 6,95 (dd, $J = 8,2, 4,7$ Hz, 1H), 6,68 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,48 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 6,33 (dd, $J = 7,9, 2,1$ Hz, 1H), 5,02 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H), 4,40-4,30 (m, 2H), 4,20-4,12 (m, 1H), 3,62-3,49 (m, 4H), 3,45-3,33 (m, 12H), 3,33-3,28 (m, 2H), 3,12-3,05 (m, 2H), 2,92-2,85 (m, 1H), 2,81-2,73 (m, 2H), 2,69-2,63 (m, 1H), 2,61-2,54 (m, 1H), 2,43-2,20 (m, 7H), 2,20-1,95 (m, 6H), 1,91-1,70 (m, 6H), 1,68-1,50 (m, 5H), 1,34-1,22 (m, 10H), 1,18-1,08 (m, 2H), 1,03-0,96 (m, 6H), 0,90 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H), 0,86-0,80 (m, 4H) ppm.

EJEMPLO 12A

Enlazador-carga activa LP15

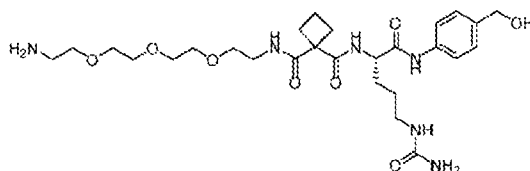
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-carga activa **LP15** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **129**, **130**, **131**, **132**, **133**, **Ser-P1**, y enlazador-carga activa **LP15** en la Figura 9B. El Compuesto **129** se sintetizó según el documento WO 2015/095124 A1.

1-N-(2-{2-[2-(2-Azidoetoxi)etoxi]etoxi}etil)-1-N'-[(1S)-4-(carbamoilamino)-1-[[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil]butil]ciclobutano-1,1-dicarboxamida (130)



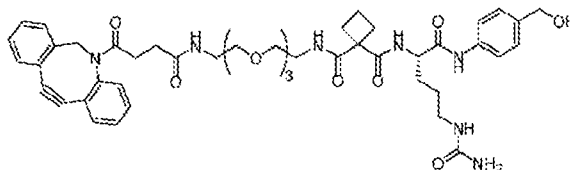
A una solución de compuesto. **129** (0,18 g, 0,44 mmol) en DMF seca (6 ml) se añadieron amino-PEG3-azida (0,10 g, 0,46 mmol) y EDCI (0,13 g, 0,65 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua) para dar el compuesto **130** (0,19 g, rendimiento del 70 %) como un sólido blanquecino. ESI m/z : 607,3 ($M + 1$)⁺.

1-N-(2-{2-[2-(2-aminoetoxi)etoxi]etoxi}etil)-1-N'-[(1S)-4-(carbamoilamino)-1-[[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil]butil]ciclobutano-1,1-dicarboxamida (131)



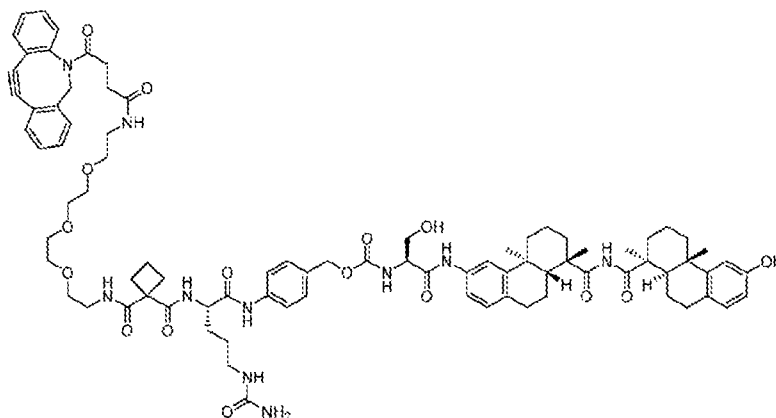
A una solución de compuesto. **130** (0,18 g, 0,30 mmol) en metanol (10 ml) se añadió paladio al 10 % sobre carbono (20 mg) en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se desgaseificó y se purgó con hidrógeno 3 veces y luego se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno durante 20 horas. La mezcla resultante se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar el compuesto bruto **131** (0,16 g, rendimiento del 92 %) como un sólido blanco. ESI m/z : 581,4 ($M + 1$)⁺.

(2S)-2-[(1-{2-[2-{2-[2-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido)etoxi]etoxi]etoxi]etil]carbamoil]ciclobutil]formamido]-5-(carbamoilamino)-N-[4-(hidroximetil)fenil]pentanamida (133)



A una solución de compuesto bruto. **131** (0,16 g, 0,28 mmol) en DMF (4 ml) se añadió DIBAC-suc-OSu **132** (0,12 g, 0,30 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 0,83 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **133** (50 mg, rendimiento del 21 %) como un sólido amarillo. ESI m/z: 434,8 (M/2 + 1)⁺.

N-[[1(1S)-1-[[[4bS,8S,8aR)-8-[[[1(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a -dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido]carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil]-2-hidroxietil]carbamato de {4-[[2(2S)-2-[[1-[[2-(2-[2-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il)-4-oxobutanamido]etoxi]etoxi]etoxi]etil]carbamoil]ciclobutil]formamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil]metilo (LP15)



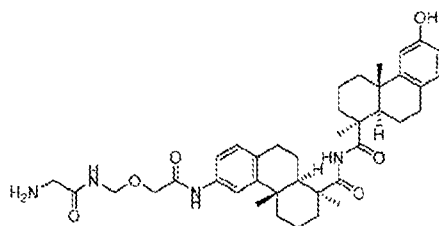
A una solución de compuesto. **133** (50 mg, 58 μ mol) en DMF seca (3 ml) se añadieron carbonato de bis(4-nitrofenilo) (PNPC) (35 mg, 0,12 mmol) y DIPEA (45 μ l, 0,17 mmol) sucesivamente, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua). La solución se liofilizó para dar un sólido amarillo, 16 mg de los cuales (16 μ mol) se disolvieron en DMF (5 ml). A la solución se le añadió **Px2** (**Ser-P1**, que se informó en el documento WO 2018/213082 A1) (10 mg, 16 μ mol) y DIPEA (10 μ l, 64 μ mol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar el enlazador-carga activa **LP15** (4,0 mg, 16 % de rendimiento de **Px2**) como un sólido naranja. ESI m/z: 755,5 (M/2 + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,0 (s, 1H), 9,84 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,89-7,84 (m, 2H), 7,78-7,75 (tm, 1H), 7,68-7,65 (m, 1H), 7,62-7,60 (m, 3H), 7,54 (s, 1H), 7,50-7,44 (m, 3H), 7,39-7,22 (m, 10H), 6,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,63 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,50 (dd, *J* = 2,0 Hz, 8,0 Hz, 1H), 6,04-6,02 (m, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,32 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 5,04-4,95 (m, 3H), 4,44-4,37 (m, 1H), 4,20-4,15 (m, 1H), 3,71-3,62 (m, 2H), 3,53-3,48 (m, 12H), 3,34-3,25 (m, 2H), 2,47-2,37 (m, 3H), 2,16-2,13 (m, 4H), 2,03-1,95 (m, 8H), 1,79-1,71 (m, 4H), 1,66-1,54 (m, 6H), 1,49-1,42 (m, 4H), 1,27-1,26 (m, 8H), 1,00 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,87-0,83 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 12B

Carga activa P18: y Enlazador-Cargas activas LP17 y LP18

Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de carga activa. **P18** en la Tabla 1, anterior y enlazador-cargas activas **LP17** y **LP18** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **134**, **P1**, **P18**, **112**, **135**, y el enlazador-cargas activas **LP17** y **LP18** en la Figura 9C. El Compuesto **134** se sintetizó según el documento WO 2015/155998 A1.

(1S,4aS,10aR)-N-[[[(1S,4aS,10aR)-6-{2-[(2-aminoacetamido)metoxi]acetamido}-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (P18)]

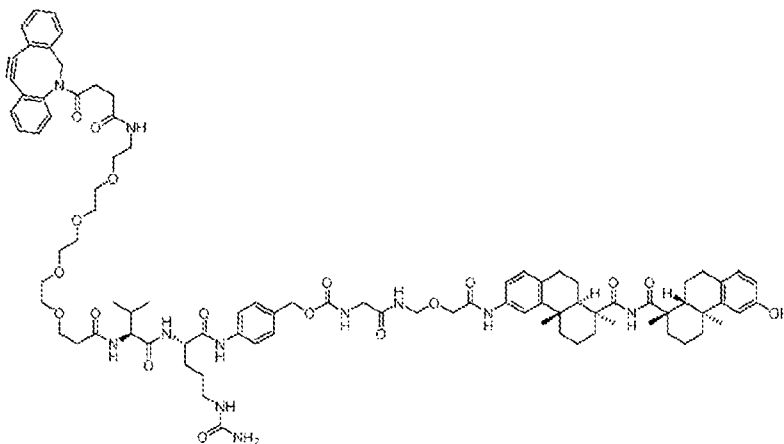


A una solución de compuesto. **134** (42 mg, 0,11 mmol) en DMF (5 ml) se añadieron HATU (79 mg, 0,21 mmol) y DIPEA (54 mg, 0,44 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadir la carga activa.

- 5 **P1** (63 mg, 0,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar **Fmoc-P18** (47 mg, ESI m/z: 895,4 (M + 1)⁺), que se disolvió en DMF (5 ml). A la solución se le añadió piperidina (13 mg, 0,15 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó totalmente el Fmoc, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar el
- 10 compuesto **P18** (34 mg, rendimiento del 47 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 673,5 (M + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,54 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,85 (s a, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,59 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,45 (dd, J = 8,4, 1,5 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 6,50 (dd, J = 8,4, 2,2 Hz, 1H), 4,66 (d, J = 1,6 Hz, 2H), 4,00 (s, 2H), 3,14 (s, 2H), 2,94-2,64 (m, 4H), 2,35-2,32 (m, 1H), 2,32-2,22 (m, 2H), 2,22-2,09 (m, 4H), 1,95-1,78 (m, 4H), 1,68-1,52 (m, 4H), 1,36-1,28 (m, 2H), 1,28 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,20-1,09 (m, 2H), 1,01 (s, 3H),
- 15 0,99 (s, 3H) ppm.

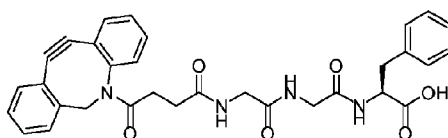
{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoylamino)pentanamido]fenil]metil}V-{{{[4bS,8S,8aR]-8-[[1S,4aS,10aR]-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoyl]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoyl}metoxi]metil]carbamoyl}metil]carbamato (LP17)

20



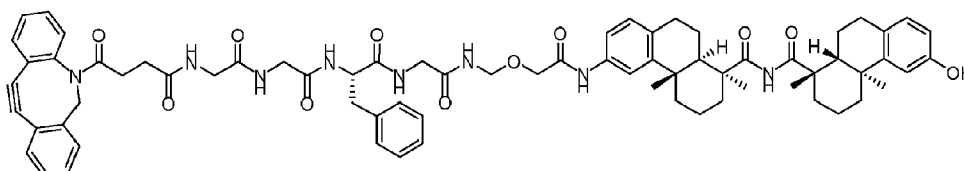
- 25 A una solución del compuesto. **P18** (16 mg, 24 μmol) en DMF (5 ml) se añadió el compuesto **112** (26 mg, 24 μmol) y DIPEA (6,2 mg, 0,048 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a 25 °C durante la noche, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar enlazador-carga activa
- 30 **LP17** (20 mg, rendimiento del 53 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 807 (M/2 + 1)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,00 (s, 1H), 9,53 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,92-8,83 (m, 1H), 8,19-8,07 (m, 2H), 7,88 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,77 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 7,64-7,56 (m, 4H), 7,53-7,25 (m, 9H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,50 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,02-5,94 (m, 1H), 5,42 (s, 2H), 5,02 (d, J = 14 Hz, 1H), 4,95 (s, 2H), 4,65 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 4,43-4,32 (m, 1H), 4,26-4,19 (m, 1H), 4,00 (s, 2H), 3,70-3,54 (m, 5H), 3,50-3,41 (m, 12H), 3,31-3,26 (m, 1H), 3,13-2,54 (m, 8H), 2,41-2,08 (m, 11H), 2,06-1,52 (m, 14H), 1,47-1,08 (m, 12H), 1,00 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,86 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,82 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm.
- 35

Ácido (2S)-2-[2-[2-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido)acetamido]acetamido]-3-fenilpropanoico (135)



A una solución de péptido Gly-Gly-Phe (65 mg, 0,16 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió el compuesto **132** (56 mg, 0,16 mmol) y DIPEA (63 mg, 0,49 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar el compuesto **135** (58 mg, rendimiento del 64 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 567 (M + 1)⁺.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-[2-[(2S)-2-[2-[2-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il]-4-oxobutanamido)acetamido]acetamido]-3-fenilpropanamido]acetamido]metoxi)acetamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (LP18)



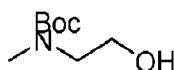
A una solución de compuesto. **135** (8,5 mg, 15 μmol) en DMF (5 ml) se añadieron HATU (11 mg, 30 μmol) y DIPEA (7,7 mg, 60 μmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadir el compuesto **P18** (10 mg, 15 μmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla resultante se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar enlazador-carga activa **LP18** (8,4 mg, rendimiento del 46 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 635 (M - M_{P17})⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,53 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,70 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 8,36 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 8,20-7,96 (m, 4H), 7,69-7,62 (m, 1H), 7,61-7,56 (m, 2H), 7,51-7,39 (m, 4H), 7,38-7,32 (m, 2H), 7,31-7,20 (m, 5H), 7,19-7,13 (m, 1H), 6,95 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 6,50 (dd, J = 8,2 y 2,2 Hz, 1H), 4,99 (dd, J = 13,9 y 1,9 Hz, 1H), 4,64 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 4,51-4,43 (m, 1H), 4,00 (s, 2H), 3,80-3,66 (m, 3H), 3,62-3,56 (m, 3H), 3,08-2,99 (m, 1H), 2,91-2,59 (m, 7H), 2,34-2,23 (m, 3H), 2,20-2,10 (m, 4H), 2,08-2,00 (m, 1H), 1,95-1,72 (m, 5H), 1,67-1,51 (m, 4H), 1,27 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,25-1,22 (m, 2H), 1,17-1,08 (m, 2H), 0,99 (s, 3H), 0,98 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 12C

Enlazador-carga activa LP19

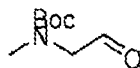
Este ejemplo demuestra métodos para la síntesis de enlazador-carga activa **LP19** en la Tabla 2, anteriormente. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados **136-138**, **140**, **P15**, **141-143**, **106**, **116** y el enlazador-cargas activas **LP19** en la Figura 9D.

2-hidroxi-etil(metil)carbamato de *terc*-butilo (**137**)



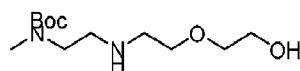
A una mezcla del compuesto **136** (3,8 g, 50 mmol) en DCM (90 ml) se añadió gota a gota una solución de Boc₂O (11 g, 52 mmol) en DCM (10 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se lavó con salmuera dos veces y la solución orgánica se concentró al vacío para dar el compuesto **137** (8,5 g, rendimiento del 97 %) como aceite incoloro. ESI m/z: 198 (M + Na)⁺.

(2-oxoetil)carbamato de *terc*-butilmetilo (**138**)



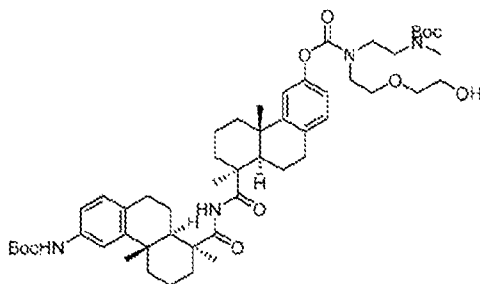
A una solución del compuesto **137** (4,4 g, 25 mmol) en DCM seco (50 ml) se añadió en porciones peróxido de Dess-Martin (12 g, 25 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se inactivó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y tiosulfato de sodio acuoso saturado. La mezcla inactivada se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La solución orgánica se recogió y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar **138** bruto, que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12-18 % de acetato en éter de petróleo, detectado por TLC usando PMA) para dar el compuesto **138** (2,6 g, rendimiento del 60 %) como un aceite de color amarillo claro. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,48 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,03 (a, 2H), 2,85 (s, 3H), 1,41 (s, 9H) ppm.

2-(2-(2-hidroxi-etoxi)etilamino)etil(metil)carbamato de *terc*-butilo (**140**)



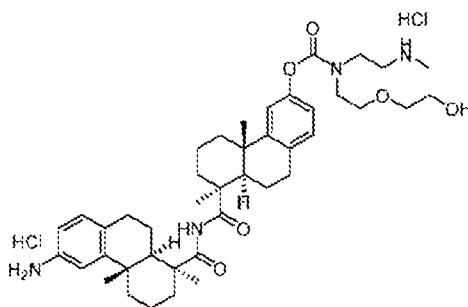
Una mezcla del compuesto **138** (2,6 g, 15 mmol) y el compuesto **139** (1,7 g, 16 mmol) en metanol seco (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas antes de añadir en porciones borohidruro de sodio (1,1 g, 30 mmol) a la mezcla a 0 °C. La mezcla se calentó lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se inactivó con agua fría y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (0-100 % de metanol en DCM) para dar el compuesto **140** (2,4 g, rendimiento del 61 %) como aceite amarillo. ESI m/z: 263,1 (M + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3,50-3,43 (m, 4H), 3,41-3,38 (m, 2H), 3,21 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,78 (s, 3H), 2,69-2,63 (m, 4H), 2,08 (s, 1H), 1,39 (s, 9H) ppm.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-{{[2-{{[(*tert*-butoxi)carbonil](metil)amino)etil}][2-(2-hidroxietoxi)etil]carbamoil]oxi}-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido)carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de *tert*-butilo (141)



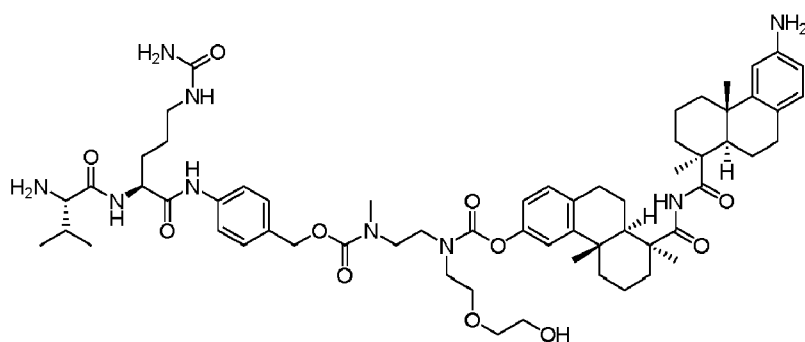
A una solución de carga activa **P15** (0,44 g, 0,70 mmol) en DCM seco (15 ml) se añadieron trietilamina (0,21 g, 2,1 mmol) y una solución de cloroformato de 4-nitrofenilo (0,15 g, 0,74 mmol) en DCM seco (5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1,5 horas, que se monitorizó mediante LCMS. La mezcla se concentró al vacío para dar éster de PNP bruto (0,58 g), que se disolvió en DCM (15 ml). A la solución se añadieron HOBt (19 mg, 0,14 mmol) y una solución del compuesto **140** (0,32 g, 1,2 mmol) en DCM (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas hasta que se completó la reacción según LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en TFA acuoso (0,01 %)) para dar el compuesto **141** (0,50 g, rendimiento del 78 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 940,5 (M + Na)⁺.

2-((2-hidroxietoxi)etil(2-(metilamino)etil)carbamato de (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilo (142)



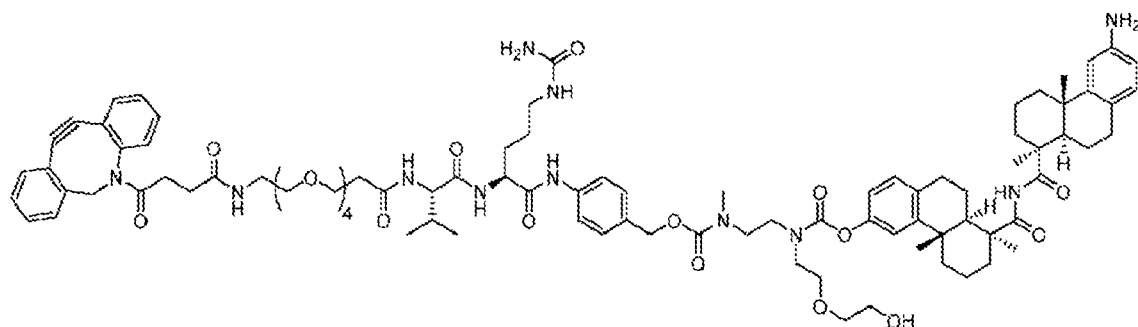
A un compuesto en solución **141** (0,30 g, 0,33 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se añadió una solución de HCl en dioxano (4 N, 3 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que Boc se eliminó totalmente según LCMS. Se eliminaron los volátiles y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (0-100 % de acetonitrilo en agua) para dar el compuesto **142** como sal HCl (0,19 g, rendimiento del 73 %), en forma de un sólido de color blanco, que no era estable, incluso en tampón básico (pH > 7). ESI m/z: 717,2 (M + H)⁺.

(2-(((4-((5-2-((5-2-amino-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)encil)oxi)carbonil)(metil)amino)etil)(2-(2-hidroxietoxi)etil)carbamato de (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-Amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)carbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilo (143)



A una mezcla de compuesto recién sintetizado **142** (35 mg, 49 μ mol) en DMF seca se añadió trietilamina (15 mg, 0,15 mmol), HOBt (7,0 mg, 49 μ mol) y una solución de Fmoc-vcPAB-PNP (**116**, 35 mg, 45 μ mol) en DMF seca (5 ml) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A la mezcla de reacción se añadió piperidina (13 mg, 0,15 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que se eliminó totalmente el Fmoc según LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (5-95 % de acetonitrilo en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto **143** (62 mg, rendimiento del 58 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 1145,6 (M + Na)⁺.

N-(2-[[[4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-yl-2-yl]-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoylamino)pentanamido]fenil]metoxi]carbonyl](metil)amino]etil]-7V-[2-(2-hidroxi)etoxi]etil]carbamato de (4bS,8S,8aR)-8-[[[(1S,4aS,10aR)-6-Amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonyl]carbamoyl]-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilo (LP19)



A una solución del compuesto **143** (30 mg, 27 μ mol) en DMF seca (5 ml) se añadió DIBAC-suc-PEG₄-OSu (**107**, 21 mg, 30 μ mol) y DIPEA (10 mg, 78 μ mol) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC preparativa (método B) para dar el compuesto **LP19** (15 mg, rendimiento del 34 %) como un sólido blanco. ESI m/z: 829,0 (M/2 + H)⁺. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,00 (s, 1H), 8,13-8,10 (m, 2H), 7,88-7,86 (m, 1H), 7,78-7,74 (m, 1H), 7,69-7,66 (m, 1H), 7,62-7,44 (m, 6H), 7,39-7,28 (m, 4H), 7,22-7,20 (m, 1H), 6,99-6,97 (m, 2H), 6,75-6,74 (m, 1H), 6,69-6,66 (m, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,35-6,32 (m, 1H), 5,97-5,96 (m, 1H), 5,41 (s, 2H), 5,04-4,92 (m, 3H), 4,69 (s, 2H), 4,60-4,58 (m, 1H), 4,39-4,35 (m, 1H), 4,30-4,20 (m, 1H), 3,62-2,53 (m, 39H), 2,40-1,36 (m, 25H), 1,27-1,25 (m, 8H), 1,14-1,11 (m, 2H), 0,99-0,97 (m, 6H), 0,87-0,81 (m, 7H) ppm.

Ejemplos ANALÍTICOS

EJEMPLO 13

Las estructuras, valores de LogP calculados, resultados de MS y HPLC para los compuestos de carga activa anteriores se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3 Propiedades físico-químicas de las cargas activas

Com p.	R1	R2	cLog P	MS (M+H)	HPLC	
					Purez a (%)	Tr (mi n)
P1	OH	NH ₂	+++	529,3	95	8,66
P2	NH ₂	NH ₂	+++	528,2	95	9,11
P3	NH ₂	NBn ₂	+++	354,8 (M/2+ H)	95	8,87
P4	NH ₂	NHC(O)CH ₂ NH ₂ (Gly)	++	585,4	98	8,20
P5	NH ₂	NHC(O)(S)-CH(CH ₂ OH)NH ₂ (Ser)	++	615,4	100	7,86
P6	NH ₂	NHC(O)CH((CH ₂) ₄ NH ₂)NH ₂ (Lys)	+++	656,5	100	8,89
P7	NH ₂	NHC(O)CH(CH ₂ CO ₂ H)NH ₂ (Asp)	+	643,4	100	6,64
P8	NH ₂	NHC(O)CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (Glu)	+	657,4	97	6,69
P9	NH ₂	NHC(O)CH(CH ₂ -imidazol)NH ₂ (His)	++	665,3	97	5,94
P10	NHC(O)CH ₂ NH ₂ (Gly)	NHC(O)CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (Glu)	+	714,5	100	6,12
P11	NHC(O)CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (Glu)	NHC(O)CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (Glu)	+	393,8 (M/2+ H)	100	5,45
P12	NH ₂	NHC(O)CH(CH ₃)NHC(O)CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (AlaGlu)	+	728,5	100	6,61 , 6,67
P13	NH ₂	NHC(O)CH(CH ₃)NH ₂ (Ala)	+++	599,5	100	5,21
P14	NH ₂	NHC(O)CH ₂ OH	++	586,3	100	8,26
P15	OH	NHC(O)O ^t Bu (Boe)	+++	629,4	100	9,78
P16	OH	NHC(O)CH(CH ₃)NHC(O)CH(CH ₂ CH ₂ COOH)NH ₂ (AlaGlu)	+	729,5	98	6,62
P17	OH	NHC(O)CH ₂ OH	+++	587,3	97	8,17
P18	OH	NHC(O)CH ₂ OCH ₂ NHC(O)CH ₂ NH ₂	++	673,3	98	7,83
P19	OH	NH ₂	+++	545,3	99	6,54
6 < +++ < 12; 4 < ++ ≤ 6; 0 < + < 4						

EJEMPLO 14

- 5 Las fórmulas moleculares, pesos moleculares, valores de LogP calculados, resultados de MS y HPLC para los compuestos de enlazador-carga activa anteriores se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4 Propiedades físico-químicas de las cargas activas

Comp.	MF	PM	cLogP	Pureza (%)	MS m/z (100 %)	MS m/z más alto	Tr de HPLC (min)
LP1	C ₁₂₄ H ₁₇₆ N ₁₂ O ₄₃	2522,81	+	95	841,7 [M/3+H]	1262,0 [M/2+H]	7,93 (B)
LP2	C ₁₂₇ H ₁₈₂ N ₁₄ O ₄₄	2608,87	+	100	870,3 [M/3+H]	870,3 [M/3+H]	7,35 (B)
LP3	C ₁₀₁ H ₁₄₃ N ₁₃ O ₂₂ S	1923,36	+++	100	641,8 [M/3+H]	962,5 [M/2+H]	6,20 (B)
LP4	C ₁₀₄ H ₁₄₉ N ₁₅ O ₂₃ S	2009,45	++	99	670,5 [M/3+H]	1004,9 [M/2+H]	5,94 (B)
LP5	C ₁₀₀ H ₁₃₈ N ₁₂ O ₂₄	1892,23	++	95	631,5 [M/3+H]	946,6 [M/2+H]	6,94 (B)
LP6	C ₈₅ H ₁₀₉ N ₁₁ O ₁₅	1524,84	+++	96	763,0 [M/2+H]	763,0 [M/2+H]	8,63 (B)
LP7	C ₇₄ H ₉₆ N ₈ O ₁₂	1289,60	+++	97	645,4 [M/2+H]	1290,7 [M+H] (23 %)	8,67 (B)
LP8	C ₁₃₇ H ₁₉₂ N ₁₆ O ₄₇	2815,07	+	99	939,2 [M/2+H]	939,2 [M/2+H]	7,60 (B)
LP9	C ₈₉ H ₁₁₈ N ₁₂ O ₁₅	1595,96	+++	100	798,3 [M/2+H]	798,3 [M/2+H]	8,58 (B)
LP10	C ₈₇ H ₁₁₁ N ₁₁ O ₁₇	1582,88	+++	97	528,4 [M/3+H]	792,0 [M/2+H]	7,11 (B)
LP11	C ₈₈ H ₁₁₃ N ₁₁ O ₁₇	1596,90	+++	96	799,2 [M/2+H]	799,2 [M/2+H]	7,10 (B)
LP12	C ₇₂ H ₉₁ N ₇ O ₁₃	1262,53	+++	100	631,8 [M/2+H]	631,8 [M/2+H]	7,51 (B)
LP13	C ₇₇ H ₁₀₀ N ₈ O ₁₄	1361,69	+++	100	681,6 [M/2+H]	681,6 [M/2+H]	7,12 (B)
LP14	C ₇₇ H ₁₀₀ N ₈ O ₁₄	1361,69	+++	100	681,5 [M/2+H]	681,5 [M/2+H]	7,66 (B)
LP15	C ₈₄ H ₁₀₄ N ₁₀ O ₁₆	1509,81	+++	96	755,5 [M/2+H]	755,5 [M/2+H]	8,26 (B)
LP16	C ₇₂ H ₉₀ N ₆ O ₁₄	1263,54	+++	100	632,5 [M/2+H]	632,5 [M/2+H]	7,45 (B)
LP17	C ₈₈ H ₁₁₃ N ₁₁ O ₁₈	1612,90	+++	97	807,0 [M/2+H]	807,0 [M/2+H]	8,29 (B)
LP18	C ₇₁ H ₈₀ N ₈ O ₁₁	1221,44	+++	100	635,2 [M-carga activa]	635,2 [M-carga activa]	8,88 (B)
LP19	C ₉₁ H ₁₂₁ N ₁₁ O ₁₈	1657,00	+++	100	829,3 [M/2+H]	829,3 [M/2+H]	8,66 (B)
LP20	C ₁₀₆ H ₁₅₁ F ₃ N ₁₄ O ₂₁	2014,45	+	>95	950,8 [M/2]	950,8 [M/2]	6,54 (A)
6 < +++ < 12; 4 < ++ < 6; -2 < + ≤ 4							

EJEMPLO 15

- 5 La actividad de ciertas cargas activas de agonistas de LXR descritas en el presente documento se evaluó en un ensayo de indicador de luciferasa sensible a LXR basado en células. Para generar la línea celular de ensayo, se transdujo un gen indicador de luciferasa regulado por LXR (kit Signal Lenti LXR Reporter (luc) (Qiagen, n.º de catálogo CLS-001L)) en células THP1 y las células se seleccionaron durante dos semanas en puromicina. El lentivirus expresa el gen de la luciferasa de luciérnaga bajo el control de un promotor de CMV mínimo y repeticiones en tándem del elemento de respuesta transcripcional LXR. La línea celular resultante se denomina células THP1/LXR-Luc. Para el ensayo, se sembraron células THP1/LXR-Luc en placas de 96 pocillos a razón de 40.000 células/pocillo en medios que contenían RPMI suplementado con 10 % de FBS y penicilina/estreptomicina y luego se diferenciaron con acetato de miristato de forbol (PMA) 200 nM durante 3 días. Posteriormente, el medio se retiró y se reemplazó con 80 µl de medio nuevo sin PMA. Se prepararon diluciones en serie triples de cargas activas libres en DMSO al 100 %, se transfirieron a medio nuevo y se añadieron 20 µl a las células a una concentración final constante de DMSO del 0,2 % y cargas activas libres a concentraciones finales que oscilaban entre 100 nM y 0,015 nM. El último pocillo de la placa sirvió como control en blanco que contenía solo el medio y DMSO al 0,2 % (pocillo sin tratar) y se representó como una continuación de la dilución en serie de 3 veces. Cuarenta y ocho horas después, la actividad luciferasa se determinó después de la adición de reactivo One-Glo™ (Promega, n.º de cat. E6130) a cada pocillo. Las unidades relativas de luz (URL) se midieron en un luminómetro Victor (PerkinElmer) y los valores de CE₅₀ se determinaron utilizando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva dosis-respuesta de 10 puntos (GraphPad Prism). El valor de CE₅₀ de cada molécula analizada se muestra en la Tabla 1. La señal a ruido (S/N) se determinó tomando la relación entre las ULR más altas en la curva de respuesta a la dosis y las ULR en los pocillos no tratados. Como se muestra en la tabla 5, todos los compuestos de carga activa probados aumentaron la actividad de la luciferasa dependiente de LXR en células THP1/LXR-Luc con valores de CE₅₀ que varían de 112 pM a 3,51 nM y valores de S/N que varían de 10,4 a 13,8.

Tabla 5: Actividad de LXR-Indicador por compuestos de carga activa en células THP-1/LXR-Luc diferenciadas

Compuesto de carga activa	CE ₅₀ (M)	S/N
P1	1.14E-09	11,4
P2	2,92E-10	11,3
P4	1,25E-10	10,4
P6	3,34E-09	10,9
P5	1,74E-10	13,8
P7	2,53E-10	12,5
P9	2,34E-10	12,8
P8	3,51E-09	10,8
P10	2,22E-10	11,1
P12	2,96E-10	11,4
P11	1,12E-10	10,7

5 EJEMPLO 16

La conjugación a través de las cisteínas de anticuerpos se realiza en dos etapas usando métodos similares a los descritos en Mol. Pharm. 2015, 12(6), 1863-71. En un procedimiento de ejemplo, un anticuerpo monoclonal (mAb) se reduce con ditioneitol o TCEP. Después de la filtración en gel, se añade el enlazador-carga activa adecuado en solución de DMSO al anticuerpo reducido y la mezcla se ajusta al pH apropiado. Se deja agitar la reacción. El conjugado resultante se purifica mediante SEC. Los valores de DAR (UV) se determinan utilizando las absorbancias medidas del CAF y los coeficientes de extinción del enlazador-carga activa del anticuerpo.

Se puede realizar la conjugación de anticuerpos específica del sitio, por ejemplo, en dos etapas: (1) La unión enzimática basada en transglutaminasa microbiana, por ejemplo, (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Darmstadt, Alemania) de una azido-PEG-amina a un anticuerpo mutado específico de sitio y (2) la unión de un enlazador-carga activa adecuado al anticuerpo funcionalizado con azido-PEG-amina mediante una cicloadición [2 + 3], por ejemplo, cicloadición 1,3-dipolar entre la fracción azido del anticuerpo funcionalizado y la fracción de ciclooctina apropiada del enlazador-carga activa, por ejemplo, química de clic sin cobre. Véase, Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R. PNAS 2007, 104 (43), 16793-7. Por ejemplo, el anticuerpo humano aglicosilado IgG (IgG1, IgG4, etc.) o un isotipo de IgG1 humano en BupH™ (pH 6,5-8,0) se mezcla con ≥200 equivalentes molares de azido-dPEG₃-amina (PM = 218,26 g/mol). La solución resultante se mezcla con transglutaminasa (25 U/ml; 5U de MTG por mg de anticuerpo, de Zedira, Darmstadt, Alemania, o Ajinomoto, Japón) dando como resultado una concentración final del anticuerpo de 0,5-5 mg/ml, y la solución se mantiene a un pH de 6,5-8,0 y luego se incuba a 37 °C durante 4-24 h mientras se agita suavemente. La reacción se monitorizó mediante ESI-MS. Al finalizar la reacción, el exceso de amina y MTG se elimina mediante SEC o columna de proteína A, eluyendo con tampón ácido y luego neutralizándose con tampón Tris (pH 8) para generar el anticuerpo funcionalizado con azido. Este producto se analiza mediante SDS-PAGE y ESI. La azido-dPEG₃-amina se añade a dos sitios, Q295 y Q297, del anticuerpo, lo que da como resultado un aumento de 804 Da para el conjugado anticuerpo aglicosilado 4DAR-PEG₃-azida. Los sitios de conjugación se identifican y confirman en EEQ^{Enlazador}YQ^{Enlazador}STYR para el anticuerpo funcionalizado con azido 4DAR mediante mapeo de secuencia peptídica de cadenas pesadas digeridas con tripsina.

En otro ejemplo, los conjugados de fármaco de anticuerpo aglicosilado específico de sitio con una IgG humana (IgG1, IgG4, etc.) que contienen una mutación N297Q (numeración de EU) se preparan mediante una reacción de clic [2 + 3] entre anticuerpos funcionalizados con azido con un enlazador-carga activa que contiene un alquino. Específicamente, un anticuerpo IgG1 humano aglicosilado funcionalizado con azido (mAb-PEG₃-N₃) se conjuga con un enlazador-carga activa apropiado mediante la incubación de mAb-PEG₃-N₃ (1-3 mg/ml) en un medio acuoso (por ejemplo, PBS, PBS que contiene 5 % de glicerol, HBS) con ≥6 equivalentes molares de un enlazador-carga activa disuelto en un disolvente orgánico adecuado, tales como DMSO, DMF o DMA (es decir, la mezcla de reacción contiene 5-20 % de disolvente orgánico, v/v) a de 24 °C a 37 °C durante más de 6 horas. El progreso de la reacción se controla mediante ESI-MS y la ausencia de mAb-PEG₃-N₃ indicó la finalización de la conjugación. La cantidad excesiva del enlazador-carga activa y el disolvente orgánico se eliminan mediante SEC mediante elución con PBS o mediante una columna de proteína A que eluye con tampón ácido seguido de neutralización con Tris (pH 8). Los conjugados purificados se analizan mediante SEC, SDS-PAGE y ESI-MS.

Los anticuerpos y los conjugados anticuerpo-fármaco se pueden caracterizar mediante SDS-PAGE, SEC y MS (ESI). En un método, condiciones de SDS-PAGE que incluyen muestras reducidas y no reducidas (2-4 µg) junto con BenchMark Pre-Stained Protein Ladder (Invitrogen, n.º de cat.10748-010; L n.º 1671922.) se cargan por calle en (1,0 mm × 10 pocillos) Novex 4-20 % de Tris-Glycine Gel y se ejecuta a 180 V, 300 mA, durante 80 minutos. Se prepara una muestra analítica usando tampón Novex Tris-Glycine SDS (2X) (Invitrogen, N.º de cat. LC2676) y la muestra reductora se prepara con tampón de muestra SDS (2X) que contiene 2-mercaptoetanol al 10 %.

Ejemplo 16a

Ensayo de indicador de luciferasa LXR basado en células

Los agonistas de LXR descritos en el presente documento se evaluaron en un ensayo indicador de luciferasa sensible a LXR basado en células. Para generar la línea celular de ensayo, se transdujo un gen indicador de luciferasa regulado por LXR [kit Cignal Lenti LXR Reporter (luc) (Qiagen, n.º de catálogo CLS-001L)] en células THP1 y las células se seleccionaron durante dos semanas en puromicina. El lentivirus expresa el gen de la luciferasa de luciérnaga bajo el control de un promotor basal y repeticiones en tándem del elemento de respuesta transcripcional LXR. La línea celular resultante se denomina células THP1/LXR-Luc. Para el ensayo, se sembraron células THP1/LXR-Luc en placas de 96 pocillos a razón de 40.000 células/pocillo en medios que contenían RPMI suplementado con 10 % de FBS y penicilina/estreptomycin y luego se diferenciaron con acetato de miristato de forbol (PMA) 200 nM durante 3 días. Posteriormente, el medio se retiró y se reemplazó con 80 µl de medio nuevo sin PMA. Se prepararon diluciones en serie triples de cargas activas libres en DMSO al 100 %, se transfirieron a medio de crecimiento nuevo y se añadieron 20 µl a las células a una concentración final constante de DMSO del 0,2 % y cargas activas libres a concentraciones finales que oscilaban entre 100 nM y 0,015 nM. El último pocillo de la placa sirvió como control en blanco que contenía solo el medio y DMSO al 0,2 % (pocillo sin tratar) y se representó como una continuación de la dilución en serie de 3 veces. Cuarenta y ocho horas después, la actividad luciferasa se determinó después de la adición de reactivo One-Glo™ (Promega, n.º de cat. E6130) a cada pocillo. Las unidades relativas de luz (URL) se midieron en un luminómetro Envision (PerkinElmer) y los valores de CE₅₀ se determinaron utilizando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de dosis-respuesta de 10 puntos (GraphPad Prism). El valor de CE₅₀ de cada molécula analizada se muestra en la Tabla 5a. La señal a ruido (S/N) se determinó tomando la relación entre las ULR más altas en la curva de respuesta a la dosis y las ULR en los pocillos no tratados. Como se muestra en la Tabla 5a, los agonistas de LXR aumentaron la actividad de la luciferasa dependiente de LXR en células THP1/LXR-Luc, con valores de CE₅₀ que varían de 78,8 pM a 72,9 nM y valores de S/N que varían de 8,8 a 13,1.

Tabla 5a: Actividad de indicador de LXR por agonistas de LXR en células THP-1/LXR-Luc diferenciadas

Carga activa del agonista de LXR	CE ₅₀ (M)	S/N
P14	1,52E-10	10,8
P18	2,78E-09	11,5
P1	1,91E-10	11,9
P2	4,50E-10	13,1
P15	7,29E-08	8,8
P13	7,88E-11	11,9
P16	5,08E-10	11,5
P17	1,03E-09	12,5
P19	5,64E-10	11,4

EJEMPLO 17

Se derivaron varias enlazador-cargas activas (LP) a partir de los compuestos de carga activa de la Tabla 1 y se conjugaron con un anticuerpo anti-MSR1 (H1H21234N-N297Q) o un control de no unión utilizando las técnicas descritas en el ejemplo anterior. Los conjugados de fármaco-anticuerpo agonista de LXR anti-MSR1 resultantes (CAF) se analizaron para determinar su actividad en el ensayo indicador de THP1/LXR-Luc como se ha descrito anteriormente para los compuestos de carga activa. Como se muestra en la tabla 6, todos los CAF de agonistas de LXR anti-MSR1 probados demostraron estimulación de las células THP1/LXR-Luc con valores de CE₅₀ que oscilan entre 414 pM y 2,11 nM y valores de S/N que oscilan entre 9,4 y 13,7. El anti-MSR1 no conjugado no tuvo impacto sobre la actividad de LXR-Luc y un anticuerpo de control de no unión conjugado con LP1 (Control CAF-LP1) tuvo valores de CE₅₀ de > 100 nM y valores máximos de S/N < 5,0.

El anticuerpo anti-MSR1 H1H21234N tiene la HCVR según la SEQ ID NO:2 y la LCVR según la SEQ ID NO:10. Comprende HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 según las SEQ ID NOS: 4, 6, 8, 12, 14 y 16, respectivamente. Las secuencias polipeptídicas pueden estar codificadas por las secuencias polinucleotídicas SEQ ID NOS: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15. N297Q indica que el resto 297 está mutado de asparagina (N) a glutamina (Q). Toda la numeración se realiza según el sistema de numeración EU.

Tabla 6: Actividad del conjugado de agonista anti-MSR1-LXR en células THP-1/LXR-Luc diferenciadas

CAF de agonista anti-MSR1-LXR	LP agonista de LXR	Carga activa del agonista de LXR	CE ₅₀ (M)	S/N
H1H21234N-N297Q-LP1	LP1	P2	7,38E-10	11,8
H1H21234N-N297Q-LP4	LP4	P2	9,23E-10	11,9
H1H21234N-N297Q-LP5	LP5	P2	1,20E-09	11,0
H1H21234N-N297Q-LP2	LP2	P2	8,68E-10	13,7
H1H21234N-N297Q-LP12	LP12	P2	1,30E-09	11,6
H1H21234N-N297Q-LP6	LP6	P4	6,85E-10	12,5
H1H21234N-N297Q-LP7	LP7	P4	5,60E-10	11,6
H1H21234N-N297Q-LP8	LP8	P4	6,19E-10	12,5
H1H21234N-N297Q-LP9	LP9	P6	4,14E-10	11,2
H1H21234N-N297Q-LP10	LP10	P6	9,60E-10	12,5
H1H21234N-N297Q-LP11	LP11	P8	9,78E-10	12,4
Anti-MSR1 no conjugado	ND	ND	>1,00E-07	0,8
ADC-LP1 de control	LP1	P2	>1,00E-07	4,4

EJEMPLO 18

Caracterización de CAF mediante LC-ESI-MS

Se realizó la medición de la masa intacta de las muestras de CAF mediante LC-ESI-MS para determinar el perfil de distribución del fármaco-carga activa y calcular el DAR promedio. Cada muestra de prueba (20-50 ng, 5 µl) se cargó en una columna Acquity UPLC Protein BEH C4 (10K psi, 300 Å, 1,7 µm, 75 µm × 100 mm; n.º de cat. 186003810). Después de 3 minutos de desalinización, la proteína se eluyó y los espectros de masas se adquirieron mediante un espectrómetro de masas Waters Synapt G2-Si. Como se resume en la Tabla 7, la mayoría de los CAF específicos de sitio tienen 3,9 DAR para los conjugados específicos de sitio.

Tabla 7. Propiedades del CAF

N.º LP	LXR (LP)	MW (LP)	MW (ESI-MS)	DAR(ESI-MS)
LP1	DIBAC-Suc-PEG ₄ -D-Lys(COT-α-CyD)-VA-P2	2522,84	156687	3,6
LP2	DIBAC-Suc-PEG ₄ -D-Lys(COT-αCyD)-VC-P2	2608,93	157020	3,9
LP3	DIBAC-Suc-PEG ₄ -D-Lys(COT-PEG ₄ -AES)-VA-P2	1923,38	154277	3,9
LP4	DIBAC-Suc-PEG ₄ -D-Lys(COT-PEG ₄ -AES)-VC-P2	2009,50	154622	3,9
LP5	DIBAC-Suc-PEG ₄ -D-Lys(COT-Glucosa-Glucosa)-VA-P2	1892,26	154152	3,9
LP6	DIBAC-Suc-PEG ₄ -VA-P4	1285,64	151742	3,9
LP7	DIBAC-Suc-PEG ₄ -VC-PABC-P4	1524,88	152680	3,9
LP8	DIBAC-Suc-PEG ₄ -D-Lys(COT-αCyD)-VC-PABC-P4	2815,10	157859	3,8
LP9	DIBAC-Suc-PEG ₄ -VC-PABC-Lys-P2	1596,0	152979	3,9
LP10	DIBAC-Suc-PEG ₄ -VC-PABC-P7	1582,92	152915	3,8

(continuación)

N.º LP	LXR (LP)	MW (LP)	MW (ESI-MS)	DAR(ESI-MS)
LP11	DIBAC-Suc-PEG ₄ -VC-PABC-P8	1596,95	152977	3,9
LP12	DIBAC-Suc-PEG ₄ -EA-P2	1262,57	151642	3,9
LP16	DIBAC-Suc-PEG ₄ -EA-P1	1263,55	151645	3,9
LP19	DIBAC-Suc-PEG ₄ -VC-PABC-N-CH ₃ -N-PEG ₂ -EDC-P1	1657,04	153210	3,8

EJEMPLO 19

5 Activación de eflujo de colesterol en macrófagos THP1 diferenciados mediante conjugados fármaco-anticuerpo agonista LXR

La capacidad de los CAF agonistas anti-MSR1-LXR para activar el eflujo de colesterol en una línea celular de macrófagos humanos (THP-1; número de catálogo ATTC TIB-202) se evaluaron utilizando un análogo de colesterol fluorescente. Para el ensayo, se sembraron células THP-1 en placas recubiertas de polisilina de 96 pocillos (Corning, n.º de catálogo 354640) a 100.000 células/pocillo en medio RPMI 1640 (Irvine Scientific, n.º de catálogo 9160) que contenía FBS al 10 % (Gibco, n.º de catálogo 1043010), 10 µg/ml de penicilina-estreptomicina (Gibco, n.º de catálogo 15140122) en 5 % de CO₂ a 37 °C. Las células se diferenciaron en macrófagos mediante tratamiento con miristato 13-acetato de forbol-12 100 nM (Sigma, n.º de catálogo P8139), que se añadió al medio (descrito anteriormente), durante 96 horas. Luego se incubaron los macrófagos diferenciados en medio RPMI 1640 libre de rojo fenol (Gibco, n.º de catálogo 32404-014) que contenía colesterol-BODIPY 25 µM (Avanti Polar Lipids, n.º de catálogo 810255P), seroalbúmina bovina (BSA) al 0,2 %; Sigma n.º de catálogo A7211) y 10 µg/ml de penicilina-estreptomicina durante 24 horas, seguido de un tratamiento de 24 horas con diluciones en serie que van desde 1×10⁻⁷ M a 5×10⁻¹⁷ M de cargas activas libres (**P1** o **P2**), agonistas anti-MSR1 Ab-LXR ncCAF (H1H21234N-N297Q-**29d1** y H1H21234N-N297Q-**LP1**) o CAFnc de agonista de control de isotipo-LXR (control de isotipo-N297Q-**LP1**) en medio RPMI 1640 sin rojo fenol que contiene 0,2 % de BSA. Las células se lavaron con medio RPMI 1640 libre de rojo fenol y se incubaron con 100 µl de medio aceptor que contenía 50 µg/ml de lipoproteína de alta densidad (n.º de catálogo Millipore 437641), 10 µg/ml de apolipoproteína A1 (Millipore, n.º de catálogo ALP10) en medio RPMI 1640 sin rojo fenol durante 5 horas, tras lo cual, se recogió el medio aceptor y las células se lisaron en 100 µl de tampón RIPA (Millipore, n.º de catálogo 20-188) durante 2 horas con agitación suave a temperatura ambiente. La fluorescencia se midió en estas fracciones a una excitación de 482 nm, emisión de 515 nm en lector de placas SpectraMax i3 (Molecular Devices). El porcentaje de eflujo de colesterol BODIPY se calculó utilizando la siguiente fórmula: [fluorescencia en medios aceptores / (fluorescencia en medios aceptores + fluorescencia en lisado celular)] × 100.

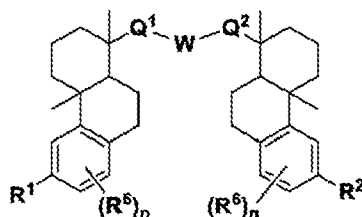
Como se muestra en la Tabla 8 y en la Figura 13, después de 24 horas, las cargas activas libres P1 y P2 demostraron una cantidad similar de valores de CE₅₀ de eflujo de colesterol de 20 pM y 14 pM, respectivamente. H1H21234N-N297Q-**29d1** CAFnc demostró un valor de CE₅₀ de 12 pM y CAFnc H1H21234N-N297Q-**LP1** mostró un valor de CE₅₀ de 98 pM. El CAFnc N297Q-**LP1**-control de isotipo demostró un eflujo mínimo de colesterol con un valor de CE₅₀ de 13 nM.

Tabla 8: Activación del eflujo de colesterol por agonistas de LXR y conjugados anticuerpo-fármaco agonistas de LXR

Molécula probada	Activación del eflujo de colesterol CE ₅₀ (M)
P1	2,0E-11
P2	1,4E-11
H1H21234N-N297Q- 29d1	1,2E -11
H1H21234N-N297Q- LP1	9,8E-11
Control de isotipo-N297Q- LP1	1,3E -8

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o forma estereoisomérica de los mismos, en donde

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^3)-$, $-PO(NR^3NR^4)-$, $-NR^3-$ o $-N=$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$;

R^2 es $-N(H)R^4$;

cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo o acilo sustituido;

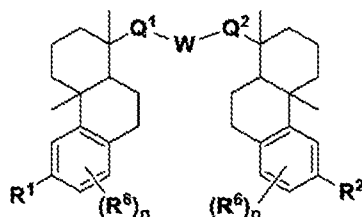
R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O- PEG_{n1} , en donde cada n es un número entero de cero a catorce y cada $n1$ es un número entero de uno a doce;

cada R^3 es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo; y

cada fracción biodegradable es un poliéster alifático.

2. El compuesto de la reivindicación 1 de acuerdo con la Fórmula I



(I)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^3)-$, $-PO(NR^3NR^4)-$, $-NR^3-$ o $-N=$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$;

R^2 es $-N(H)R^4$;

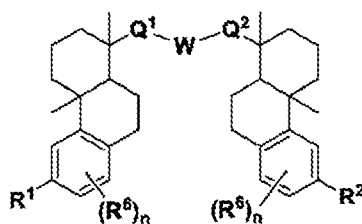
cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo;

R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O- PEG_{n1} , en donde cada n es un número entero de cero a catorce y cada $n1$ es un número entero de uno a doce; y

cada R^3 es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 de acuerdo con la Fórmula I



(I)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$ o $-C(OH)_2-$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

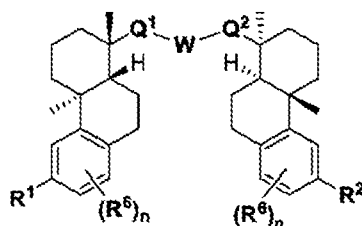
R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$;

R^2 es $-N(H)R^4$;

cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo;

R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario; y

cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O- PEG_{n1} , en donde cada n es un número entero de cero a catorce y cada $n1$ es un número entero de uno a doce, preferentemente el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula II



(II)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de cualquier reivindicación anterior en donde

(i) Q^1 es $-CH_2-$ y Q^2 es $-C(O)-$;

(ii) Q^1 es $-C(H)(OH)-$ y Q^2 es $-C(O)-$;

(iii) Q^1 es $-C(O)-$ y Q^2 es $-C(O)-$;

(iv) Q^1 es $-C(O)-$ y Q^2 es $-CH_2-$;

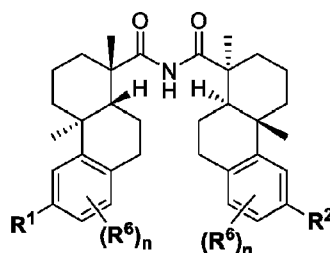
(v) Q^1 es $-C(O)-$ y Q^2 es $-C(H)(OH)-$;

(vi) W es $-CH_2-$;

(vii) W es $-O-$;

(viii) W es $-NH-$; y/o

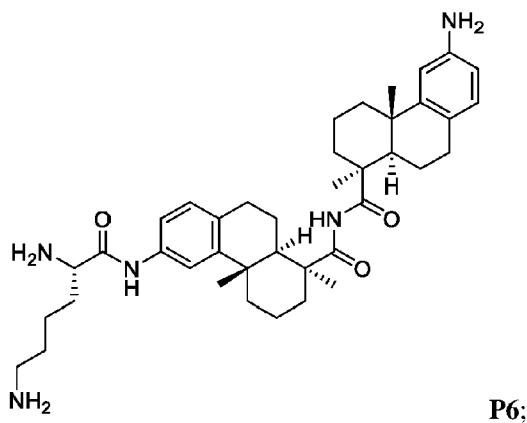
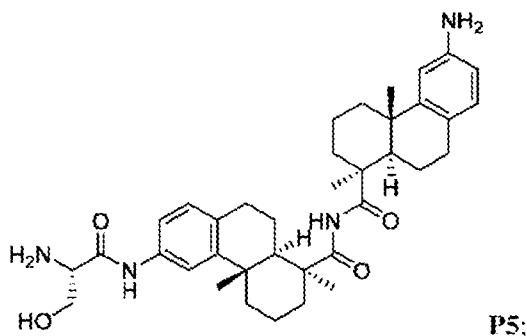
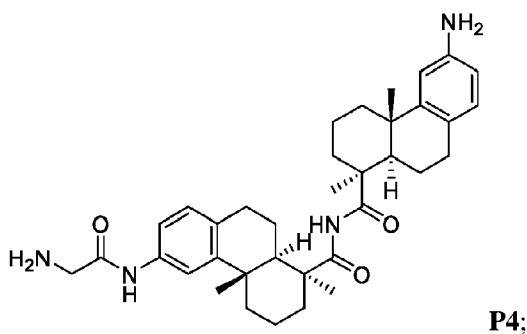
(ix) el compuesto es conforme a la Fórmula III

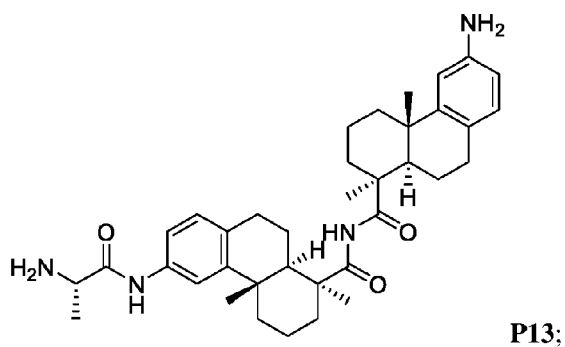
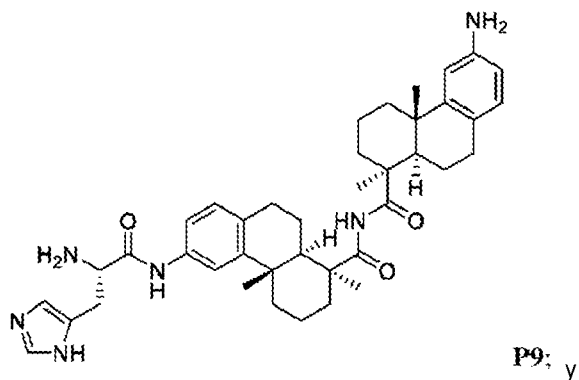
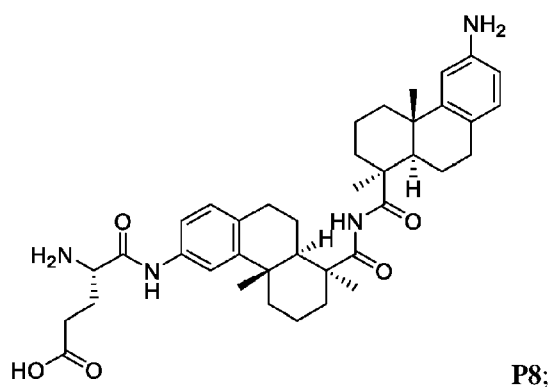
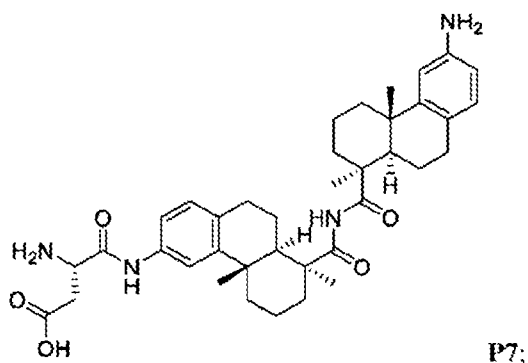


(III)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde R^1 es $-N(H)R^4$ o $-N(R^5)_2$, preferentemente R^1 es $-NH_2$; y cada R^4 es, independientemente en cada caso, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable o alquilo, más preferentemente R^1 es $-NH_2$ y cada R^4 es, independientemente en cada caso, un resto de aminoácido; y el resto de aminoácido se selecciona entre el grupo que consiste en alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, y ácido glutámico.
6. El compuesto de la reivindicación 5, seleccionado entre el grupo que consiste en





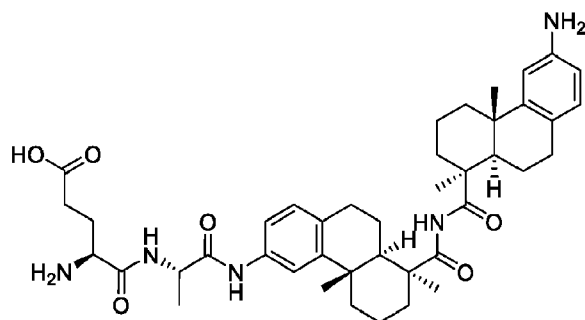
5

10 una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto de la reivindicación 5, en donde cada R^4 es, independientemente en cada caso, un resto peptídico, en donde el resto peptídico comprende un aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico y ácido glutámico y los restos de los mismos.

15

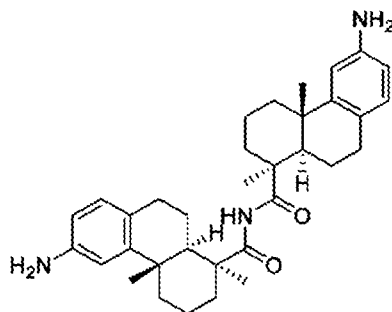
8. El compuesto de la reivindicación 7, en donde el compuesto es



P12;

o
5 una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. El compuesto de la reivindicación 5, en donde el compuesto es

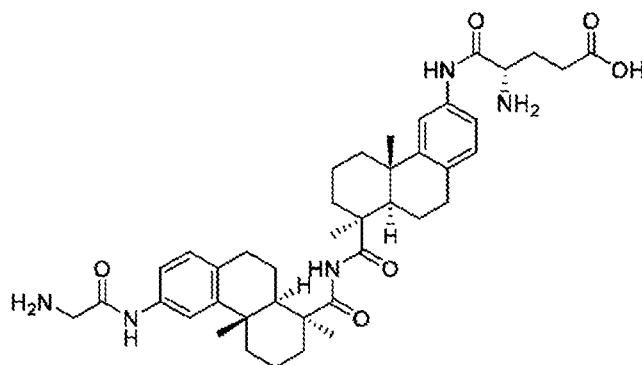


P2;

10
o
una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

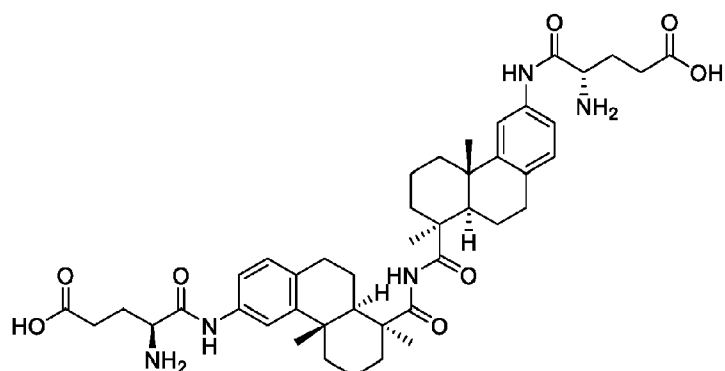
10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde R^1 y R^2 son $-N(H)R^4$,
15 preferentemente en donde cada R^4 es, independientemente en cada caso, un resto de aminoácido; en donde el aminoácido se selecciona entre el grupo que consiste en alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico y ácido glutámico y los restos de los mismos.

20 11. El compuesto de la reivindicación 10, en donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en



P10;

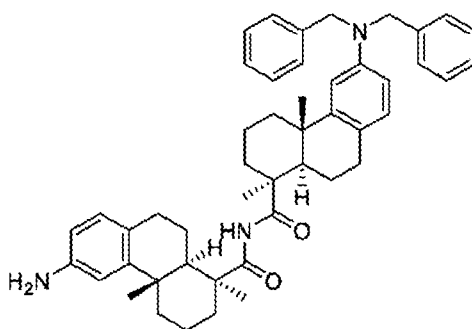
25 y



P11;

o
una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

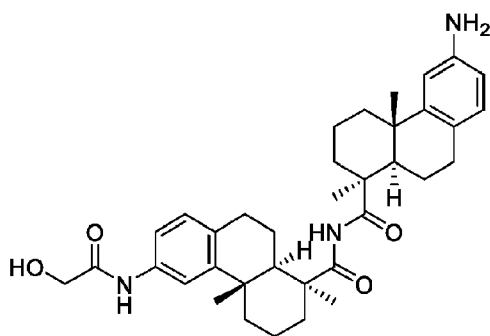
12. El compuesto de la reivindicación 5, en donde el compuesto es



P3;

o
una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. El compuesto de la reivindicación 10, en donde el compuesto es

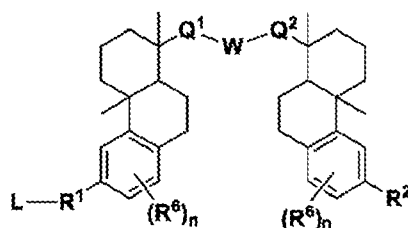


P14;

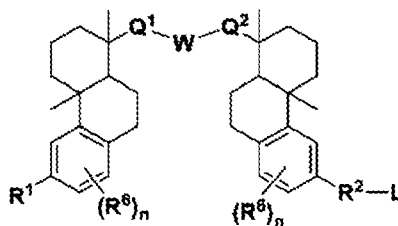
o
una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. Un enlazador-carga activa que comprende el compuesto de cualquier reivindicación anterior unido a un enlazador.

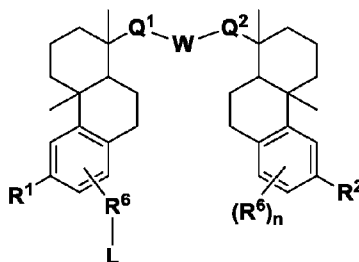
15. El enlazador-carga activa de la reivindicación 14, que tiene una fórmula **LPa**, **LPb**, **LPC** o **LPd**



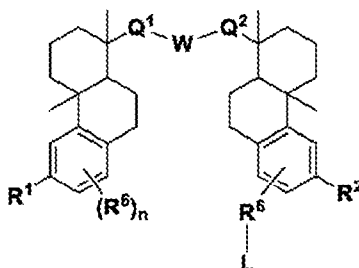
(LPa)



(LPb)



(LPc)



(LPd)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

L es un enlazador;

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^3)-$, $-PO(NR^3NR^4)-$, $-NR^3-$ o $-N=$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

R^1 es $-N(H)R^4$, $-N(H)R^4-$, $-N(H)-$, $-N(R^5)_2$ o $-N(R^5)_2-$;

R^2 es $-N(H)R^4$, $-N(H)R^4-$ o $-N(H)-$;

cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de N-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido o -alquilen-;

R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

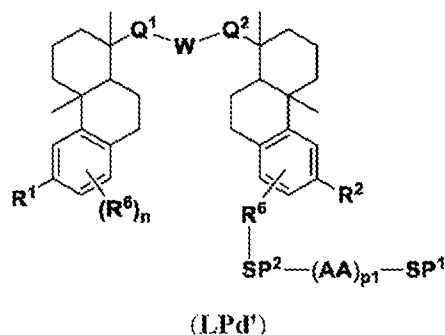
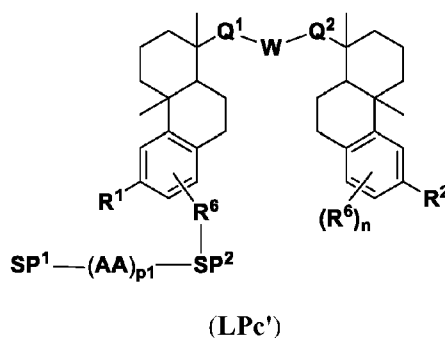
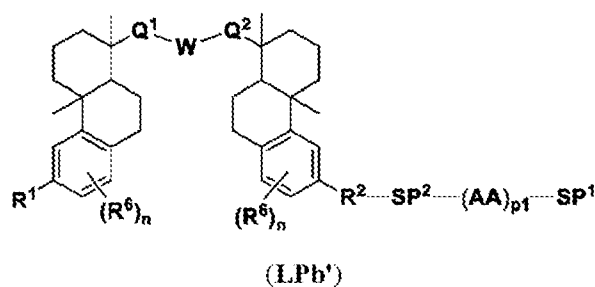
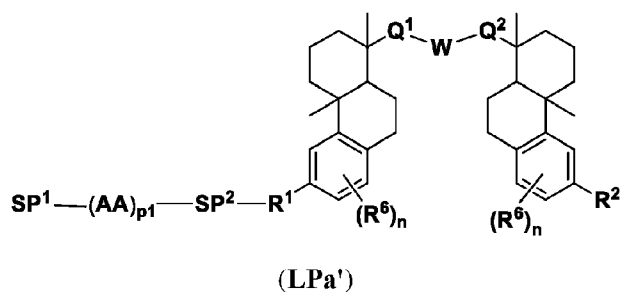
cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alquilen C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, O-glucosa, resto de O-aminoácido u O-PEG_n, en donde cada n es un número entero de cero a catorce y cada n1 es un número entero de uno a doce;

cada R^3 es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo; y

cada fracción biodegradable es un poliéster alifático.

16. El enlazador-carga activa de la reivindicación 15, en donde cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo o -alquilen-.

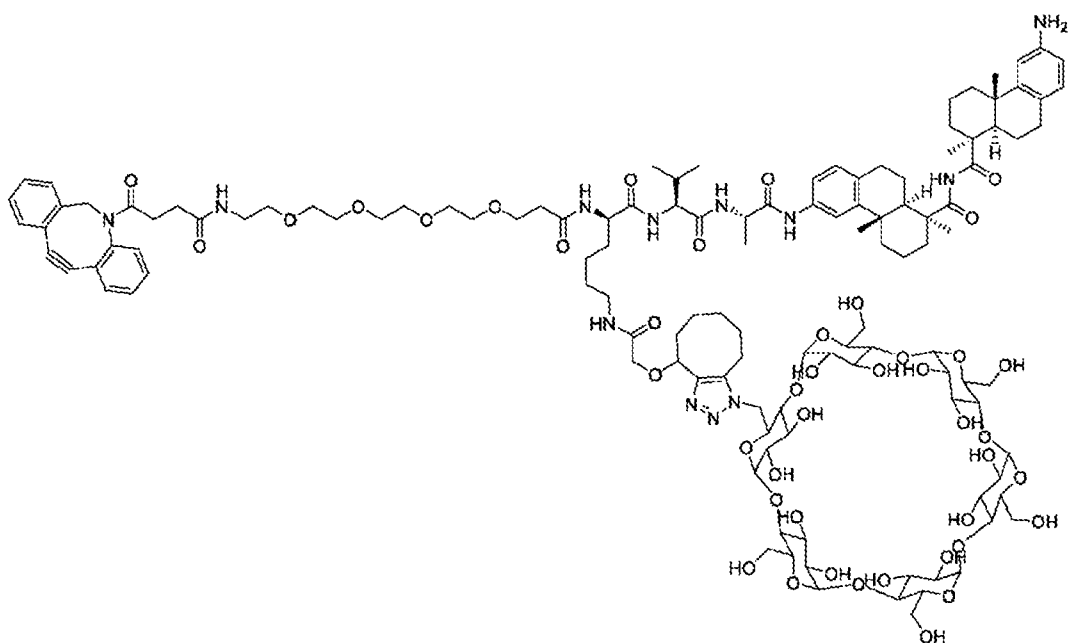
5 17. El enlazador-carga activa de la reivindicación 15, que tiene la fórmula LPa' , LPb' , LPc' o LPd'



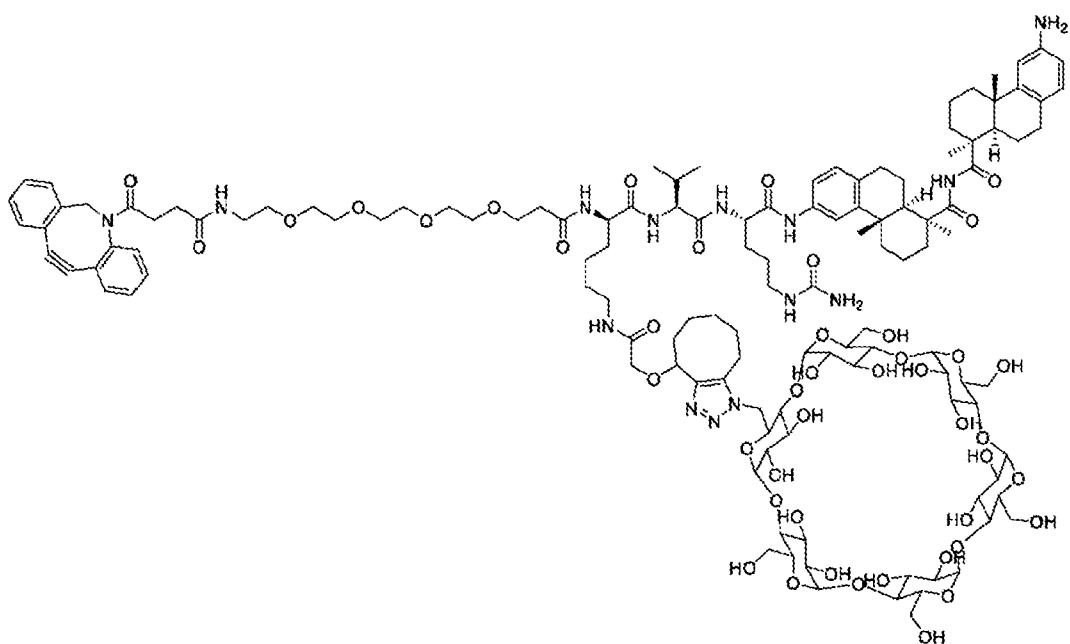
en donde SP^1 y SP^2 , cuando están presentes, son grupos espaciadores; cada AA es un resto de aminoácido; y $p1$ es un número entero de uno a diez.

18. El enlazador-carga activa de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en donde el enlazador L o espaciador SP^2 está unido a un nitrógeno del arilo o a un resto de aminoácido solo o dentro de un péptido.

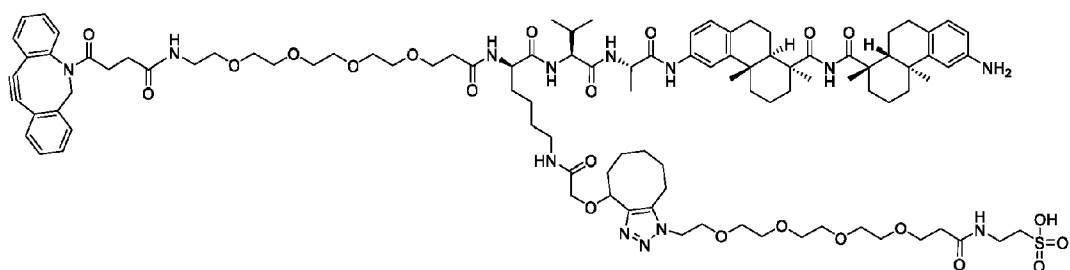
19. El enlazador-carga activa de una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 18, seleccionado entre el grupo que consiste en



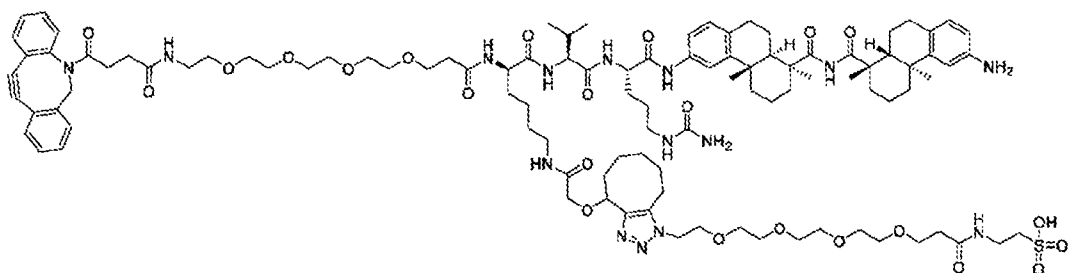
LP1;



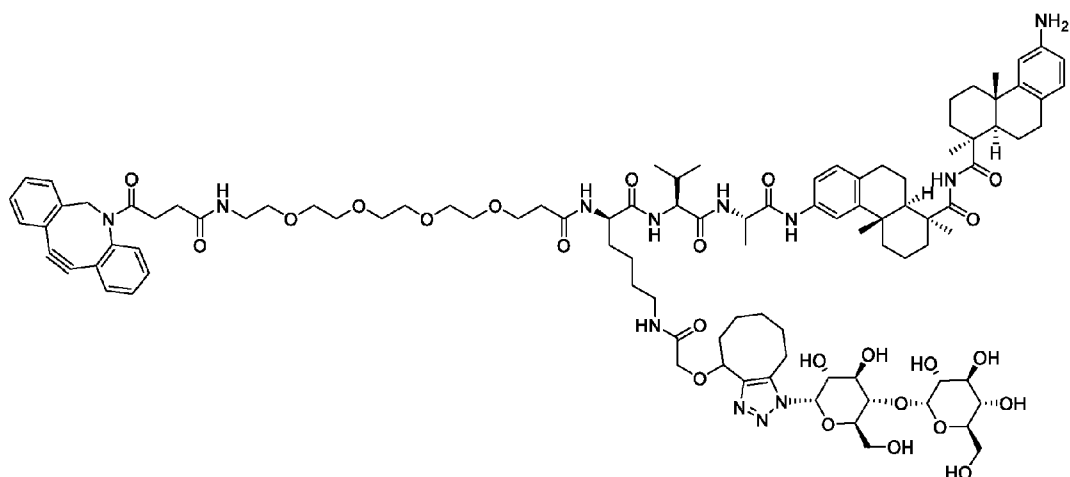
LP2;



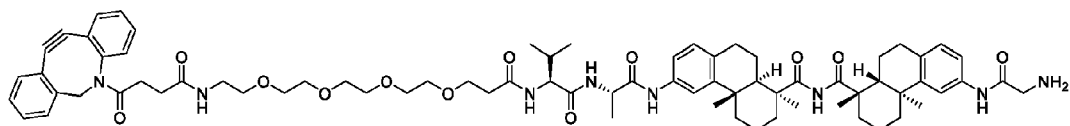
LP3;



LP4;

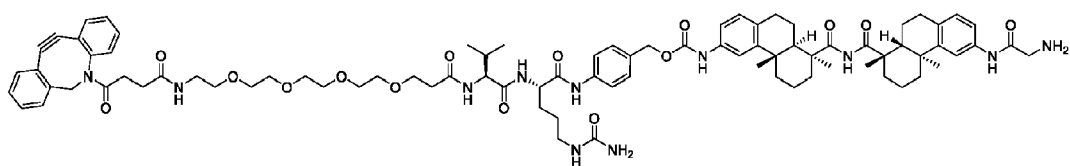


LP5;

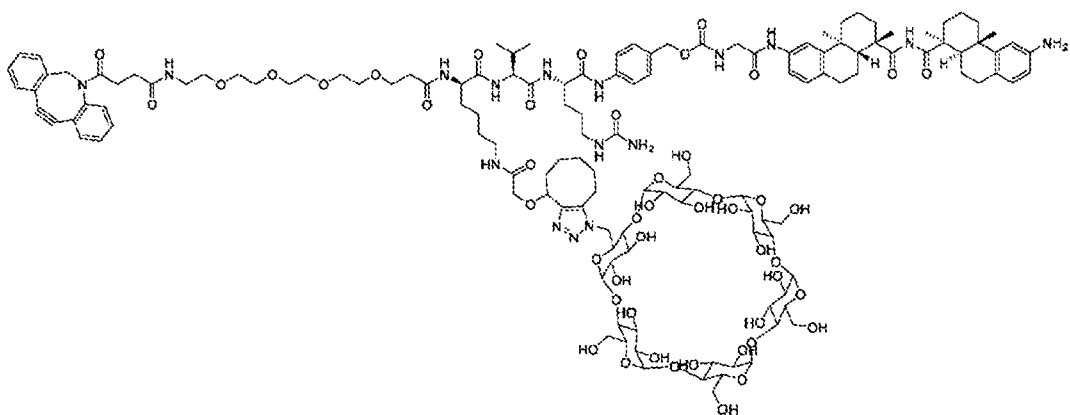


5

LP6;

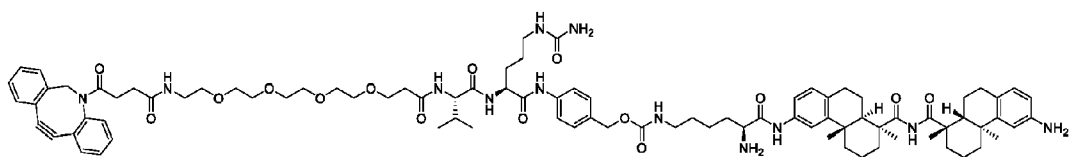


LP7;

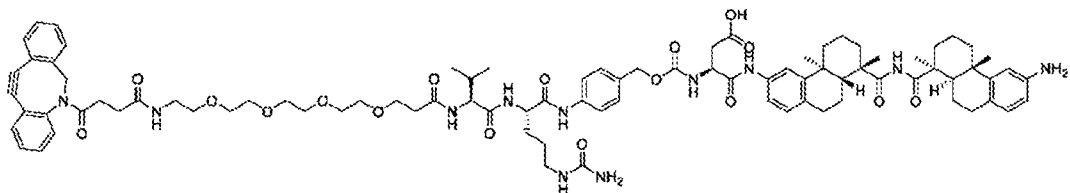


LP8;

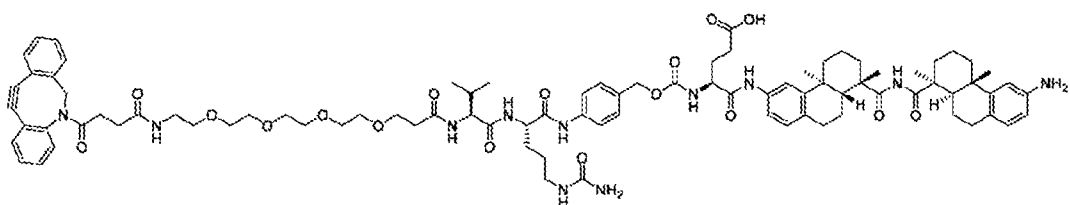
10



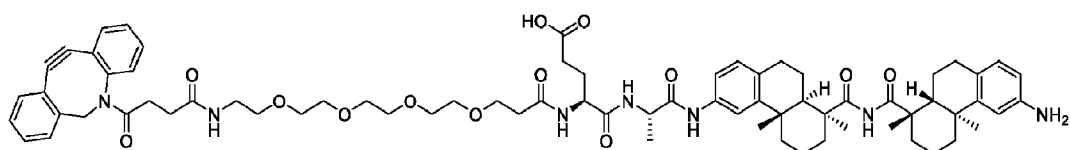
LP9;



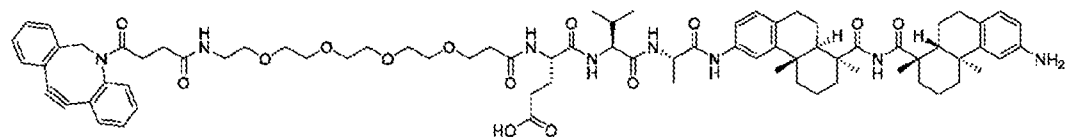
LP10;



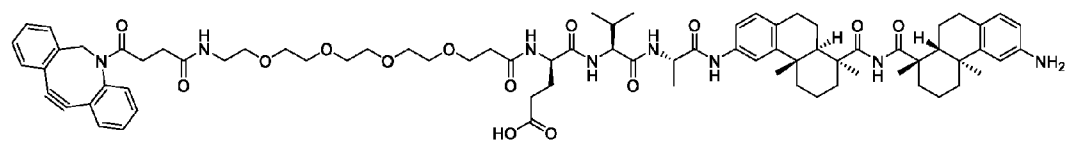
LP11;



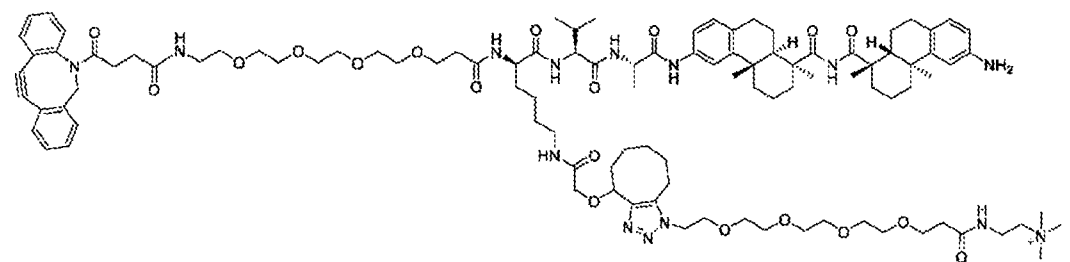
LP12;



LP13;



LP14;



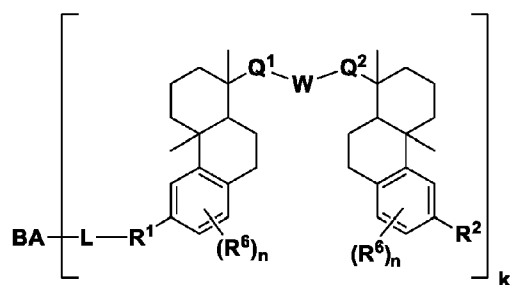
LP20;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

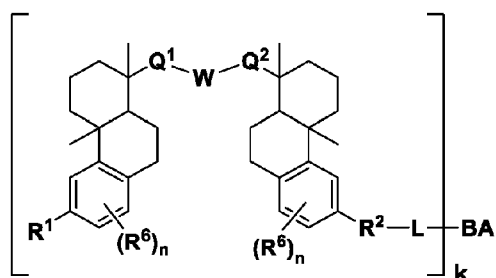
20. Un conjugado de anticuerpo-fármaco que comprende el compuesto o enlazador-carga activa de cualquier reivindicación anterior unido a un anticuerpo o a un fragmento de unión a antígeno del mismo.

5

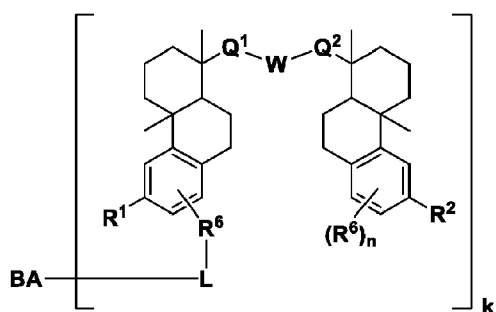
21. Un compuesto de Fórmula A, B, C o D



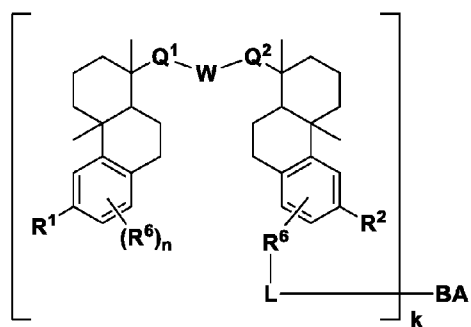
(A)



(B)



(C)



(D)

10

15

o una sal o forma farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde

L es un enlazador;

BA es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo;

k es un número entero de uno a treinta;

cada uno de Q^1 y Q^2 es independientemente $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-C(H)(OH)-$, $-C(OH)_2-$, $-SO_2-$, $-SO-$, $-PO(OR^3)-$, $-PO(NR^3NR^4)-$, $-NR^3-$ o $-N=$;

W es $-CH_2-$, $-N(H)-$ o $-O-$;

R^1 es $-N(H)R^4$, $-N(H)R^4-$, $-N(H)-$, $-N(R^5)_2$ o $-N(R^5)_2-$;

R^2 es $-N(H)R^4$, $-N(H)R^4-$ o $-N(H)-$;

cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido o -alquilen-;

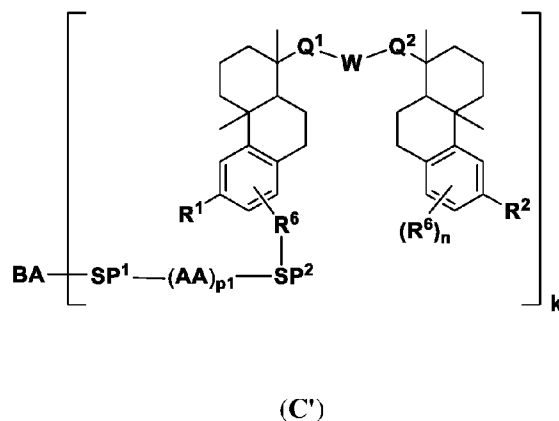
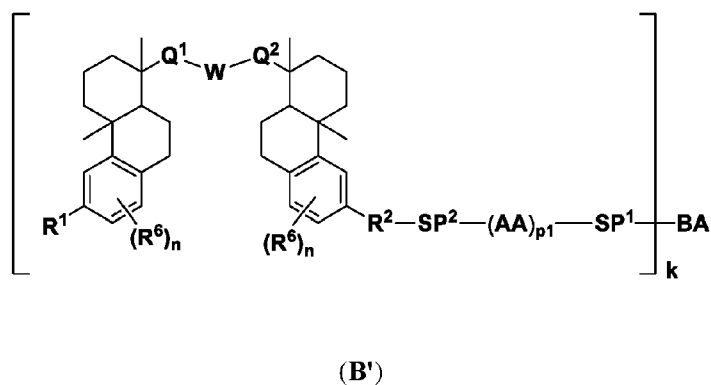
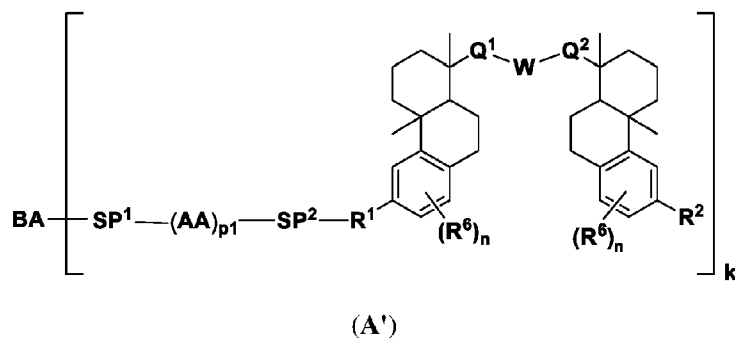
R^5 es alquilo, arilo, arilalquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, y cuando está sustituido incluye al menos un $-OH$ y $-CH_2OH$, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

cada R^6 es independientemente halógeno, alquilo C_{1-6} , alquilen C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-CN$, *O*-glucosa, resto de *O*-aminoácido u *O*-PEG_{*n*}, en donde cada *n* es un número entero de cero a catorce y cada *n*1 es un número entero de uno a doce;

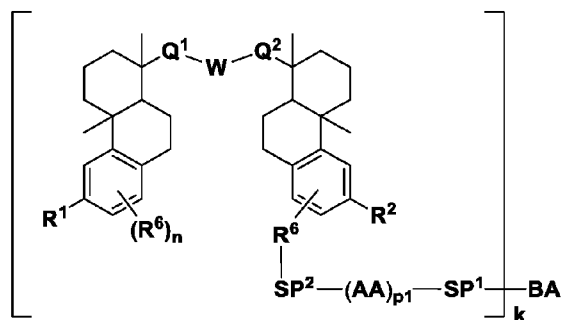
cada R^3 es independientemente hidrógeno, alquilo o arilo;
y cada fracción biodegradable es un poliéster alifático.

22. El compuesto de la reivindicación 21, en donde cada R^4 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un resto de aminoácido, un resto de *N*-alquilaminoácido, un resto peptídico, una fracción biodegradable, alquilo o -alquilen-.

23. El compuesto de la reivindicación 21, que tiene la fórmula **A'**, **B'**, **C'** o **D'**



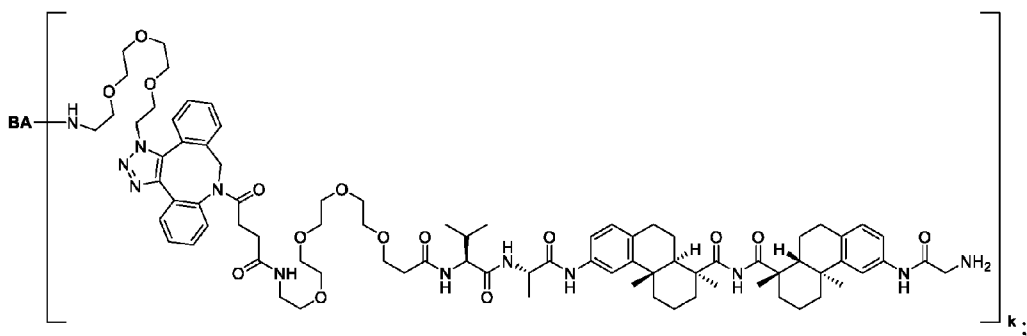
o



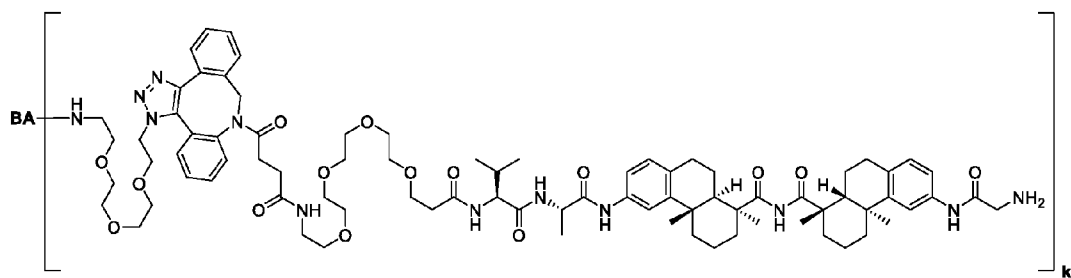
(D')

5 en donde **SP¹** y **SP²**, cuando están presentes, son grupos espaciadores; cada **AA** es un resto de aminoácido; y **p1** es un número entero de uno a diez.

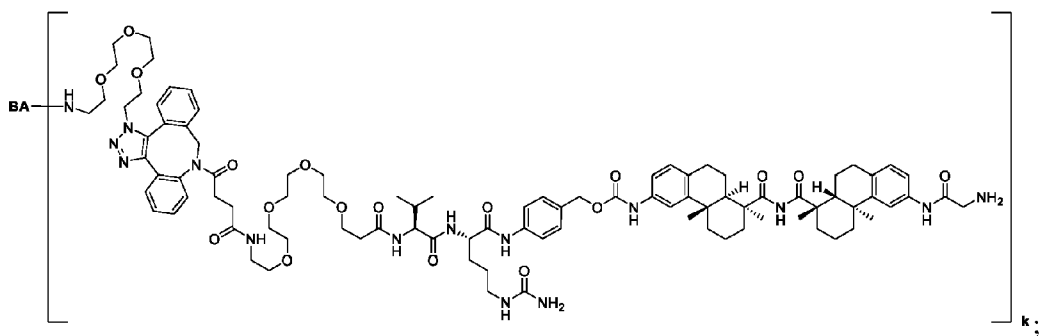
24. El compuesto de la reivindicación 23, seleccionado entre el grupo que consiste en



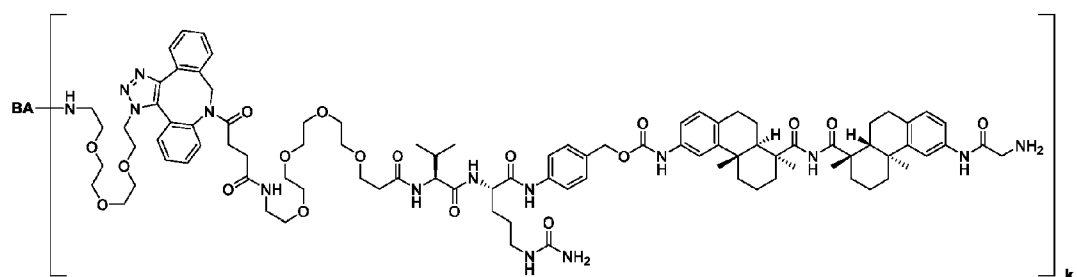
10



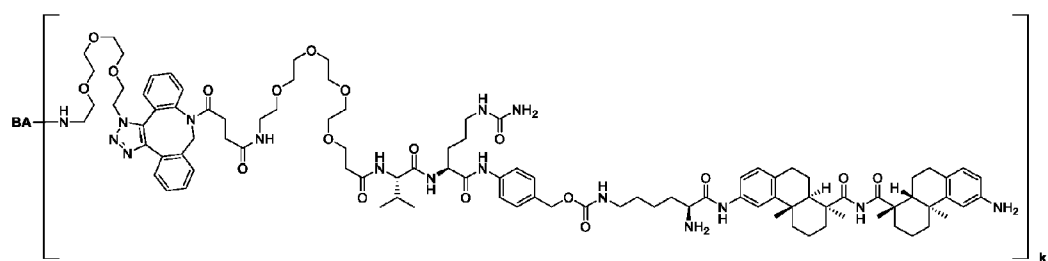
;



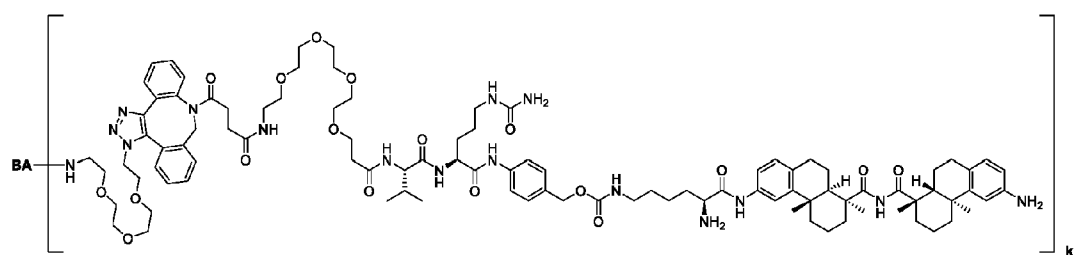
15



;

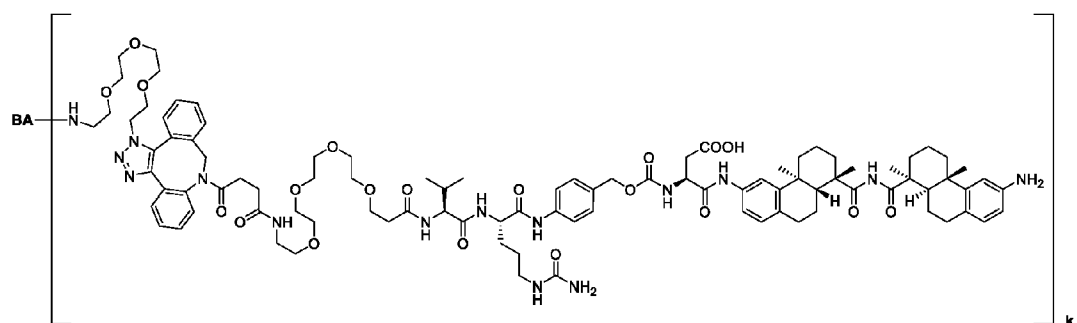


;

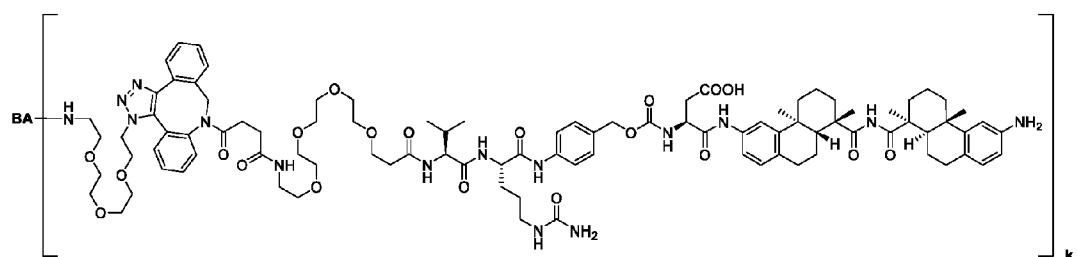


;

5

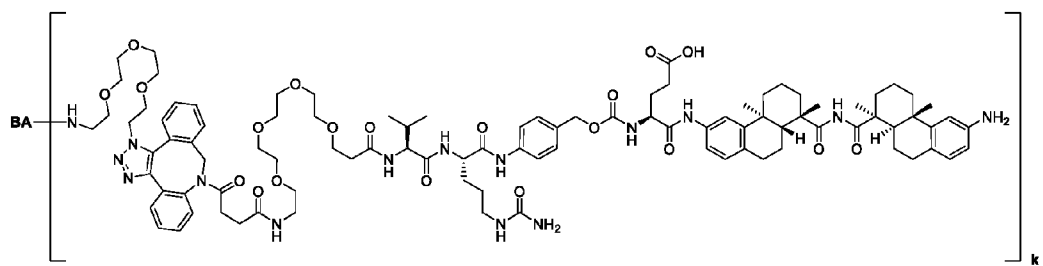


;

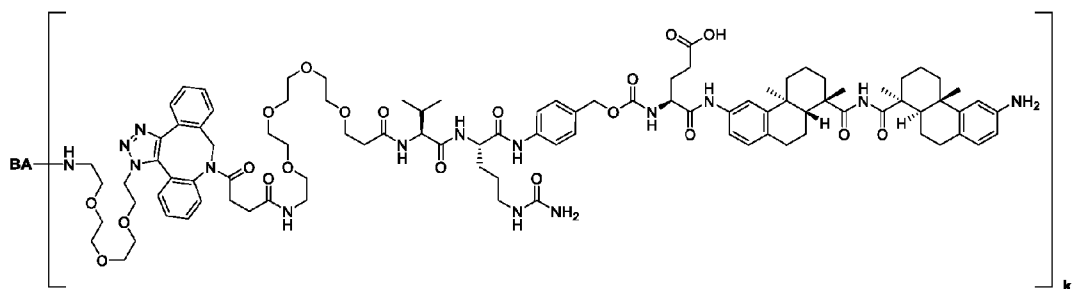


;

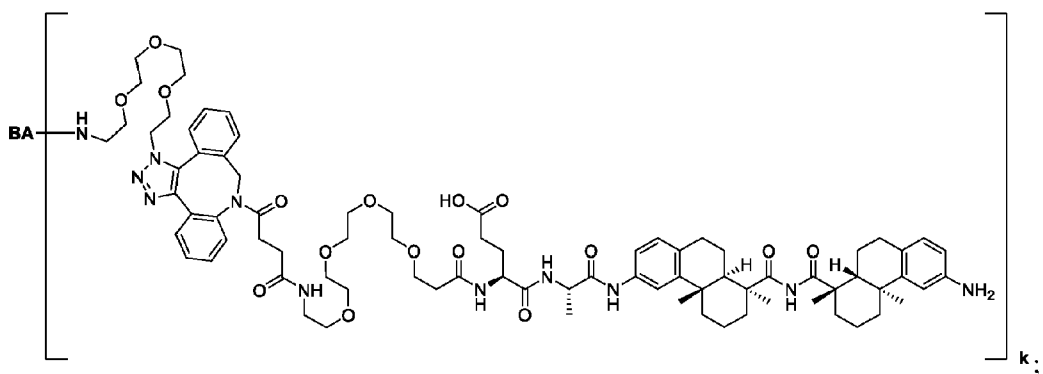
10



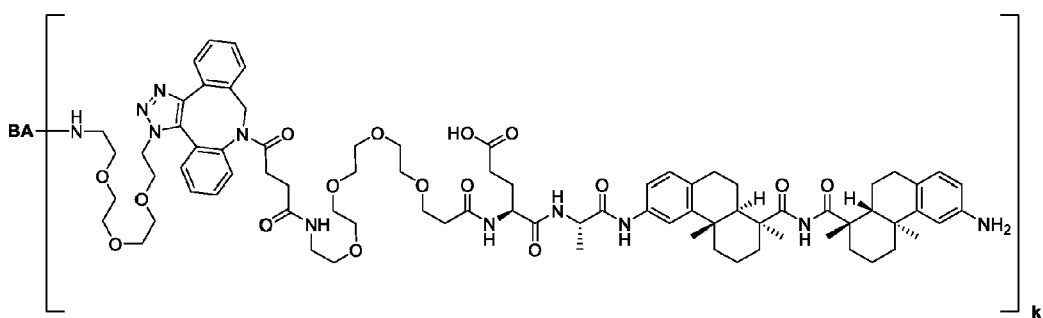
;



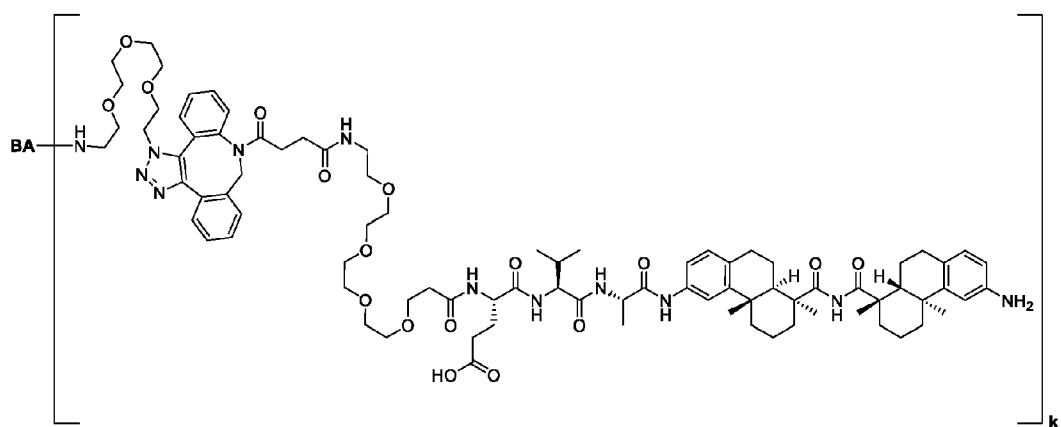
;



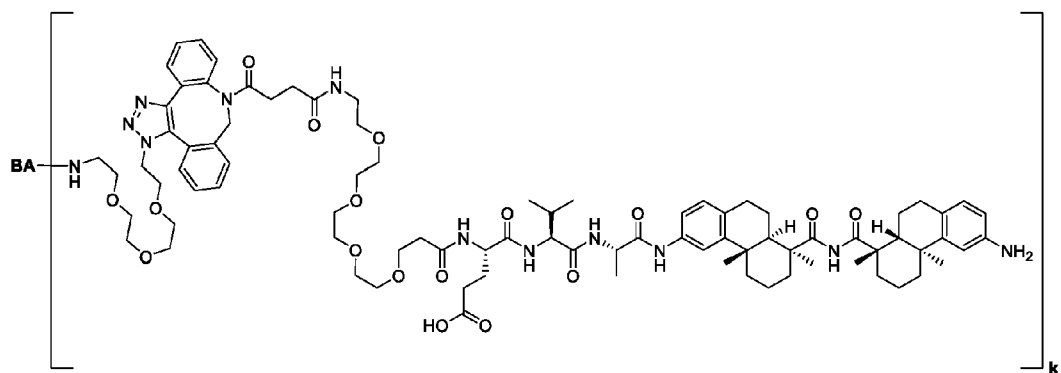
5



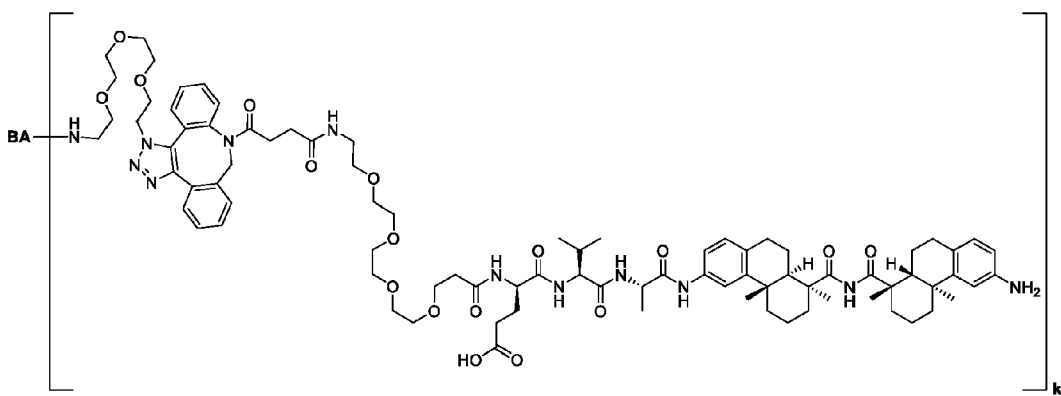
;



;



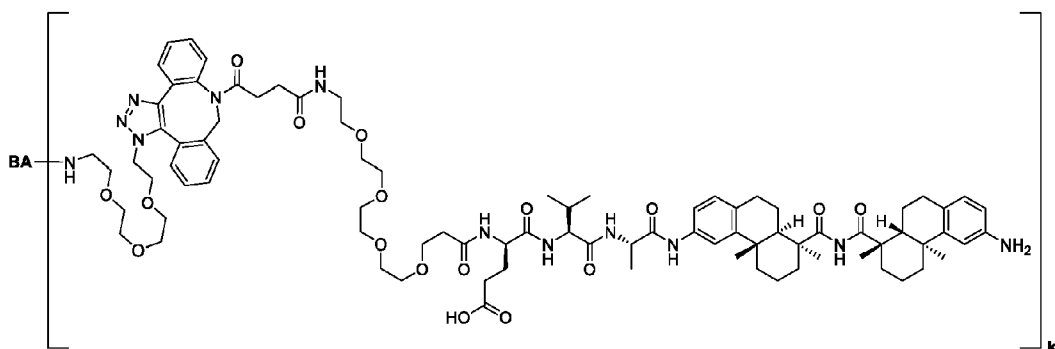
;



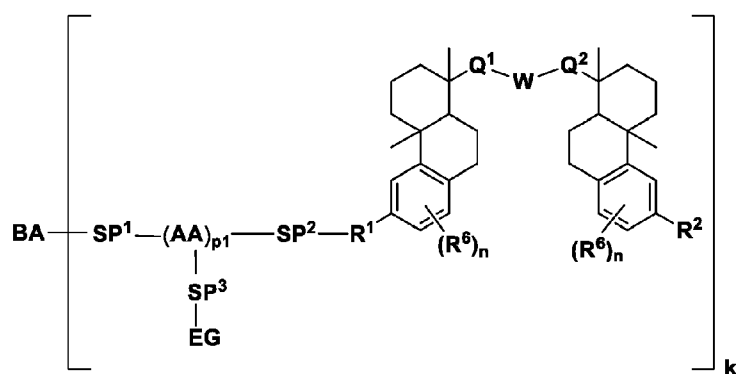
5

;

y



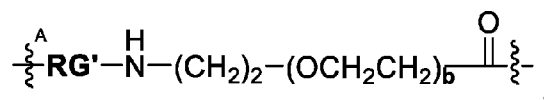
25. El compuesto, de acuerdo con la reivindicación 21, de la Fórmula (A'')



5 (A'')

o una sal farmacéuticamente aceptable, o una forma estereoisomérica de la misma, o un regioisómero de la misma, en donde

10 cada SP^1 , SP^2 y SP^3 es un grupo espaciador, donde SP^3 está unido a un AA de $(AA)_{p1}$;
 cada AA es un resto de aminoácido;
 $p1$ es un número entero de uno a diez;
 EG es un agente potenciador de la solubilidad, preferentemente en donde
 el espaciador SP^1 es



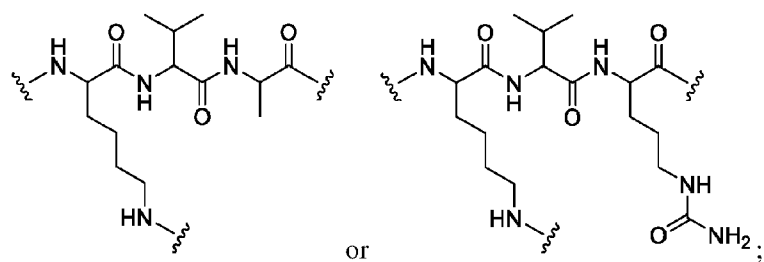
en donde

20 RG' es un resto de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo RG con un agente de unión;



25 es un enlace, directo o indirecto, al agente de unión; y
 b es un número entero de uno a cuatro;

(AA)_{p1} es



SP^2 es un enlace o PABC;
el espaciador SP^3 es

5



en donde

10

RG' es un resto de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo RG con EG ;



es un enlace con EG ; y

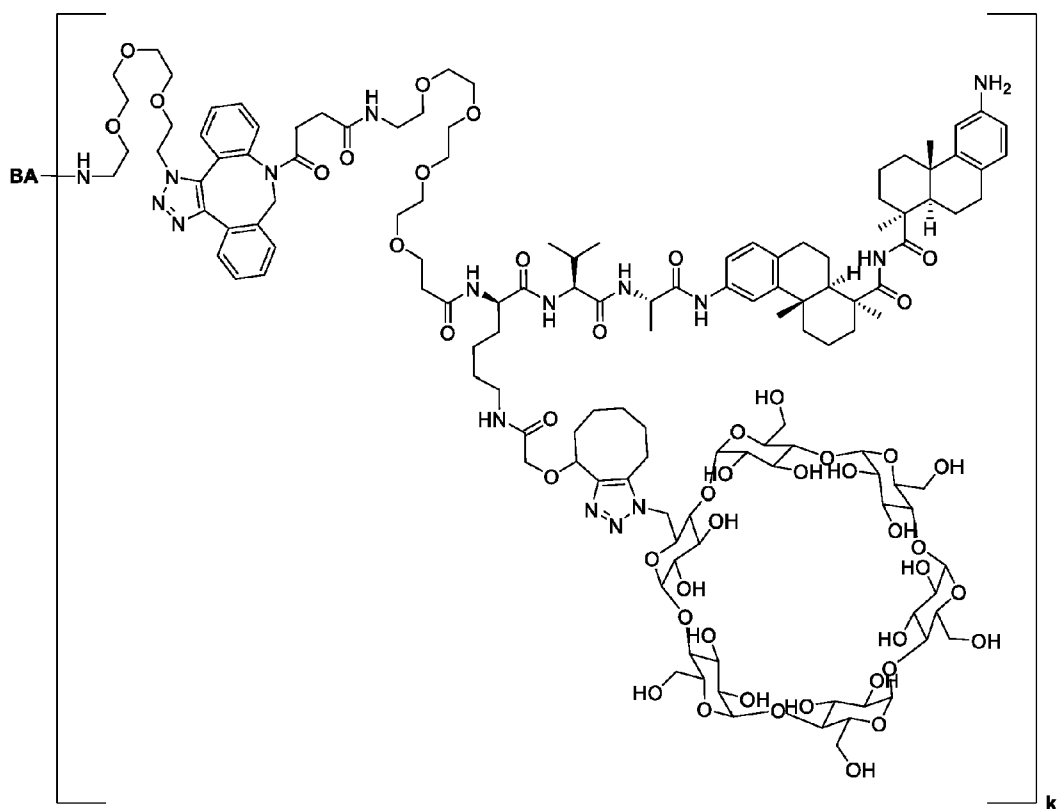
15



es un enlace con $(AA)_{p1}$ y/o

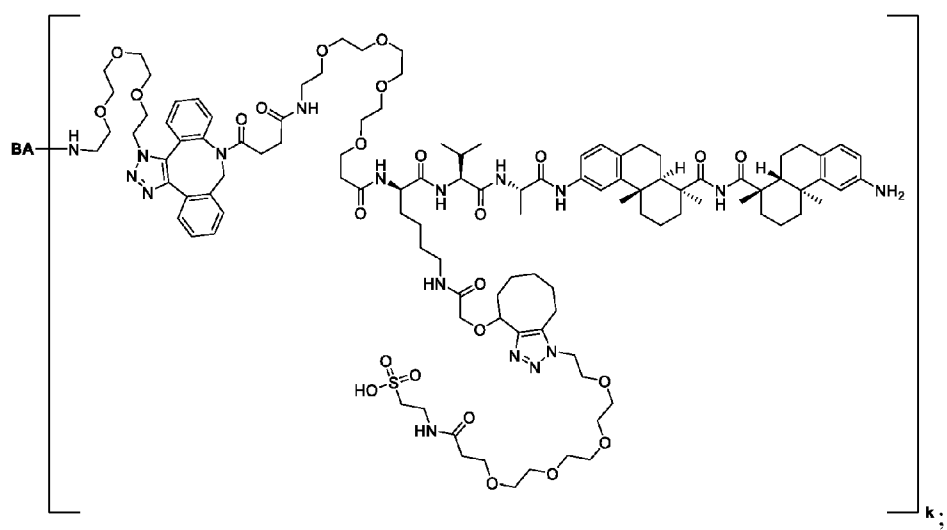
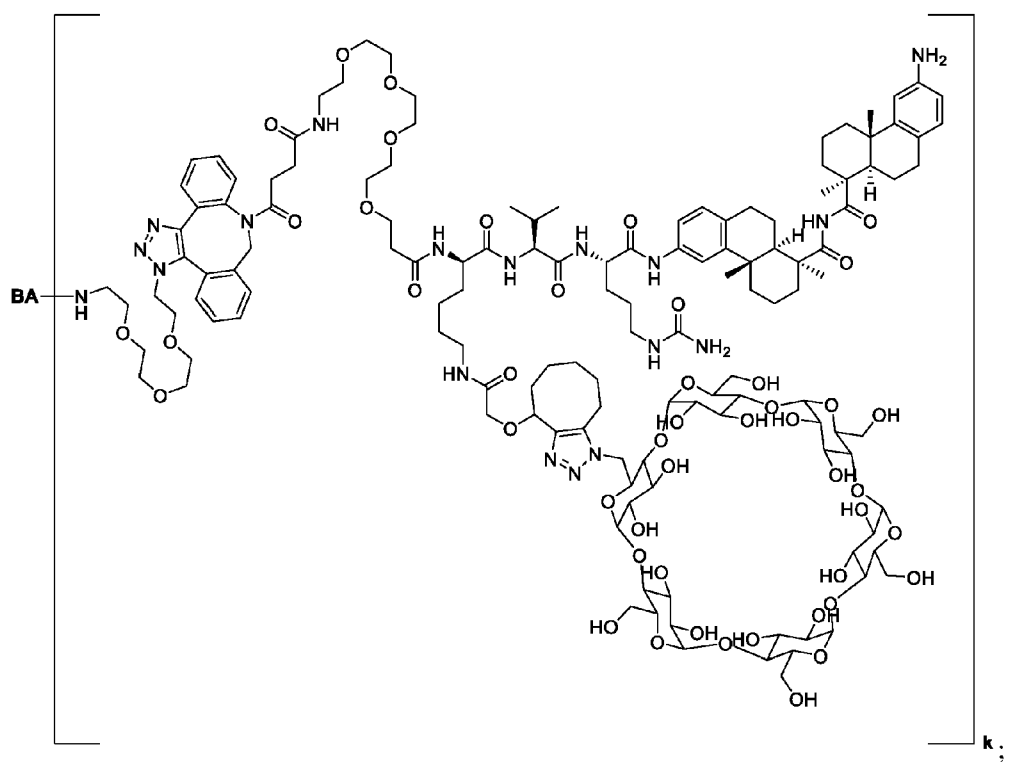
20

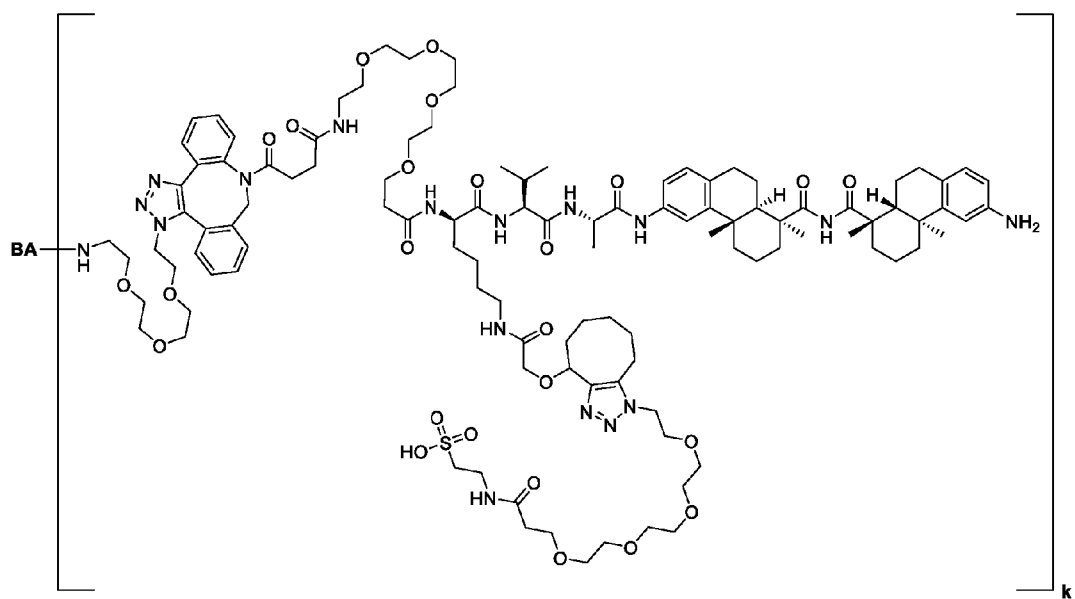
el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en



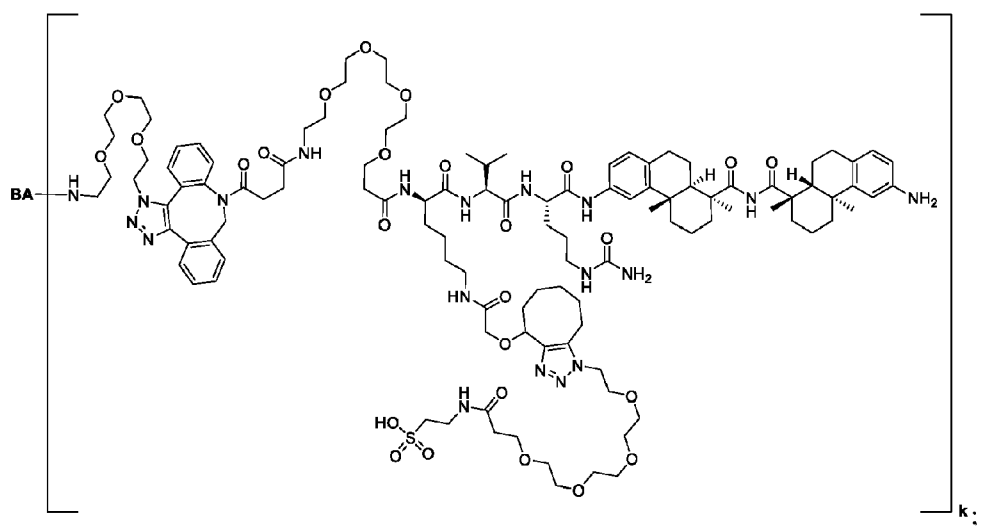
;

Chemical structure of a complex molecule, likely a dendronized polymer or a large molecule with multiple functional groups. The structure is enclosed in brackets with a subscript k . It features a central core with multiple branches, including a large polycyclic aromatic system (possibly a phthalocyanine derivative) and a large polycyclic aliphatic system (possibly a steroid derivative). The molecule is terminated with various functional groups, including hydroxyl groups, amide groups, and a terminal amine group (NH_2).

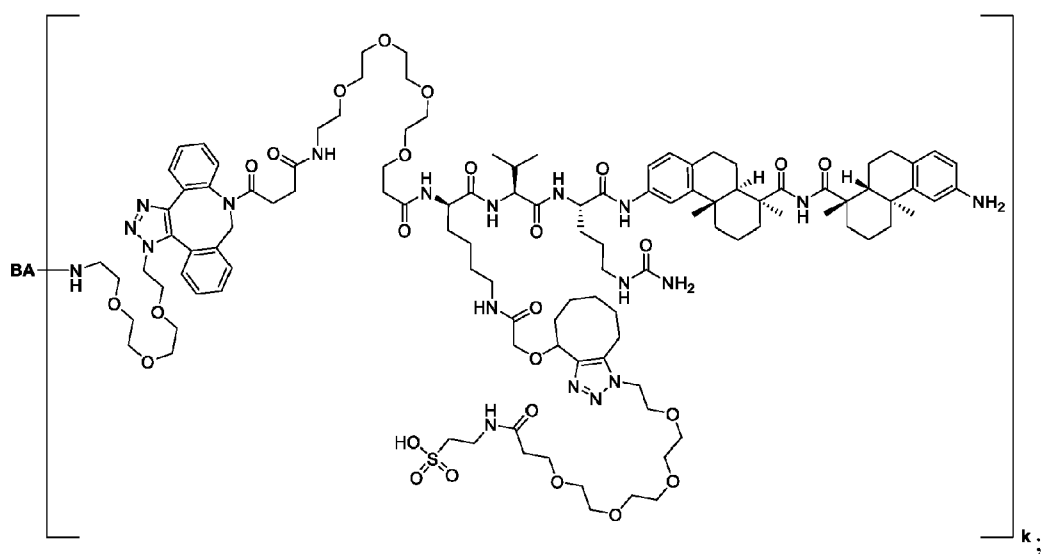


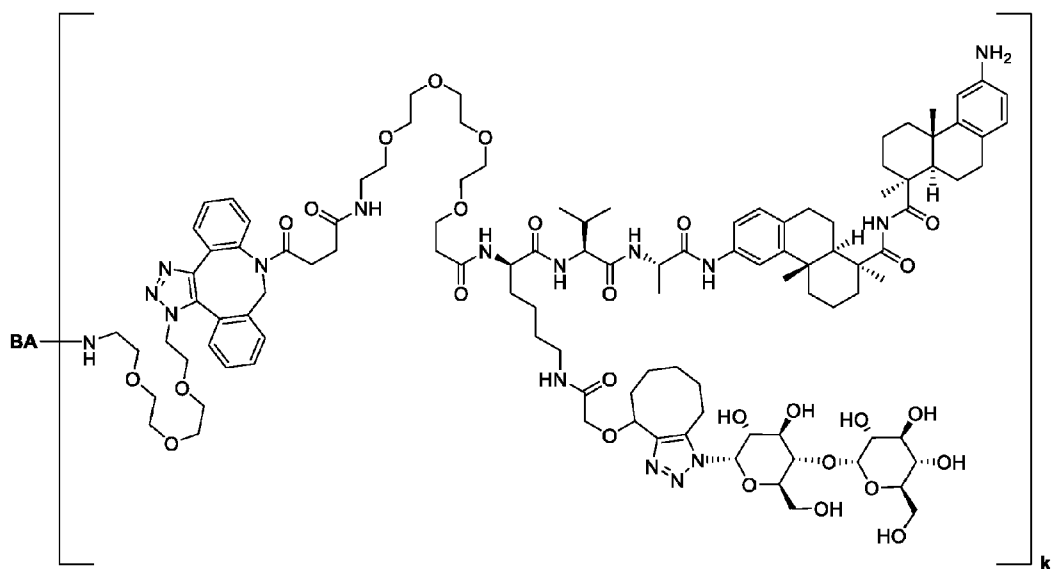
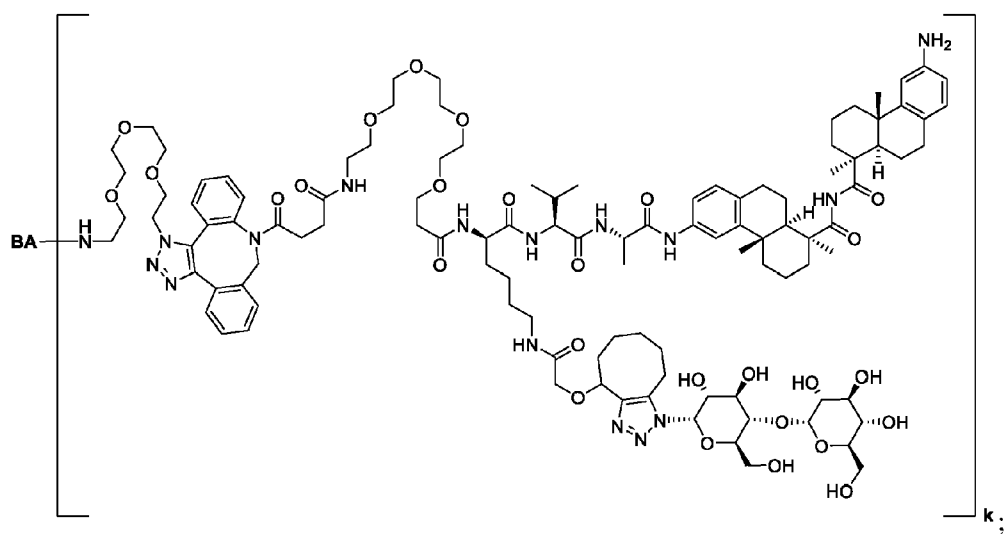


;

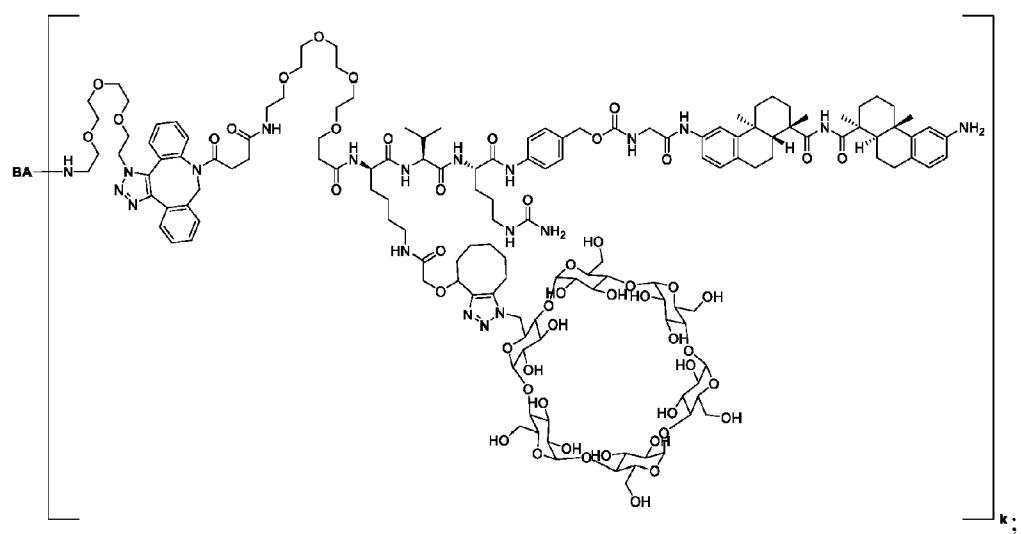


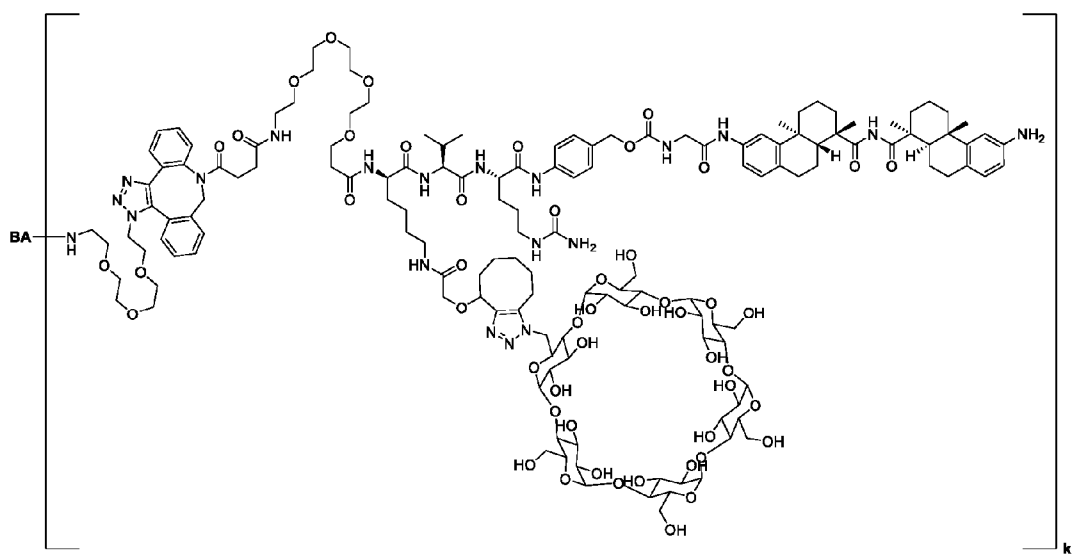
;



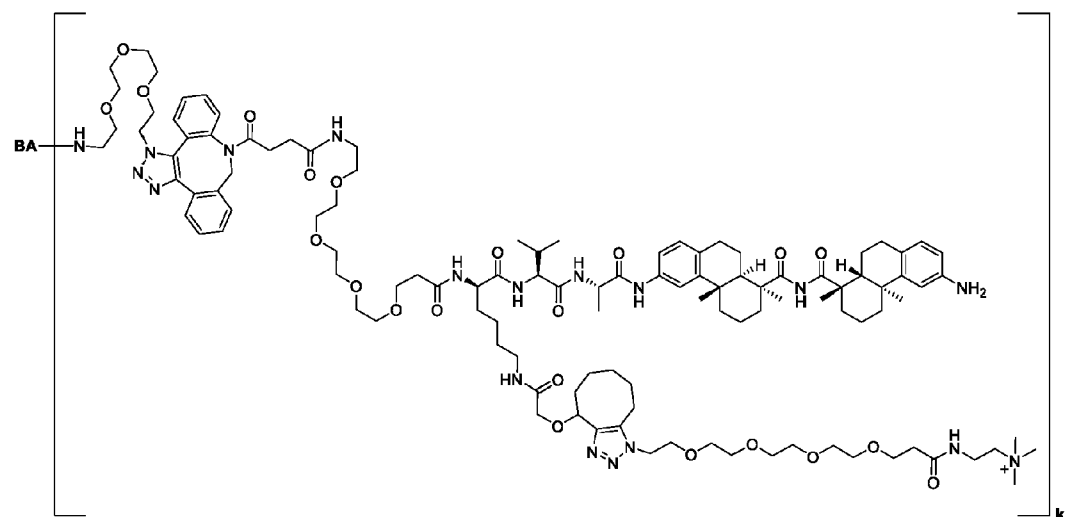


;



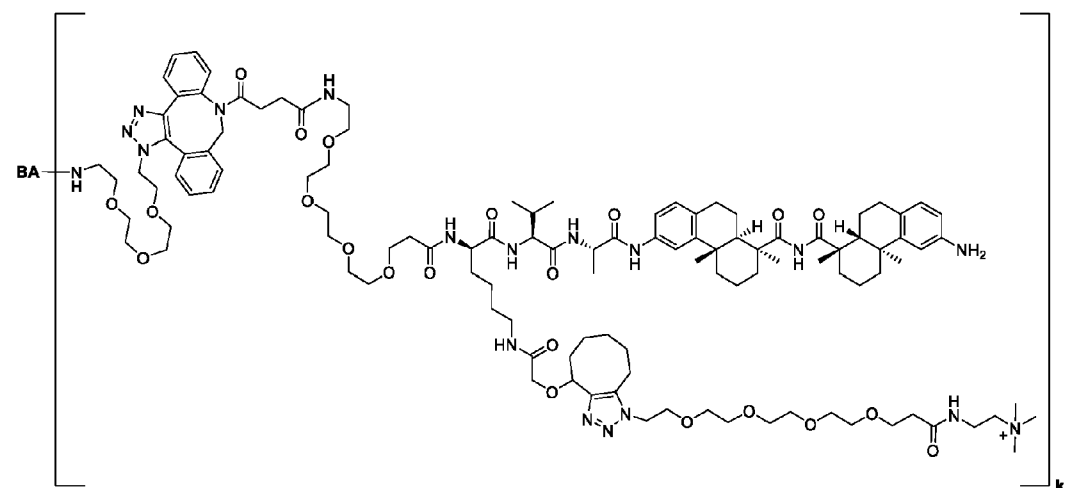


;



;

5 y



.

26. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 21–25, en donde

- (i) **BA** es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo;
- (ii) **k** es un número entero de uno a cuatro;
- (iii) **BA** es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a (a) HER2, (b) PRLR o (c) MSR1;
- (iv) **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y la conjugación se realiza a través de al menos un resto Q295, preferentemente la conjugación es a través de dos restos Q295;
- (v) **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión a antígeno del mismo;
- (vi) **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión a antígeno del mismo y la conjugación se realiza a través de al menos un resto Q295 y al menos un resto Q297; y/o
- (vii) **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión a antígeno del mismo y la conjugación se realiza a través de dos restos Q295 y dos restos Q297.

27. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto, enlazador-carga activa o conjugado anticuerpo-fármaco de cualquier reivindicación anterior y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

28. Un compuesto o composición farmacéutica según se define en cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso como medicamento; por ejemplo

- (i) para su uso en el tratamiento de la dislipidemia, una enfermedad metabólica, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa;
- (ii) para su uso en el tratamiento de la dislipidemia;
- (iii) para su uso en el tratamiento de una enfermedad metabólica;
- (iv) para su uso en el tratamiento de la inflamación; o
- (v) para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa

FIG. 1. Síntesis de P1 y P2

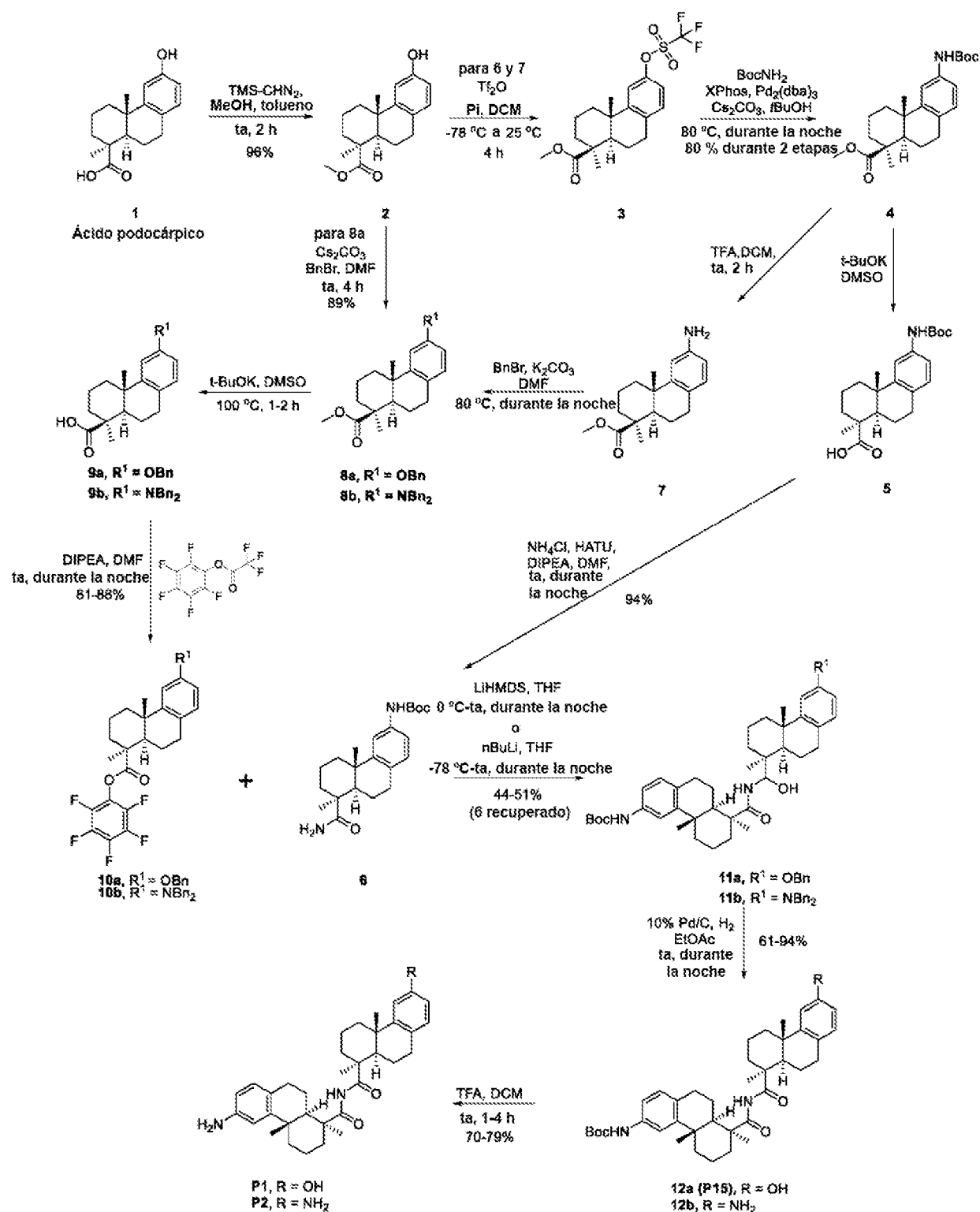


FIG. 2A. Síntesis de las cargas activas P3-P9, P13, P14 y P17

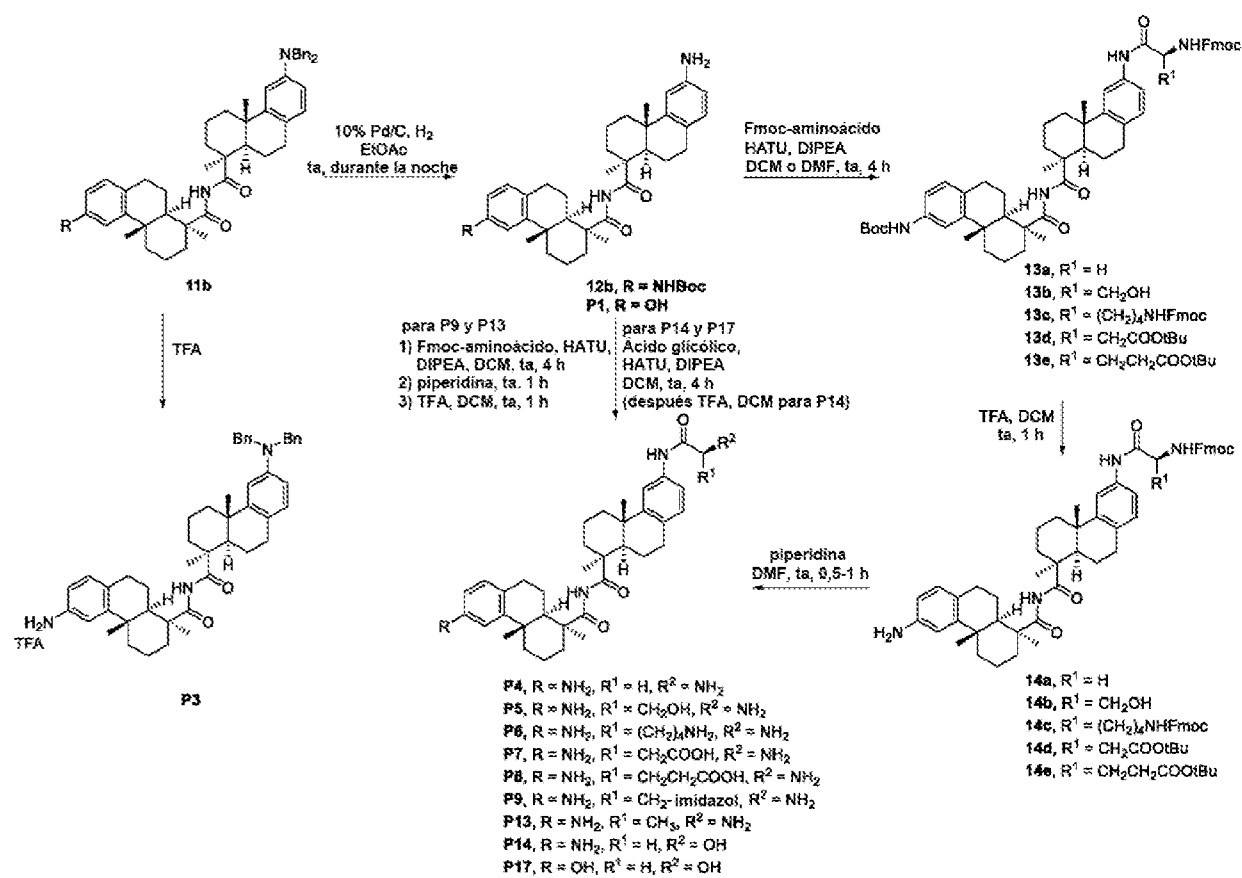


FIG. 2B. Síntesis de las cargas activas P10 y P11

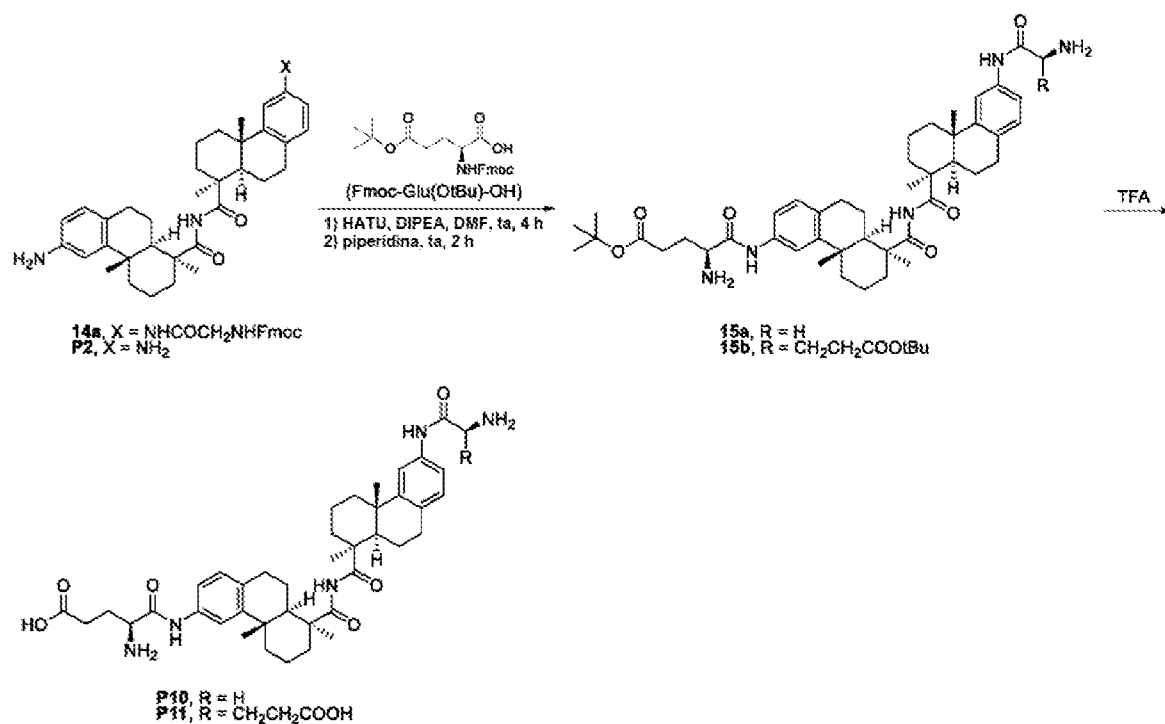


FIG. 2C. Síntesis de la carga activa P19

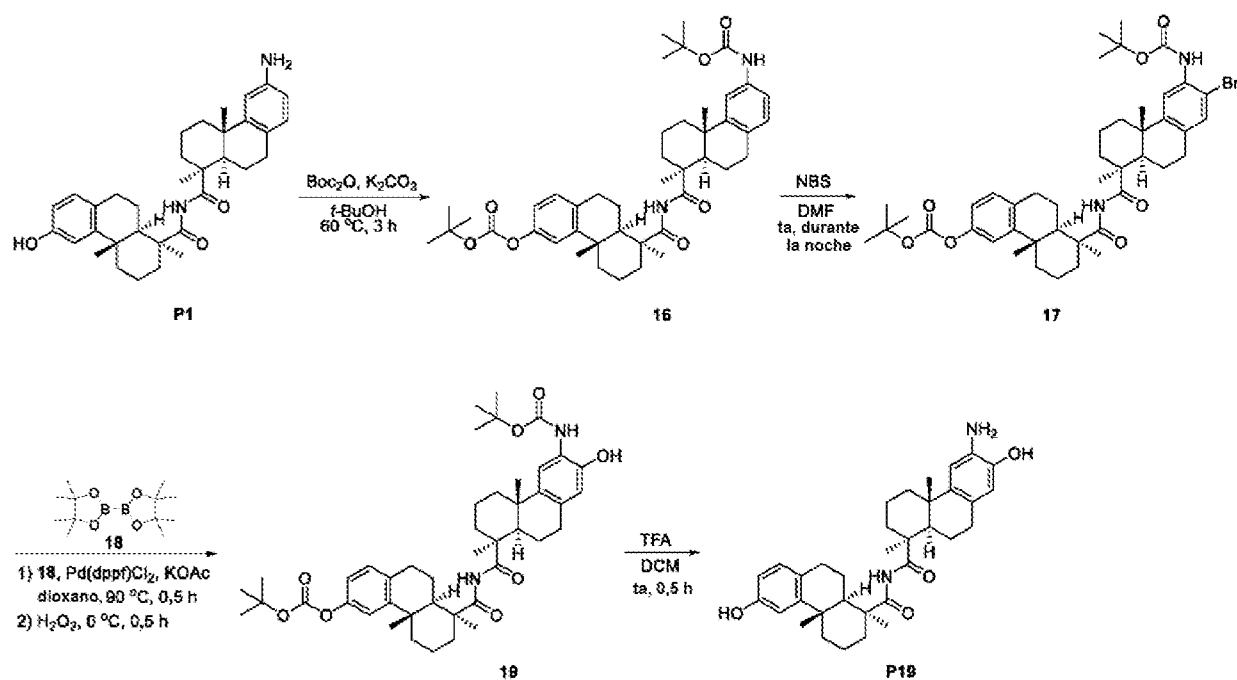


FIG. 3. Síntesis general del enlazador y LP1-5 y LP20

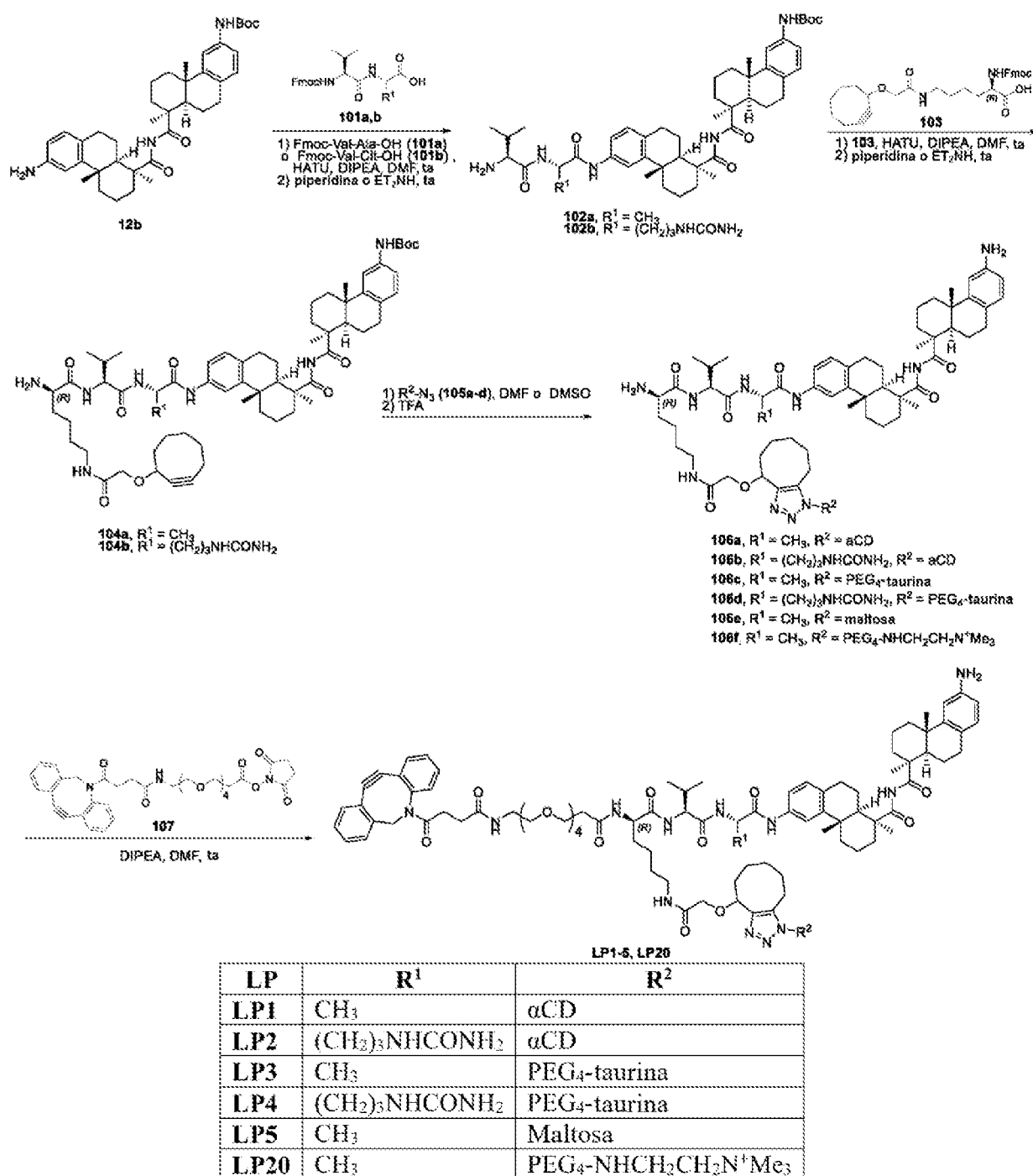


FIG. 4. Síntesis de LP6

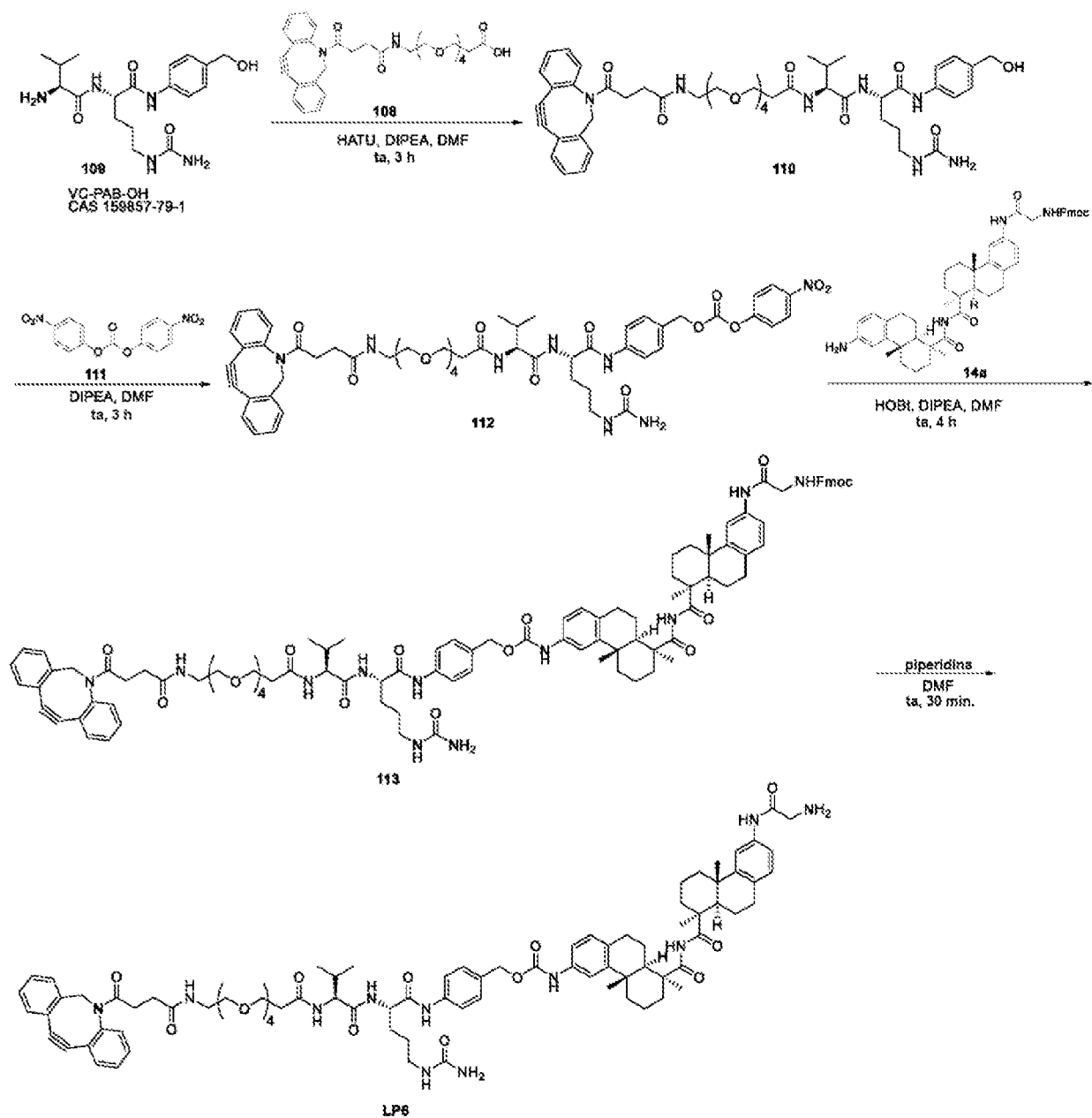


FIG. 5. Síntesis de LP7

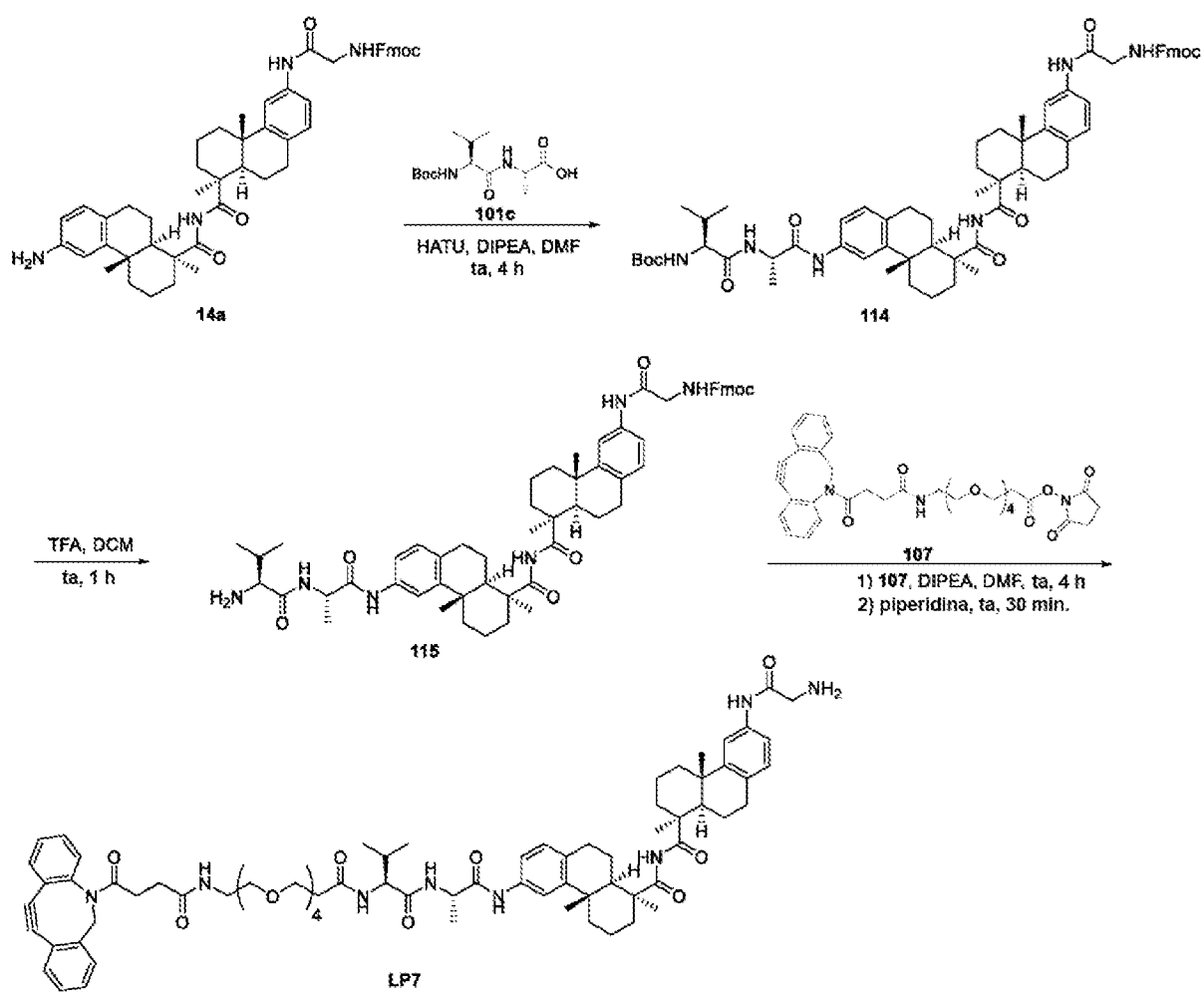


FIG. 6. Síntesis de LP8

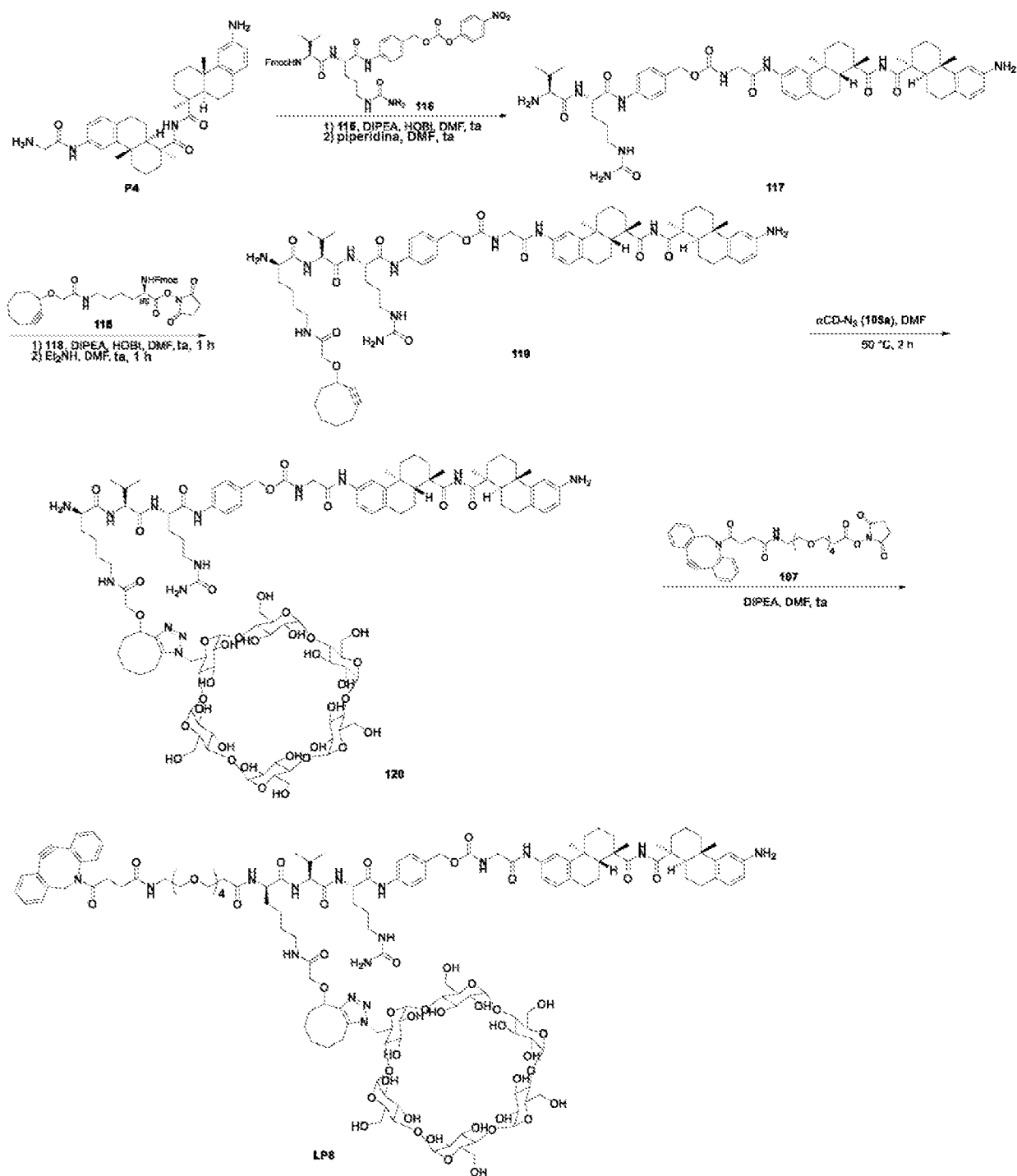


FIG. 7. Síntesis de LP9

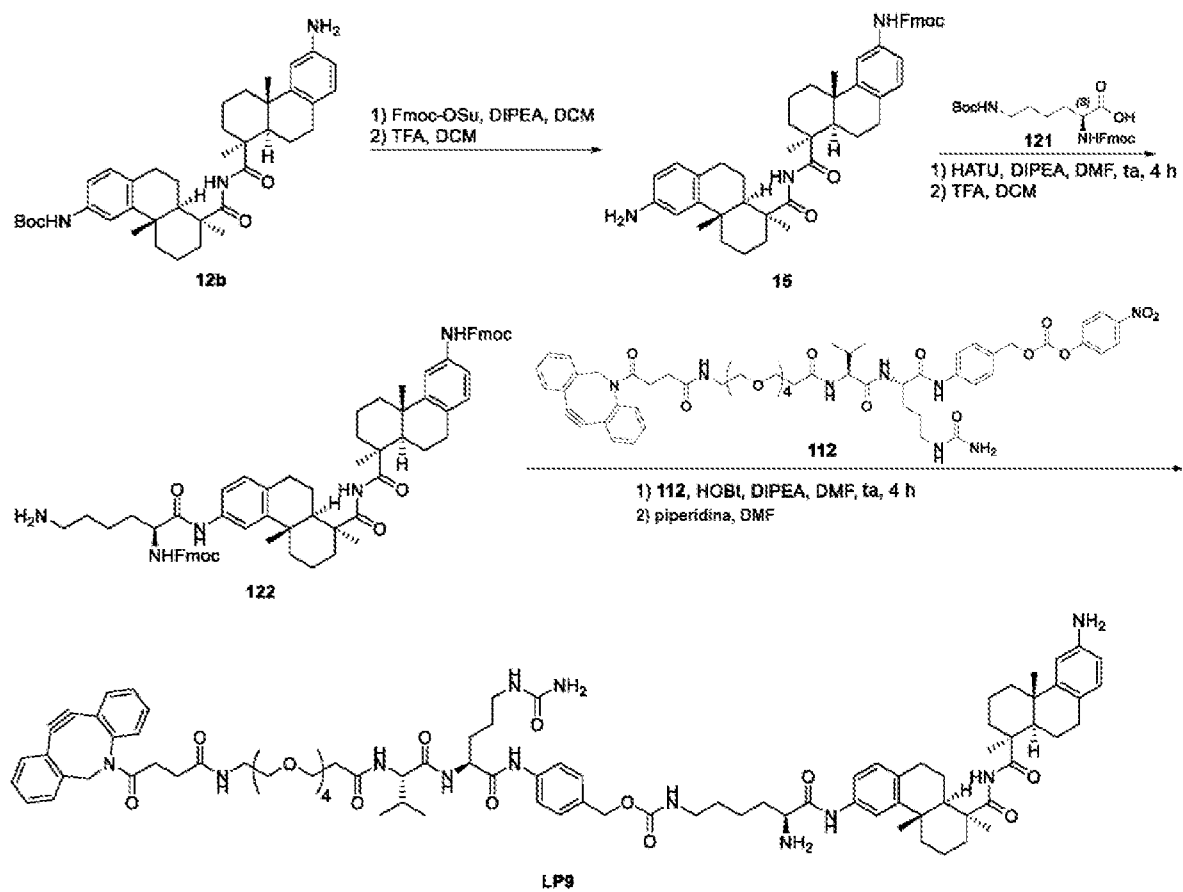


FIG. 8. Síntesis de LP10 y LP11

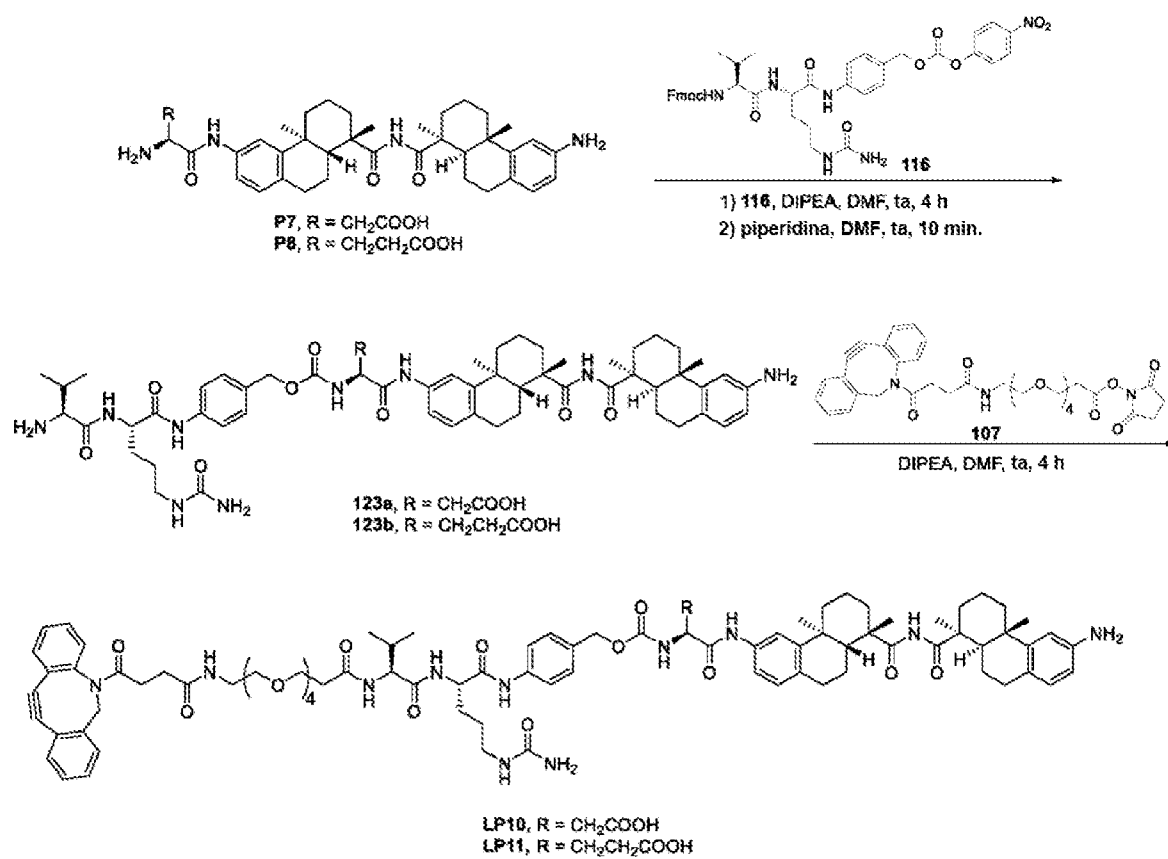


FIG. 9. Síntesis de P12 y LP12; y P16 y LP16

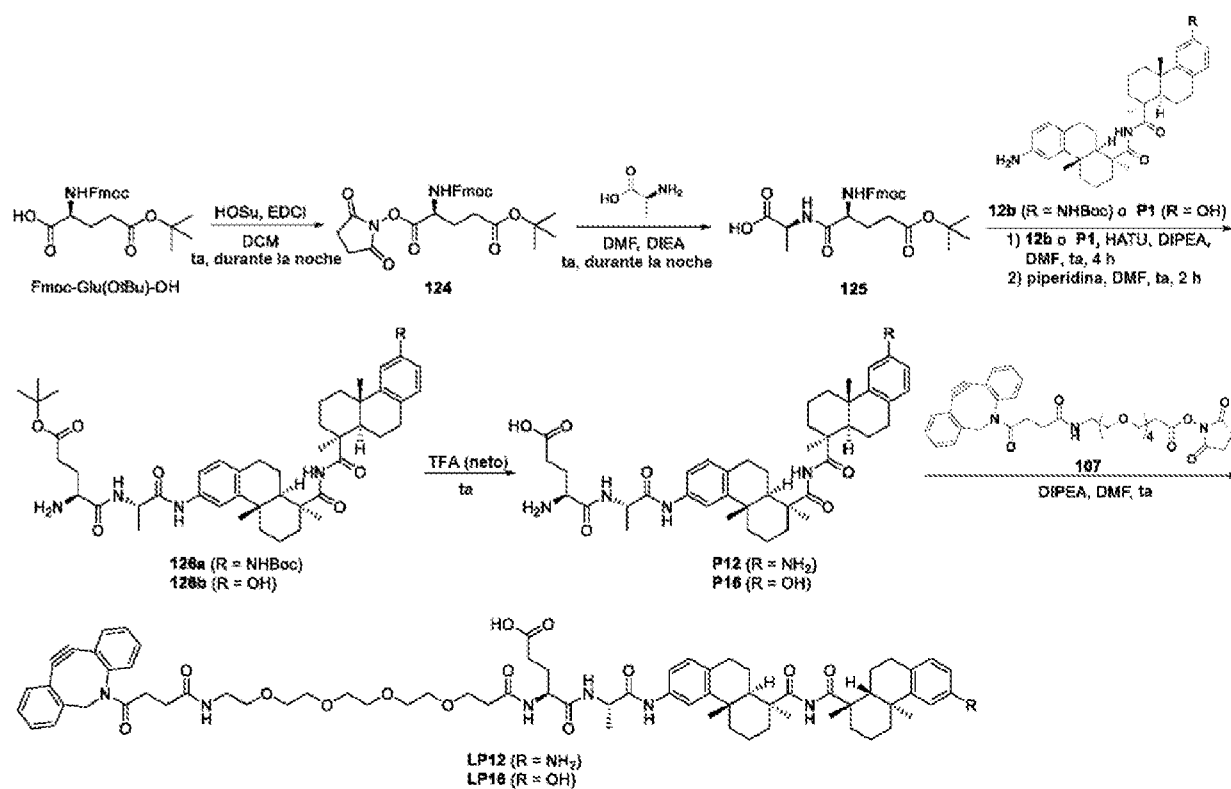


FIG. 9A. Síntesis de LP13 y LP14

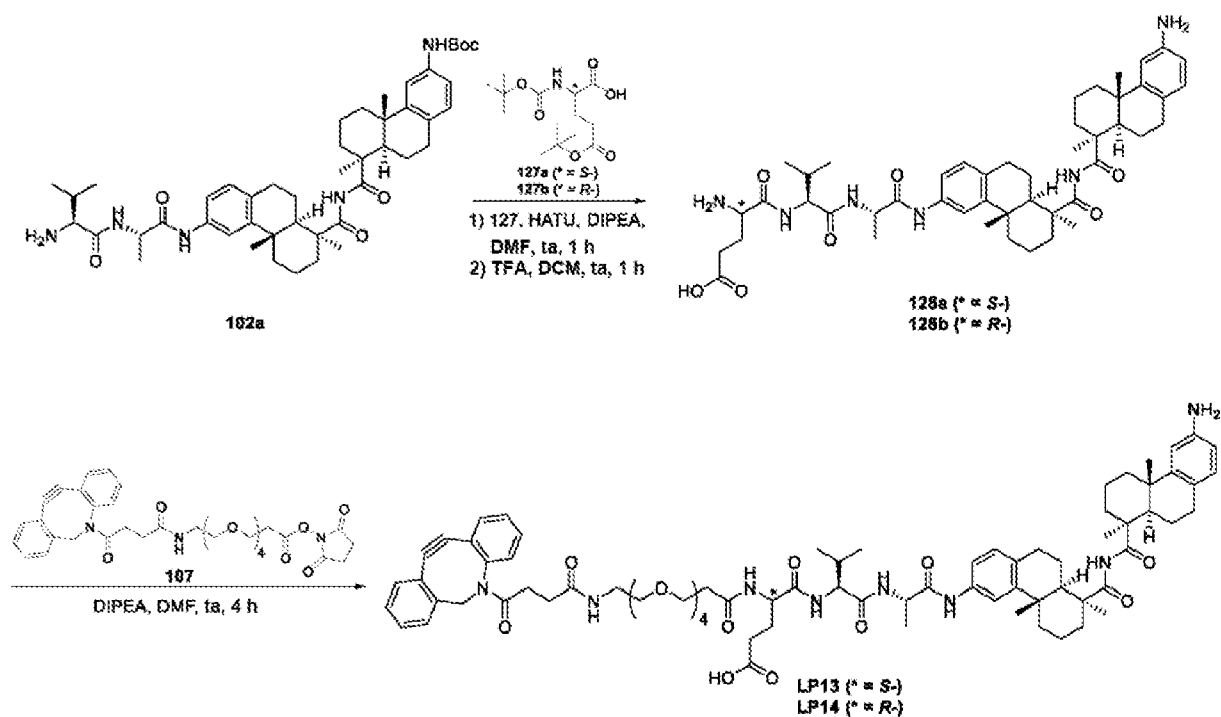


FIG. 9B. Síntesis de LP15

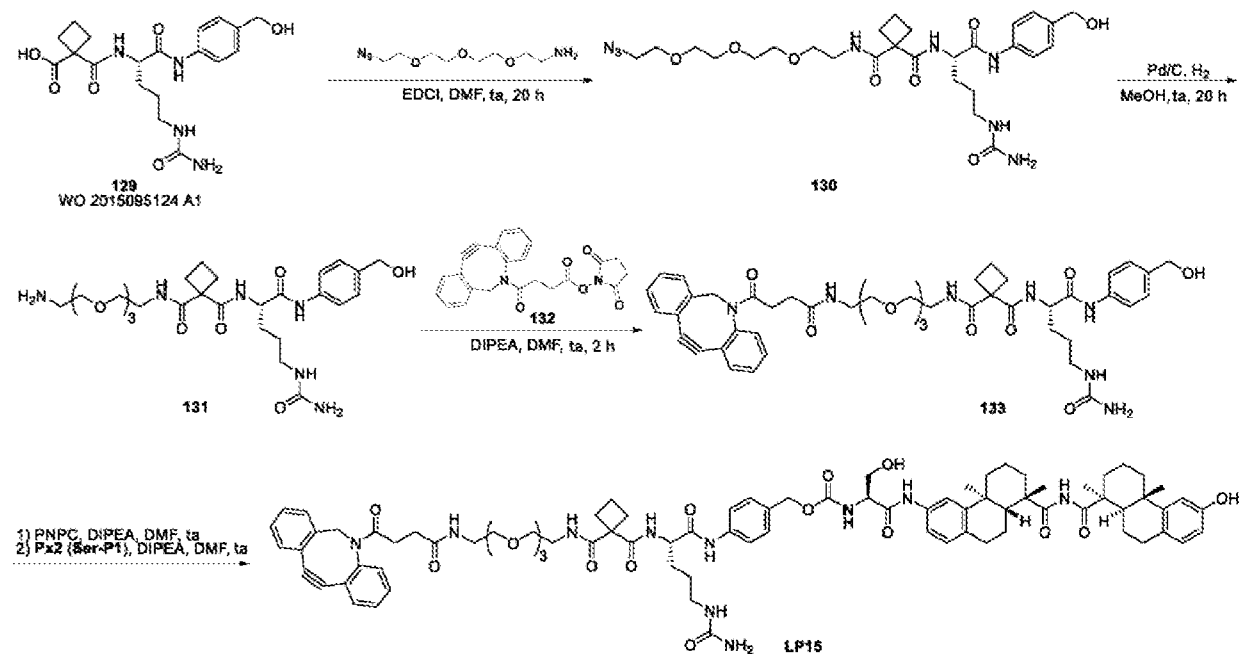


FIG. 9C. Síntesis de P18 y LP17 y LP18

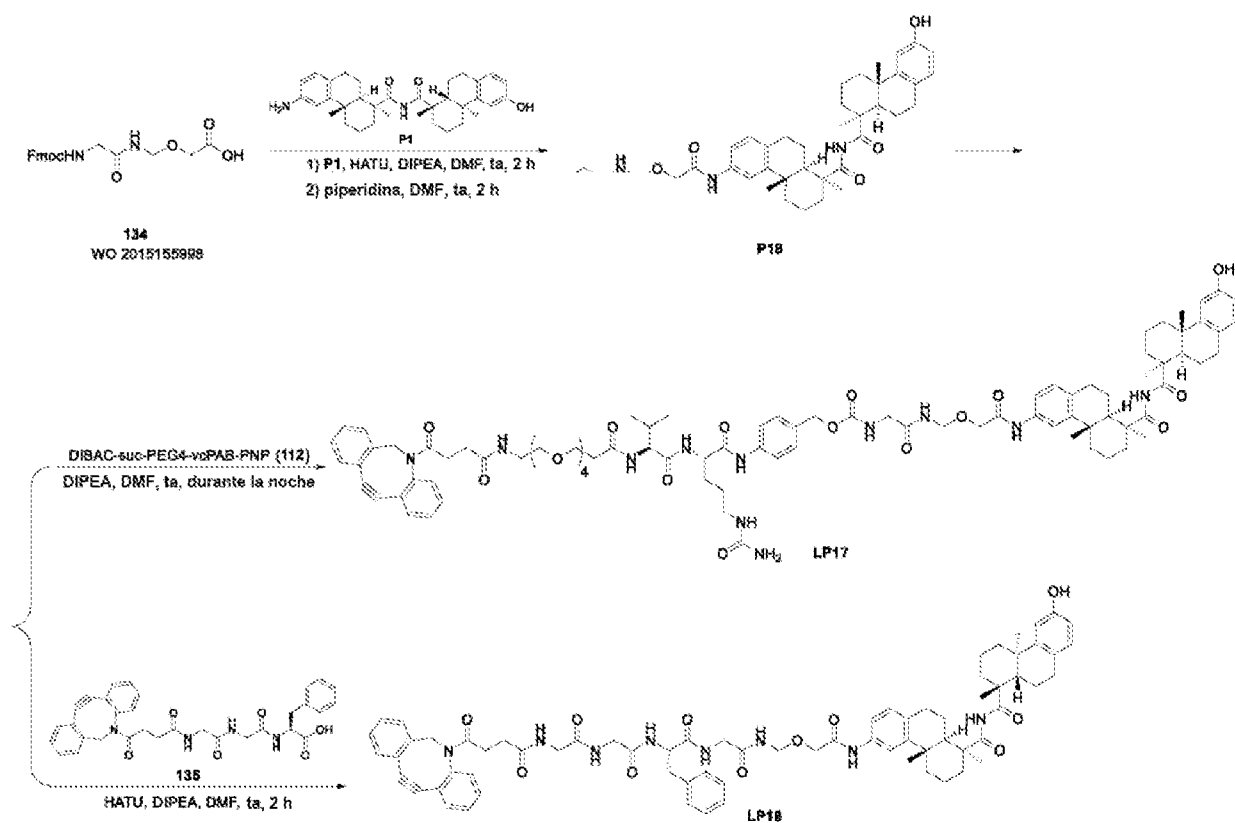


FIG. 9D. Síntesis de LP19

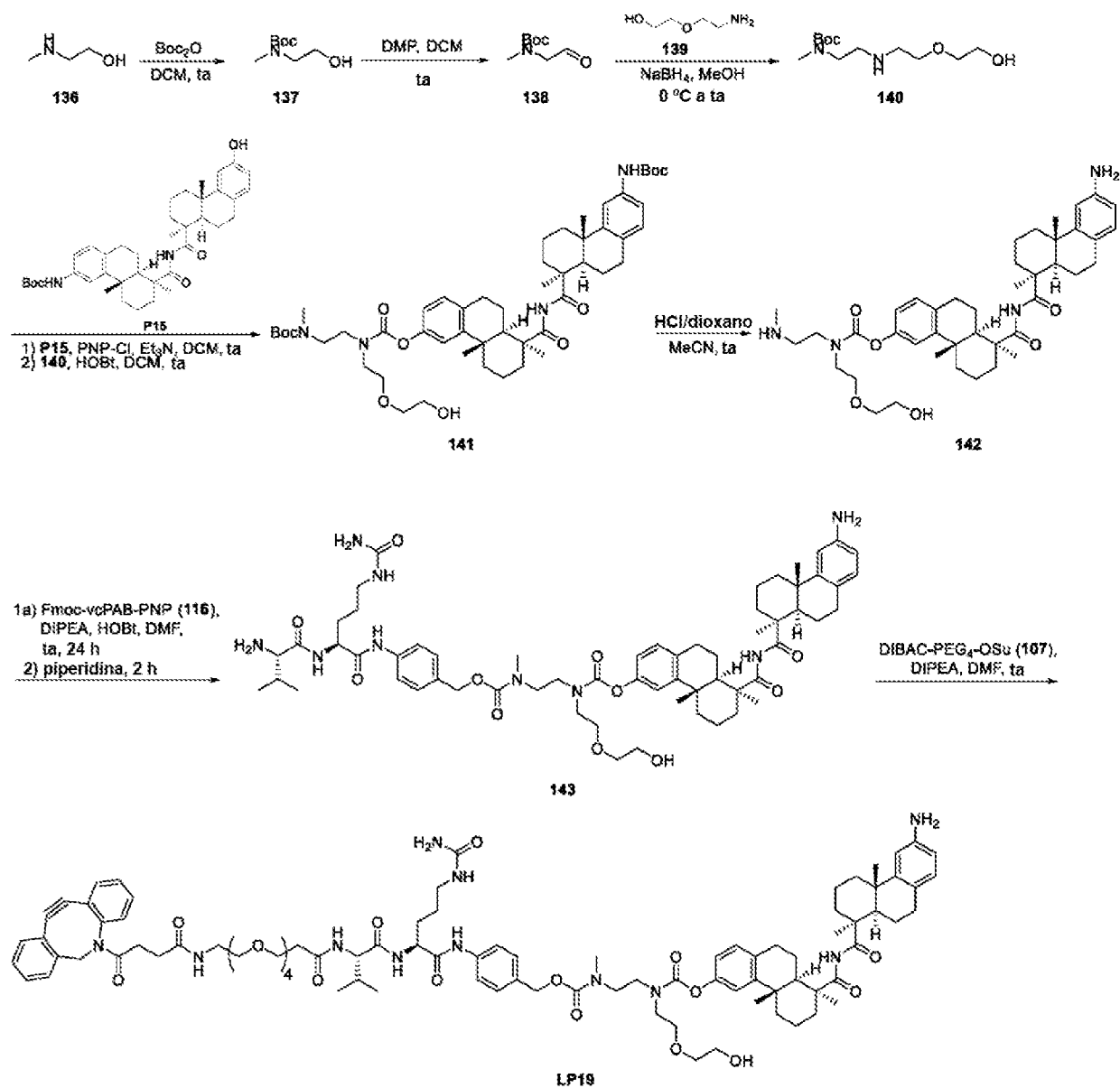


FIG. 10. Síntesis de azida 105a

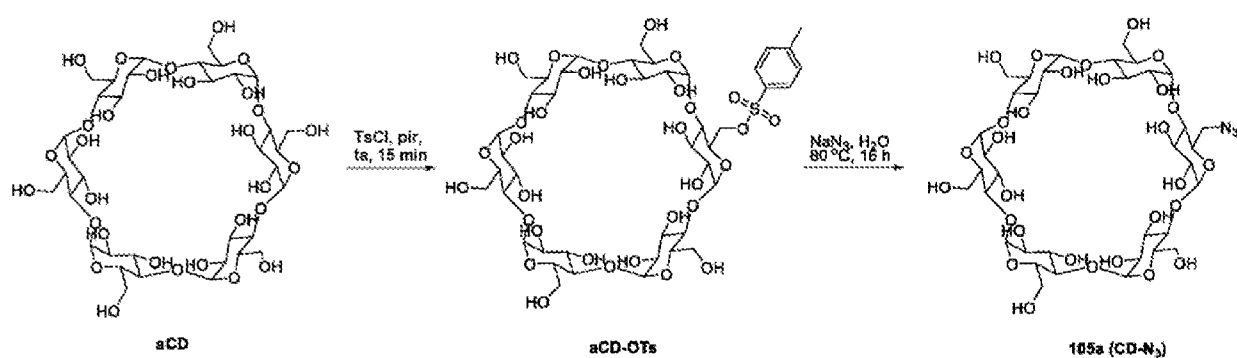


FIG. 11. Síntesis de azida 105b

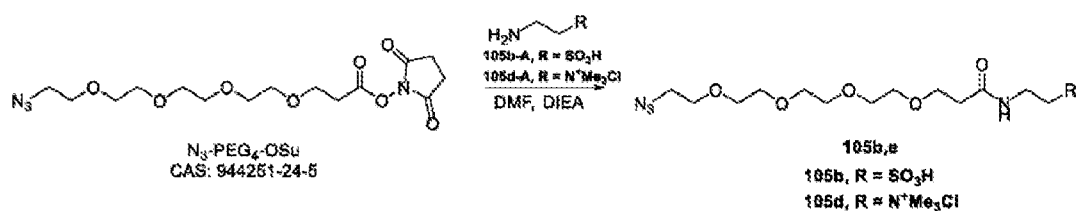


FIG. 12. Síntesis del intermedio 105c

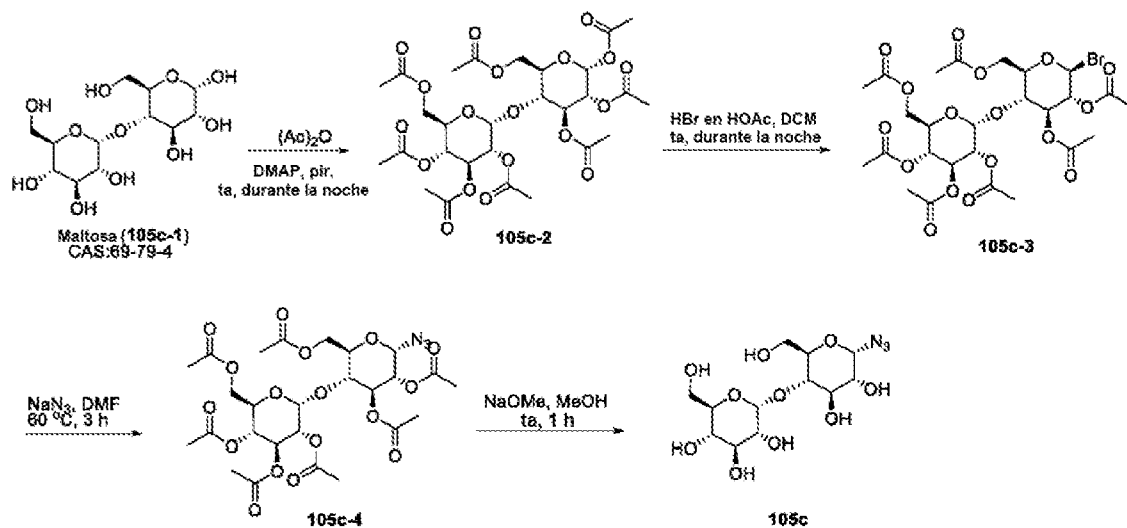


FIG. 13. Activación del eflujo de colesterol mediante un ADC anti-MSR1 que tiene una carga activa de P2

