

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 003 787**

51 Int. Cl.:

A61K 47/68 (2007.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.05.2019 PCT/US2019/032947**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2019 WO19222676**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.05.2019 E 19728294 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2025 EP 3793613**

54 Título: **Inmunocnjugados**

30 Prioridad:

17.05.2018 US 201862673015 P
29.08.2018 US 201862724259 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2025

73 Titular/es:

BOLT BIOTHERAPEUTICS, INC. (50.00%)
900 Chesapeake Drive
Redwood City, CA 94063, US y
THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (50.00%)

72 Inventor/es:

ALONSO, MICHAEL N.;
JACKSON, DAVID Y.;
SAFINA, BRIAN;
ACKERMAN, SHELLEY ERIN y
ENGLEMAN, EDGAR GEORGE

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 3 003 787 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

Inmunoconjugados

5 Un listado de secuencias de nucleótidos/aminoácidos legible por ordenador presentado simultáneamente con la presente se identifica como sigue: Un archivo ASCII (Texto) de 102 498 bytes denominado "743565_ST25.TXT," creado el 17 de mayo de 2019.

Antecedentes de la invención

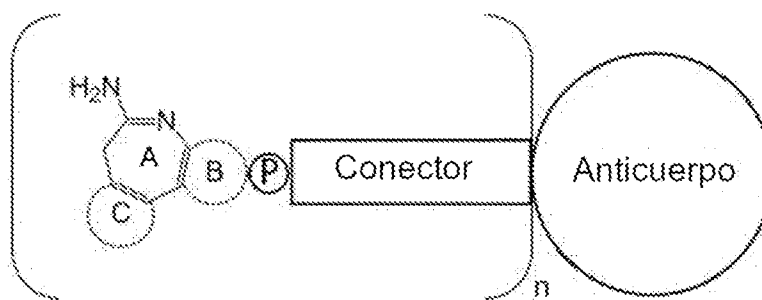
10 Ahora se entiende bien que el crecimiento tumoral necesita la adquisición de mutaciones que facilitan la evasión inmunitaria. Incluso así, la tumorigénesis da como resultado la acumulación de antígenos mutados, o neoantígenos, que son fácilmente reconocidos por el sistema inmunitario del hospedante después de la estimulación *ex vivo*. Se está empezando a elucidar por qué y cómo el sistema inmunitario no reconoce neoantígenos. Estudios innovadores de Carmi et al. (*Nature*, 521: 99-104 (2015)) han indicado que la ignorancia inmunitaria puede superarse administrando neoantígenos a células dendríticas activadas mediante complejos inmunitarios anticuerpo-tumor. En estos estudios, la administración simultánea de anticuerpos que se unen a tumores y adyuvantes de células dendríticas mediante inyecciones intratumorales dio como resultado una inmunidad antitumoral robusta. Se necesitan nuevas composiciones y métodos para la administración de anticuerpos y adyuvantes de células dendríticas con el fin de alcanzar tumores inaccesibles y expandir las opciones de tratamiento para pacientes con cáncer y otros sujetos. La invención aborda esta y otras necesidades.

20 La publicación internacional WO 2018/009916 A1 describe inmunoconjugados que comprenden una construcción de anticuerpo que incluye un dominio de unión a antígeno y un dominio Fc, un resto adyuvante y un conector, en donde cada resto adyuvante está unido covalentemente al anticuerpo a través del conector. La publicación internacional WO 2007/100634 A2 describe conjugados de modificador de la respuesta inmunitaria (IRM) que incluyen un resto IRM y un segundo resto activo unido covalentemente al resto IRM en el que el enlace covalente no depende de la irradiación UV.

Breve resumen de la invención

25 En un primer aspecto, la invención proporciona un inmunoconjugado que comprende (a) una construcción de anticuerpo que comprende (i) un dominio de unión a antígeno y (ii) un dominio Fc y (b) 1-8 núcleos de adyuvante, en donde cada núcleo de adyuvante está unido covalentemente a la construcción de anticuerpo a través de un conector, en donde cada núcleo de adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino con un átomo de nitrógeno colgante y un punto de unión del conector al núcleo de adyuvante, y en donde la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del conector es mayor de aproximadamente 5 Å,

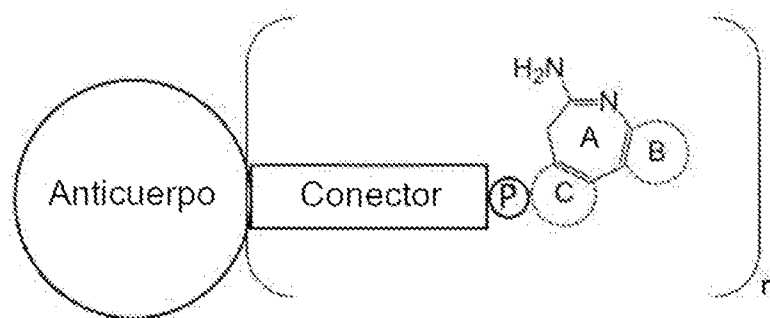
30 el inmunoconjugado es de fórmula:



Inmunoconjugado D2,

35 en donde el núcleo de adyuvante está representado por los anillos condensados A, B y C, en donde A y B están presentes y C está opcionalmente presente, y B y C indican anillos de 5, 6 o 7 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, y que comprenden opcionalmente heteroátomos además del resto de nitrógeno 2-amino, y el núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido, P representa el punto de unión del conector al anillo B, y n es un número entero de 1 a 8, o

el inmunoconjugado es de fórmula:



Inmunocombinado D4,

5 en donde el núcleo de adyuvante está representado por los anillos condensados A, B y C, en donde A y C están presentes y B está opcionalmente presente, y B y C indican anillos de 5, 6 o 7 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, y que comprenden opcionalmente heteroátomos además del resto de nitrógeno 2-amino, y el núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido, P representa el punto de unión del conector al anillo C, y n es un número entero de 1 a 8.

10 En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición que comprende una pluralidad de inmunocombinados de la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona un inmunocombinado de la invención o una composición de la invención para usar en el tratamiento del cáncer.

Breve descripción de los dibujos

15 La FIG. 1 es una representación de un resto adyuvante de ejemplo en relación con un dominio de unión de un TLR, donde A, B y C representan el núcleo de adyuvante, "HBA" es un aminoácido que acepta enlaces de hidrógeno dentro del dominio de unión del TLR, "HP" es un bolsillo de hidrógeno dentro del dominio de unión del TLR, "RH" es un sustituyente hidrófobo en el núcleo de adyuvante, "P" es un punto de unión de un conector al núcleo de adyuvante, "r" indica la distancia desde el resto de nitrógeno 2-amino al sustituyente hidrófobo, y "s" indica la distancia desde el resto de nitrógeno 2-amino al punto de unión del conector.

20 La FIG. 2A es un gráfico que muestra el efecto del inmunocombinado A en la activación mielóide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular tumoral de carcinoma ductal humano HCC1954. La intensidad de fluorescencia mediana de la molécula coestimuladora CD40 (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) se midió por citometría de flujo y se muestra para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunocombinado A (línea continua, cuadrado).

25 La FIG. 2B es un gráfico que muestra el efecto del inmunocombinado A en la activación mielóide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular tumoral de carcinoma ductal humano HCC1954. La intensidad de fluorescencia mediana de la molécula coestimuladora CD86 (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) se midió por citometría de flujo y se muestra para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunocombinado A (línea continua, cuadrado).

30 La FIG. 2C es un gráfico que muestra el efecto del inmunocombinado A en la activación mielóide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la célula tumoral de carcinoma ductal humano HCC1954. La secreción de TNF α se midió mediante matriz de perlas de citoquinas (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunocombinado A (línea continua, cuadrado).

35 La FIG. 2D es un gráfico que muestra el efecto del inmunocombinado A en la activación mielóide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular tumoral de carcinoma ductal humano JIMT-1. La intensidad de fluorescencia mediana de la molécula coestimuladora CD40 (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) se midió por citometría de flujo y se muestra para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + Compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunocombinado A (línea continua, cuadrado).

40 La FIG. 2E es un gráfico que muestra el efecto del inmunocombinado A en la activación mielóide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular tumoral de carcinoma ductal humano JIMT-1. La intensidad de fluorescencia mediana de la molécula coestimuladora CD86 (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) se midió por citometría de flujo y se muestra para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunocombinado A (línea continua, cuadrado).

45 La FIG. 2F es un gráfico que muestra el efecto del inmunocombinado A en la activación mielóide en cocultivos de

tumor-APC mieloides, usando la célula tumoral de carcinoma ductal humano JIMT-1. La secreción de TNF α se midió mediante una matriz de perlas de citoquinas (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunoconjugado A (línea continua, cuadrado).

- 5 La FIG. 2G es un gráfico que muestra el efecto del inmunoconjugado A en la activación mioide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular de adenocarcinoma de colon humano COLO 205. La intensidad de fluorescencia mediana de la molécula coestimuladora CD40 (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) se midió por citometría de flujo y se muestra para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + Compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e Inmunoconjugado A (línea continua, cuadrado).
- 10 La FIG. 2H es un gráfico que muestra el efecto del inmunoconjugado A en la activación mioide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular de adenocarcinoma de colon humano COLO 205. La intensidad de fluorescencia media de la molécula coestimuladora CD86 (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) se midió por citometría de flujo y se muestra para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunoconjugado A (línea continua, cuadrado).
- 15 La FIG. 2I es un gráfico que muestra el efecto del inmunoconjugado A en la activación mioide en cocultivos de tumor-APC mieloides, usando la línea celular de adenocarcinoma de colon humano COLO 205. La secreción de TNF α se midió mediante una matriz de perlas de citoquinas (células seleccionadas en CD45+CD11c+HLA-DR+ viable) para trastuzumab (línea de puntos, círculo), trastuzumab + compuesto 7 (línea discontinua, triángulo) e inmunoconjugado A (línea continua, cuadrado).
- 20 La FIG. 3A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado B produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.
- La FIG. 3B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado B produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.
- 25 La FIG. 3C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado B produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.
- La FIG. 3D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el inmunoconjugado B.
- La FIG. 4A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado C produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.
- 30 La FIG. 4B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado C produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.
- La FIG. 4C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado C produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.
- 35 La FIG. 4D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el Inmunoconjugado C.
- La FIG. 5A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado D produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.
- La FIG. 5B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado D produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.
- 40 La FIG. 5C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado D produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.
- La FIG. 5D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el inmunoconjugado D.
- 45 La FIG. 6A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado E produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.
- La FIG. 6B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado E produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.
- La FIG. 6C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado E produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.
- 50 La FIG. 6D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de

18 horas con el inmunoconjugado E.

La FIG. 6E es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el inmunoconjugado E.

5 La FIG. 7A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado F produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.

La FIG. 7B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado F produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.

La FIG. 7C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado F produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.

10 La FIG. 7D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el inmunoconjugado F.

La FIG. 8A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado G produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.

15 La FIG. 8B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado G produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.

La FIG. 8C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado G produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.

La FIG. 8D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el Inmunoconjugado G.

20 La FIG. 9 es un gráfico que muestra la secreción de TNF α a partir de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el Inmunoconjugado H.

La FIG. 10A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado I produce diferenciación mioide como se indica por la regulación por disminución de CD14.

25 La FIG. 10B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado I produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.

La FIG. 10C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado I produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.

La FIG. 10D es un gráfico que muestra la secreción de TNF α a partir de células mieloides después de una incubación de 18 horas con el inmunoconjugado I.

30 La FIG. 11A es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado J produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD40.

La FIG. 11B es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado J produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD86.

35 La FIG. 11C es un gráfico que muestra que el inmunoconjugado J produce activación mioide como se indica por la regulación por incremento de CD123.

La FIG. 12 es un conjunto de dos gráficos que ilustran la importancia del nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino para mantener la actividad de un adyuvante, como se pone de manifiesto por células indicadoras HEK293 que expresan TLR7 humano y TLR8 humano.

40 La FIG. 13 es un conjunto de dos gráficos que ilustran la importancia del nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino para mantener la actividad de un inmunoconjugado, medida por regulación por incremento de moléculas coestimuladoras CD40 y CD86.

La FIG. 14 es un conjunto de tres gráficos que ilustran la importancia del nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino para inducir la diferenciación de células dendríticas, medida por la expresión de CD14, CD16 y CD123.

Descripción detallada de la invención

45 General

Los inmunoconjugados anticuerpo-adyuvante que están unidos covalentemente, es decir, en donde el anticuerpo está unido covalentemente al conector que está unido covalentemente al adyuvante, son cuantitativa y cualitativamente

más eficaces en producir la activación inmunitaria que los inmunocombinados anticuerpo-adyuvante unidos no covalentemente. Además, los inmunocombinados anticuerpo-adyuvante unidos según la invención son mucho más eficaces que otros inmunocombinados conocidos. La administración sistémica de los combinados adyuvante-anticuerpo permite dirigirse de forma simultánea al tumor primario y metástasis asociadas sin la necesidad de inyecciones intratumorales y resección quirúrgica.

La eficacia de los inmunocombinados descritos en el presente documento puede considerarse en términos de la capacidad del resto adyuvante para unirse a su receptor. Los inmunocombinados de la invención tienen actividad adyuvante aumentada debido a una o más de las siguientes características: (i) el adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino que permanece no sustituido, (ii) el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está en una ubicación con respecto al resto de nitrógeno 2-amino que permite la alineación necesaria en el dominio de unión de su receptor, y (iii) el resto adyuvante puede comprender además un sustituyente hidrófobo con al menos 1 átomo de carbono (p. ej., al menos 2 átomos de carbono, al menos 3 átomos de carbono, al menos 4 átomos de carbono o al menos 6 átomos de carbono).

Definiciones

Como se usa en el presente documento, el término "inmunocombinado" se refiere a una construcción de anticuerpo, o anticuerpo, que está unido covalentemente a un resto químico de origen no natural como se describe en el presente documento. Los términos "inmunocombinado" e "inmunocombinado anticuerpo-adyuvante" se utilizan de manera intercambiable en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, la frase "construcción de anticuerpo" se refiere a un polipéptido que comprende un dominio de unión a antígeno y un dominio Fc. Una construcción de anticuerpo puede comprender o ser un anticuerpo.

Como se usa en el presente documento, la frase "dominio de unión a antígeno" se refiere a una proteína, o una parte de una proteína, que se une específicamente a un antígeno específico (p. ej., un paratopo), por ejemplo, esa parte de una proteína de unión a antígeno que contiene los restos de aminoácidos que interactúan con un antígeno y confieren a la proteína de unión a antígeno su especificidad y afinidad por el antígeno.

Como se usa en el presente documento, la frase "dominio Fc" se refiere a la región cristalizante del fragmento, o la región de cola de un anticuerpo. El dominio Fc interactúa con los receptores de Fc en las superficies celulares.

Como se usa en el presente documento, la frase "dominio de unión de direccionamiento" se refiere a una proteína, o una parte de una proteína, que se une específicamente a un segundo antígeno que es distinto del antígeno unido por el dominio de unión a antígeno de los inmunocombinados. El dominio de unión de direccionamiento puede conjugarse con la construcción de anticuerpo en un extremo C-terminal del dominio Fc.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" se refiere a un polipéptido que comprende una región de unión a antígeno (incluyendo la región determinante de la complementariedad (CDR)) de un gen de inmunoglobulina o fragmentos del mismo que se une y reconoce específicamente un antígeno. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como numerosos genes de la región variable de inmunoglobulina.

Una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) de ejemplo comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kD) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígenos. Las expresiones cadena ligera variable (V_L) y cadena pesada variable (V_H) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas, respectivamente. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulina IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

Los anticuerpos IgG son moléculas grandes de aproximadamente 150 kDa compuestas de cuatro cadenas peptídicas. Los anticuerpos IgG contienen dos cadenas pesadas de clase y idénticas de aproximadamente 50 kDa y dos cadenas ligeras idénticas de aproximadamente 25 kDa, que forman una estructura cuaternaria tetramérica. Las dos cadenas pesadas están unidas entre sí y a una cadena ligera, cada una por enlaces disulfuro. El tetrámero resultante tiene dos mitades idénticas, que juntas forman la forma similar a Y. Cada extremo de la horquilla contiene un sitio de unión a antígeno idéntico. Existen cuatro subclases de IgG (IgG1, 2, 3 y 4) en los seres humanos, denominadas en orden de su abundancia en suero (siendo IgG1 la más abundante). Típicamente, la región de unión a antígeno de un anticuerpo será más crítica en especificidad y afinidad de unión.

Los anticuerpos IgA diméricos son de aproximadamente 320 kDa. La IgA tiene dos subclases (IgA1 e IgA2) y puede ser producida como una forma monomérica así como dimérica. La forma dimérica de IgA (secretora o sIgA) es la más abundante.

Los anticuerpos pueden existir, por ejemplo, como inmunoglobulinas intactas o como una serie de fragmentos bien

caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas. Así, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de los enlaces disulfuro en la región bisagra para producir $F(ab)'_2$, un dímero de Fab que él mismo es una cadena ligera unida a V_H-C_{H1} por un enlace disulfuro. El $F(ab)'_2$ puede reducirse en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra, convirtiendo de este modo el dímero $F(ab)'_2$ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente Fab con parte de la región bisagra (véase, p. ej., *Fundamental Immunology* (Paul, editor, 7ª edición, 2012)). Aunque se definen diversos fragmentos de anticuerpo en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, dichos fragmentos pueden sintetizarse *de novo* o bien químicamente o bien usando metodología de ADN recombinante. Por lo tanto, el término anticuerpo, como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de anticuerpo producidos mediante la modificación de anticuerpos completos, sintetizados *de novo* usando metodologías de ADN recombinante (p. ej., Fv monocatenario), o identificados usando bibliotecas de presentación en fagos (véase, p. ej., McCafferty et al., *Nature*, 348: 552-554 (1990)).

El término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio y engloba específicamente anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (p. ej., anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos siempre que presenten la actividad biológica deseada. "Fragmento de anticuerpo" y todas las variantes gramaticales del mismo como se usa en el presente documento se definen como una porción de un anticuerpo intacto que comprende el sitio de unión al antígeno o la región variable del anticuerpo intacto, en donde la parte está exenta de los dominios de la cadena pesada constante (es decir, CH2, CH3 y CH4, dependiendo del isotipo del anticuerpo) de la región Fc del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab)'_2$ y Fv y diacuerpos; cualquier fragmento de anticuerpo que sea un polipéptido que tiene una estructura primaria que consiste en una secuencia ininterrumpida de restos de aminoácidos contiguos (denominados en el presente documento un "fragmento de anticuerpo monocatenario" o "polipéptido monocatenario"), incluyendo sin limitación (1) moléculas de Fv monocatenario (scFv); (2) polipéptidos monocatenarios que contienen solo un dominio variable de cadena ligera, o un fragmento de los mismos que contiene las tres CDR del dominio variable de cadena ligera, sin un resto de cadena pesada asociado; (3) polipéptidos monocatenarios que contienen solo una región variable de cadena pesada, o un fragmento de los mismos que contiene las tres CDR de la región variable de cadena pesada, sin un resto de cadena ligera asociado; (4) nanocuerpos que comprenden dominios de Ig individuales de especies no humanas u otros módulos de unión de dominio único específicos; y (5) estructuras multiespecíficas o multivalentes formadas a partir de fragmentos de anticuerpos. En un fragmento de anticuerpo que comprende una o más cadenas pesadas, la(s) cadena(s) pesada(s) puede(n) contener cualquier secuencia de dominio constante (p. ej., CH1 en el isotipo IgG) encontrada en una región no Fc de un anticuerpo intacto, y/o puede contener cualquier secuencia de región bisagra encontrada en un anticuerpo intacto, y/o puede contener una secuencia de cremallera de leucina fusionada con o situada en la secuencia de región bisagra o la secuencia de dominio constante de la(s) cadena(s) pesada(s).

Como se usa en el presente documento, el término "biosimilar" en referencia a un producto biológico significa que el producto biológico es muy similar al producto de referencia a pesar de diferencias menores en componentes clínicamente inactivos, y no hay diferencias clínicamente significativas entre el producto biológico y el producto de referencia en términos de seguridad, pureza y potencia del producto.

Como se usa en el presente documento, el término "epítipo" significa cualquier determinante antigénico en un antígeno al que se une el sitio de unión al antígeno, también denominado el paratopo, de un anticuerpo. Los determinantes epitópicos consisten normalmente en agrupaciones de superficie químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y normalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas.

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. Los términos también se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más restos de aminoácidos son miméticos químicos artificiales de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos de origen natural y polímero de aminoácidos de origen no natural.

Como se usa en el presente documento, el término "adyuvante" se refiere a una sustancia capaz de producir una respuesta inmunitaria en un sujeto expuesto al adyuvante.

Como se usa en el presente documento, la frase "resto adyuvante" se refiere a un adyuvante que está unido covalentemente a un anticuerpo como se describe en el presente documento. El resto adyuvante puede producir la respuesta inmunitaria mientras está unido al anticuerpo o después de la escisión (p. ej., escisión enzimática) del anticuerpo después de la administración de un inmunocombinado al sujeto.

Como se usa en el presente documento, la frase "receptor de reconocimiento de patrones" y el término "PRR" se refieren a cualquier miembro de una clase de proteínas conservadas de mamífero que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o patrones moleculares asociados a daños (DAMP) y actúan como elementos de señalización clave en la inmunidad innata. Los receptores de reconocimiento de patrones se dividen en PRR unidos a membrana, PRR citoplásmicos y PRR secretados. Los ejemplos de PRR unidos a membrana incluyen receptores de tipo Toll (TLR) y receptores de lectina de tipo C (CLR). Los ejemplos de PRR citoplásmicos incluyen receptores tipo NOD (NLR) y receptores tipo Rig-I (RLR).

- 5 Como se usa en el presente documento, la frase "receptor de tipo Toll" y el término "TLR" se refieren a cualquier miembro de una familia de proteínas de mamífero altamente conservadas que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos y actúan como elementos de señalización clave en la inmunidad innata. Los polipéptidos TLR comparten una estructura característica que incluye un dominio extracelular que tiene repeticiones ricas en leucina, un dominio transmembrana y un dominio intracelular que está implicado en la señalización de TLR.
- La frase "receptor de tipo Toll 1" y el término "TLR1" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR1 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAY85643 para el polipéptido TLR1 humano, o número de acceso de GenBank AAG37302 para el polipéptido TLR1 murino.
- 10 La frase "receptor de tipo Toll 2" y el término "TLR2" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR2 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAY85648 para el polipéptido TLR2 humano, o número de acceso de GenBank AAD49335 para el polipéptido TLR2 murino.
- 15 La frase "receptor de tipo Toll 3" y el término "TLR3" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR3 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAC34134 para el polipéptido TLR3 humano, o número de acceso de GenBank AAK26117 para el polipéptido TLR3 murino.
- 20 La frase "receptor de tipo Toll 4" y el término "TLR4" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR4 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAY82270 para el polipéptido TLR4 humano, o número de acceso de GenBank AAD29272 para el polipéptido TLR4 murino.
- 25 La frase "receptor de tipo Toll 5" y el término "TLR5" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR5 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank ACM69034 para el polipéptido TLR5 humano, o número de acceso de GenBank AAF65625 para el polipéptido TLR5 murino.
- La frase "receptor de tipo Toll 6" y el término "TLR6" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia TLR6 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank ABY67133 para el polipéptido TLR6 humano, o número de acceso de GenBank AAG38563 para el polipéptido TLR6 murino.
- 30 La frase "receptor de tipo Toll 7" y el término "TLR7" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR7 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAZ99026 para el polipéptido TLR7 humano, o número de acceso de GenBank AAK62676 para el polipéptido TLR7 murino.
- 35 La frase "receptor de tipo Toll 8" y el término "TLR8" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR8 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAZ95441 para el polipéptido TLR8 humano, o número de acceso de GenBank AAK62677 para el polipéptido TLR8 murino.
- La frase "receptor de tipo Toll 7/8" y el término "TLR7/8" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que son tanto agonistas de TLR7 como agonistas de TLR8.
- 40 La frase "receptor de tipo Toll 9" y el término "TLR9" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR9 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAF78037 para el polipéptido TLR9 humano, o número de acceso de GenBank AAK28488 para el polipéptido TLR9 murino.
- 45 La frase "receptor de tipo Toll 10" y el término "TLR10" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR10 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAK26744 para el polipéptido TLR10 humano.
- La frase "receptor de tipo Toll 11" y el término "TLR11" se refieren a ácidos nucleicos o polipéptidos que comparten al menos 70%; 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más de identidad de secuencia con una secuencia de TLR11 disponible públicamente, p. ej., número de acceso de GenBank AAS83531 para el polipéptido TLR11 murino.
- 50 Un "agonista de TLR" es una sustancia que se une, directa o indirectamente, a un TLR (p. ej., TLR7 y/o TLR8) para inducir la señalización de TLR. Cualquier diferencia detectable en la señalización de TLR puede indicar que un agonista estimula o activa un TLR. Las diferencias de señalización pueden manifestarse, por ejemplo, como cambios en la expresión de genes diana, en la fosforilación de componentes de transducción de señales, en la localización intracelular de elementos corriente abajo tales como NK- κ B, en la asociación de ciertos componentes (tales como IRAK) con otras proteínas o estructuras intracelulares, o en la actividad bioquímica de componentes tales como
- 55

quinasas (tales como MAPK).

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" se refiere a cualquier unidad monomérica que puede incorporarse en un péptido, polipéptido o proteína. Los aminoácidos incluyen α -aminoácidos de origen natural y sus estereoisómeros, así como aminoácidos no naturales (de origen no natural) y sus estereoisómeros. "Estereoisómeros" de un aminoácido dado se refiere a isómeros que tienen la misma fórmula molecular y enlaces intramoleculares pero diferentes disposiciones tridimensionales de enlaces y átomos (p. ej., un L-aminoácido y el D-aminoácido correspondiente).

Los aminoácidos de origen natural son los codificados por el código genético, así como los aminoácidos que se modifican posteriormente, p. ej., hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los α -aminoácidos de origen natural incluyen, sin limitación, alanina (Ala), cisteína (Cys), ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), fenilalanina (Phe), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), arginina (Arg), lisina (Lys), leucina (Leu), metionina (Met), asparagina (Asn), prolina (Pro), glutamina (Gln), serina (Ser), treonina (Thr), valina (Val), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y combinaciones de los mismos. Los estereoisómeros de α -aminoácidos de origen natural incluyen, sin limitación, D-alanina (D-Ala), D-cisteína (D-Cys), ácido D-aspártico (D-Asp), ácido D-glutámico (D-Glu), D-fenilalanina (D-Phe), D-histidina (D-His), D-isoleucina (D-Ile), D-arginina (D-Arg), D-lisina (D-Lys), D-leucina (D-Leu), D-metionina (D-Met), D-asparagina (D-Asn), D-prolina (D-Pro), D-glutamina (D-Gln), D-serina (D-Ser), D-treonina (D-Thr), D-valina (D-Val), D-triptófano (D-Trp), D-tirosina (D-Tyr), y combinaciones de los mismos.

Los aminoácidos no naturales (que no son de origen natural) incluyen, sin limitación, análogos de aminoácidos, miméticos de aminoácidos, aminoácidos sintéticos, glicinas N-sustituidas y N-metil-aminoácidos en la configuración L o D que funcionan de una manera similar a los aminoácidos naturales. Por ejemplo, los "análogos de aminoácidos" pueden ser aminoácidos no naturales que tienen la misma estructura química básica que los aminoácidos de origen natural (es decir, un carbono que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino) pero tienen grupos de cadena lateral modificados o cadenas principales peptídicas modificadas, p. ej., homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metionina metil-sulfonio. "Miméticos de aminoácidos" se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan de una manera similar a un aminoácido de origen natural. Los aminoácidos se pueden mencionar en el presente documento por símbolos de tres letras comúnmente conocidos o por símbolos de una letra recomendados por la Comisión de Nomenclatura Bioquímica IUPAC-IUB.

Como se usa en el presente documento, la expresión "inhibidores de puntos de control inmunitario" se refiere a cualquier modulador que inhibe la actividad de la molécula de punto de control inmunitario. Los inhibidores de puntos de control inmunitario pueden incluir, pero no se limitan a, proteínas de unión a moléculas de puntos de control inmunitario, inhibidores de moléculas pequeñas, anticuerpos, derivados de anticuerpos (incluyendo fusiones de Fc, fragmentos Fab y scFv), conjugados de anticuerpo-fármaco, oligonucleótidos antisentido, ARNip, aptámeros, péptidos y miméticos peptídicos.

Los enlaces útiles para conectar restos conectores a proteínas y otros materiales incluyen, pero no se limitan a, amidas, aminas, ésteres, carbamatos, ureas, tioéteres, tiocarbamatos, tiocarbonatos y tioureas. Un resto conector "divalente" contiene dos puntos de unión para unir dos grupos funcionales; los restos conectores polivalentes pueden tener puntos de unión adicionales para unir grupos funcionales adicionales. Por ejemplo, los restos conectores divalentes incluyen restos poliméricos divalentes tales como poli(etilenglicol) divalente, poli(propilenglicol) divalente y poli(alcohol vinílico) divalente.

Como se usa en el presente documento, cuando la expresión "opcionalmente presente" se usa para referirse a una estructura química (p. ej., "X" o "Y"), si esa estructura química no está presente, el enlace originalmente hecho con la estructura química se hace directamente con el átomo adyacente.

Como se usa en el presente documento, el término "conector" se refiere a un grupo funcional que une covalentemente dos o más restos en un compuesto o material. Por ejemplo, el conector puede servir para unir covalentemente un núcleo de adyuvante a una construcción de anticuerpo en un inmunconjugado.

Como se usa en el presente documento, el término "espaciador" se refiere a un grupo funcional que une covalentemente dos o más restos en un compuesto o material. Por ejemplo, el espaciador puede unir covalentemente un resto adyuvante a una construcción de anticuerpo en un inmunconjugado.

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a un radical alifático saturado lineal o ramificado que tiene el número de átomos de carbono indicado. Alquilo puede incluir cualquier número de carbonos, tal como C₁₋₂, C₁₋₃, C₁₋₄, C₁₋₅, C₁₋₆, C₁₋₇, C₁₋₈, C₁₋₉, C₁₋₁₀, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄₋₅, C₄₋₆ y C₅₋₆. Por ejemplo, alquilo C₁₋₆ incluye, pero no se limita a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, hexilo, etc. Alquilo también puede referirse a grupos alquilo que tienen hasta 30 átomos de carbono, tales como, pero no limitados a heptilo, octilo, nonilo, decilo, etc. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos "alquilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, amino, oxo (=O), alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano y alcoxi. El término "alquileo" se refiere a un radical alquilo divalente.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquilo" se refiere a un grupo alquilo como se describe en el presente documento, en donde uno o más átomos de carbono están opcional e independientemente reemplazados por un heteroátomo seleccionado de N, O y S. El término "heteroalquileno" se refiere a un radical heteroalquilo divalente.

5 Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo" se refiere a un conjunto de anillos saturados o parcialmente insaturados, monocíclicos, bicíclicos condensados o policíclicos con puente que contienen de 3 a 12 átomos en el anillo, o el número de átomos indicado. Los cicloalquilos pueden incluir cualquier número de carbonos, tales como C₃₋₆, C₄₋₆, C₅₋₆, C₃₋₈, C₄₋₈, C₅₋₈, C₆₋₈, C₃₋₉, C₃₋₁₀, C₃₋₁₁ y C₃₋₁₂. Los anillos carbocíclicos monocíclicos saturados incluyen, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclooctilo. Los anillos carbocíclicos bicíclicos y policíclicos saturados incluyen, por ejemplo, norbornano, [2.2.2]bicyclooctano, decahidronaftaleno y adamantano. Los grupos cicloalquilo también pueden ser parcialmente insaturados, teniendo uno o más dobles o triples enlaces en el anillo. Los grupos carbocíclicos representativos que están parcialmente insaturados incluyen, pero no se limitan a, ciclobuteno, ciclopenteno, ciclohexeno, ciclohexadieno (isómeros 1,3 y 1,4), ciclohepteno, cicloheptadieno, cicloocteno, ciclooctadieno (isómeros 1,3, 1,4 y 1,5), norborneno y norbornadieno.

15 Los grupos carbocíclicos insaturados también incluyen grupos arilo. El término "arilo" se refiere a un sistema de anillos aromáticos que tiene cualquier número adecuado de átomos en el anillo y cualquier número adecuado de anillos. Los grupos arilo pueden incluir cualquier número adecuado de átomos en el anillo, tal como 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 átomos en el anillo, así como de 6 a 10, de 6 a 12 o de 6 a 14 miembros en el anillo. Los grupos arilo pueden ser monocíclicos, condensados para formar grupos bicíclicos o tricíclicos, o unidos por un enlace para formar un grupo biarilo. Los grupos arilo representativos incluyen fenilo, naftilo y bifenilo. Otros grupos arilo incluyen bencilo, que tiene un grupo de unión metileno. Algunos grupos arilo tienen de 6 a 12 miembros en el anillo, tales como fenilo, naftilo o bifenilo. Otros grupos arilo tienen de 6 a 10 miembros en el anillo, tales como fenilo o naftilo. Los grupos arilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos "arilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, amino, oxo (=O), alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano, alquilo y alcoxi.

25 Un cicloalquilo "divalente" se refiere a un grupo carbocíclico que tiene dos puntos de unión para unir covalentemente dos restos en una molécula o material. Los grupos cicloalquilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos cicloalquilo sustituidos pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, amino, oxo (=O), alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano, alquilo y alcoxi.

30 Como se usa en el presente documento, el término "heterociclo" se refiere a grupos heterocicloalquilo y grupos heteroarilo. "Heteroarilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un conjunto de anillos aromáticos monocíclicos o bicíclicos o tricíclicos condensados que contiene de 5 a 16 átomos en el anillo, donde de 1 a 5 de los átomos en el anillo son un heteroátomo tal como N, O o S. También pueden ser útiles heteroátomos adicionales, que incluyen, pero no se limitan a, B, Al, Si y P. Los heteroátomos pueden estar oxidados para formar restos tales como, pero no limitados a, -S(O)- y -S(O)₂-. Los grupos heteroarilo pueden incluir cualquier número de átomos en el anillo, tal como de 3 a 6, de 4 a 6, de 5 a 6, de 3 a 8, de 4 a 8, de 5 a 8, de 6 a 8, de 3 a 9, de 3 a 10, de 3 a 11, o de 3 a 12 miembros en el anillo. Puede estar incluido cualquier número adecuado de heteroátomos en los grupos heteroarilo, tal como 1, 2, 3, 4 o 5, o de 1 a 2, de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 3, de 2 a 4, de 2 a 5, de 3 a 4 o de 3 a 5. El grupo heteroarilo puede incluir grupos tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, tetrazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3, 1,2,4 y 1,3,5), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol. Los grupos heteroarilo también pueden estar condensados con sistemas de anillos aromáticos, tales como un anillo fenilo, para formar miembros que incluyen, pero no se limitan a, benzopirroles tales como indol e isoindol, benzopiridinas tales como quinolina e isoquinolina, benzopirazina (quinoxalina), benzopirimidina (quinazolina), benzopiridazinas tales como ftalazina y cinolina, benzotiofeno y benzofurano. Otros grupos heteroarilo incluyen anillos heteroarilo unidos por un enlace, tales como biperidina. Los grupos heteroarilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos "heteroarilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, amino, oxo (=O), alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano, alquilo y alcoxi.

45 Los grupos heteroarilo pueden estar unidos a través de cualquier posición en el anillo. Por ejemplo, pirrol incluye 1-, 2- y 3-pirrol, piridina incluye 2-, 3- y 4-piridina, imidazol incluye 1-, 2-, 4- y 5-imidazol, pirazol incluye 1-, 3-, 4- y 5-pirazol, triazol incluye 1-, 4- y 5-triazol, tetrazol incluye 1- y 5-tetrazol, pirimidina incluye 2-, 4-, 5- y 6-pirimidina, piridazina incluye 3- y 4-piridazina, 1,2,3-triazina incluye 4- y 5-triazina, 1,2,4-triazina incluye 3-, 5- y 6-triazina, 1,3,5-triazina incluye 2-triazina, tiofeno incluye 2- y 3-tiofeno, furano incluye 2- y 3-furano, tiazol incluye 2-, 4- y 5-tiazol, isotiazol incluye 3-, 4- y 5-isotiazol, oxazol incluye 2-, 4- y 5-oxazol, isoxazol incluye 3-, 4- y 5-isoxazol, indol incluye 1-, 2- y 3-indol, isoindol incluye 1- y 2-isoindol, quinolina incluye 2-, 3- y 4-quinolina, isoquinolina incluye 1-, 3- y 4-isoquinolina, quinazolina incluye 2- y 4-quinazolina, cinolina incluye 3- y 4-cinolina, benzotiofeno incluye 2- y 3-benzotiofeno, y benzofurano incluye 2- y 3-benzofurano.

60 "Heterocicloalquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un sistema de anillo saturado que tiene de 3 a 12 miembros en el anillo y de 1 a 4 heteroátomos de N, O y S. También pueden ser útiles heteroátomos adicionales, que incluyen, pero no se limitan a, B, Al, Si y P. Los heteroátomos pueden estar oxidados para formar restos tales como, pero no limitados a, -S(O)- y -S(O)₂-. Los grupos heterocicloalquilo pueden incluir cualquier número de átomos en el anillo, tal como, de 3 a 6, de 4 a 6, de 5 a 6, de 3 a 8, de 4 a 8, de 5 a 8, de 6 a 8, de 3 a 9, de 3 a 10, de 3 a 11, o de 3 a 12 miembros en el anillo. Puede estar incluido cualquier número adecuado de heteroátomos en los

5 grupos heterocicloalquilo, tal como 1, 2, 3 o 4, o de 1 a 2, de 1 a 3, de 1 a 4, de 2 a 3, de 2 a 4, o de 3 a 4. El grupo heterocicloalquilo puede incluir grupos tales como aziridina, azetidina, pirrolidina, piperidina, azepano, azocano, quinuclidina, pirazolidina, imidazolidina, piperazina (isómeros 1,2-, 1,3- y 1,4), oxirano, oxetano, tetrahydrofurano, oxano (tetrahidropirano), oxepano, tiirano, tietano, tiolano (tetrahidrotiofeno), tiano (tetrahidrotiopirano), oxazolidina, isoxazolidina, tiazolidina, isotiazolidina, dioxolano, ditiolano, morfolina, tiomorfolina, dioxano o ditiano. Los grupos heterocicloalquilo también pueden estar condensados con sistemas de anillos aromáticos o no aromáticos para formar miembros que incluyen, pero no se limitan a, indolina. Los grupos heterocicloalquilo pueden estar no sustituidos o sustituidos. Los grupos "heterocicloalquilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halógeno, hidroxilo, amino, oxo (=O), alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano, alquilo y alcoxi.

10 Los grupos heterocicloalquilo pueden estar unidos a través de cualquier posición en el anillo. Por ejemplo, aziridina puede ser 1- o 2-aziridina, azetidina puede ser 1- o 2-azetidina, pirrolidina puede ser 1-, 2- o 3-pirrolidina, piperidina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-piperidina, pirazolidina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-pirazolidina, imidazolidina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-imidazolidina, piperazina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-piperazina, tetrahydrofurano puede ser 1- o 2-tetrahydrofurano, oxazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5-oxazolidina, isoxazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5-isoxazolidina, tiazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5-tiazolidina, isotiazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5-isotiazolidina y morfolina puede ser 2-, 3- o 4-morfolina.

Como se usa en el presente documento, los términos "halo" y "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, se refieren a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

20 Como se usa en el presente documento, el término "carbonilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a $-C(O)-$, es decir, un átomo de carbono unido por doble enlace a oxígeno y unido a otros dos grupos en el resto que tiene el carbonilo.

Como se usa en el presente documento, el término "amino" se refiere a un resto $-NR_3$, en donde cada grupo R es H o alquilo. Un resto amino puede estar ionizado para formar el catión amonio correspondiente.

Como se usa en el presente documento, el término "hidroxilo" se refiere al resto $-OH$.

25 Como se usa en el presente documento, el término "ciano" se refiere a un átomo de carbono unido por triple enlace a un átomo de nitrógeno (es decir, el resto $-C\equiv N$).

Como se usa en el presente documento, el término "carboxilo" se refiere al resto $-C(O)OH$. Un resto carboxilo puede estar ionizado para formar el anión carboxilato correspondiente.

30 Como se usa en el presente documento, el término "amido" se refiere a un resto $-NRC(O)R$ o $-C(O)NR_2$, en donde cada grupo R es H o alquilo.

Como se usa en el presente documento, el término "nitro" se refiere al resto $-NO_2$.

Como se usa en el presente documento, el término "oxo" se refiere a un átomo de oxígeno que está unido por doble enlace a un compuesto (es decir, $O=$).

35 Como se usa en el presente documento, los términos "tratar", "tratamiento" y "que trata" se refieren a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una lesión, patología, afección o síntoma (p. ej., deterioro cognitivo), incluyendo cualquier parámetro objetivo o subjetivo tal como atenuación; remisión; disminución de los síntomas o hacer que el síntoma, lesión, patología o afección sea más tolerable para el paciente; reducción en la velocidad de progresión del síntoma; disminución de la frecuencia o duración del síntoma o afección; o, en algunas situaciones, prevención de la aparición del síntoma. El tratamiento o mejora de los síntomas puede basarse en cualquier parámetro objetivo o subjetivo; incluyendo, p. ej., el resultado de un reconocimiento médico.

40 Como se usa en el presente documento, el término "cáncer" se refiere a afecciones que incluyen cánceres sólidos, linfomas y leucemias. Los ejemplos de diferentes tipos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, cáncer de pulmón (p. ej., cáncer de pulmón no microcítico o NSCLC), cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de hígado (es decir, hepatocarcinoma), cáncer renal (es decir, carcinoma de células renales), cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de tiroides, cáncer pleural, cáncer pancreático, cáncer uterino, cáncer de cuello uterino, cáncer testicular, cáncer anal, cáncer de conductos biliares, tumores carcinoides gastrointestinales, cáncer esofágico, cáncer de vesícula biliar, cáncer de apéndice, cáncer de intestino delgado, cáncer de estómago (gástrico), cáncer del sistema nervioso central, cáncer de piel (p. ej., melanoma), coriocarcinoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de la sangre, sarcoma osteogénico, fibrosarcoma, neuroblastoma, glioma, melanoma, linfoma de células B, linfoma no Hodgkin, linfoma de Burkitt, linfoma de células pequeñas, linfoma de células grandes, leucemia monocítica, leucemia mielógena, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda y mieloma múltiple.

50 Como se usa en el presente documento, las frases "cantidad eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a una dosis de una sustancia tal como un inmunocombinado que produce efectos terapéuticos para los que se administra. La dosis particular dependerá del propósito del tratamiento, y será determinable por un experto en la técnica usando técnicas conocidas (véase, p. ej., Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (volúmenes 1-3, 1992);

55

Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11ª Edición, 2006, Brunton, ed., McGraw-Hill; y Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21ª edición, 2005, Hendrickson, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins).

5 Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a animales tales como mamíferos, que incluyen, pero no se limitan a, primates (p. ej., seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

10 Como se usa en el presente documento, el término "administrar" se refiere a la administración parenteral, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intratumoral, intralesional, intranasal o subcutánea, administración oral, administración como supositorio, contacto tópico, administración intratecal o la implantación de un dispositivo de liberación lenta, p. ej., una bomba miniosmótica, en el sujeto.

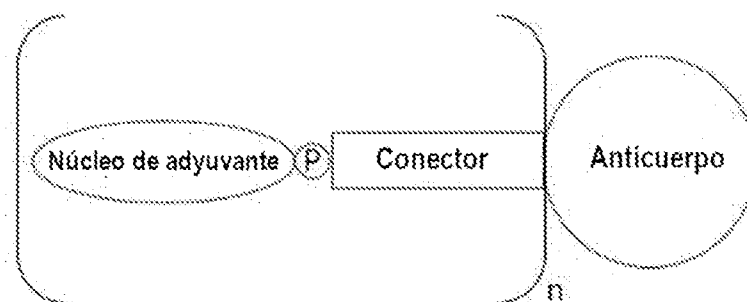
15 Los términos "aproximadamente" y "alrededor de", como se usan en el presente documento para modificar un valor numérico, indican un intervalo relativamente cercano que rodea ese valor explícito. Si "X" fuera el valor, "aproximadamente X" o "alrededor de X" indicaría un valor de 0.9X a 1.1X, p. ej., de 0.95X a 1.05X o de 0.99X a 1.01X. Cualquier referencia a "aproximadamente X" o "alrededor de X" indica específicamente al menos los valores X, 0.95X, 0.96X, 0.97X, 0.98X, 0.99X, 1.01X, 1.02X, 1.03X, 1.04X y 1.05X. Por lo tanto, "aproximadamente X" y "alrededor de X" están destinados a enseñar y proporcionar soporte de la descripción escrita para una limitación de reivindicación de, p. ej., "0.98X".

20 Como se usa en el presente documento, la frase "punto de unión del conector al núcleo de adyuvante" se refiere a un átomo de carbono o átomo de nitrógeno presente en el núcleo de adyuvante al que está unido el conector.

Como se usa en el presente documento, la frase "punto de unión del sustituyente hidrófobo al núcleo de adyuvante" se refiere a un átomo de carbono o átomo de nitrógeno presente en el núcleo de adyuvante al que está unido el conector.

Conjugados de anticuerpo y adyuvante

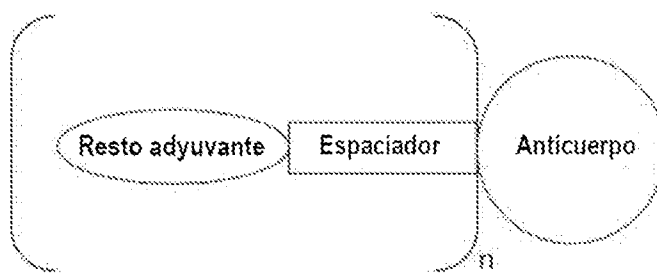
25 En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención son de fórmula de inmunoconjugado A:



Inmunoconjugado A,

30 en donde P representa el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante, el núcleo del adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino, y n es un número entero de 1 a 8. El núcleo del adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo del adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido.

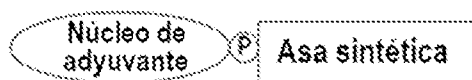
Los inmunoconjugados de fórmula de inmunoconjugado A también pueden definirse por la fórmula de inmunoconjugado B:



35 Inmunoconjugado B;

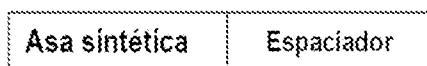
en donde el resto adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino y un asa sintética para unir el espaciador, y n es un número entero de 1 a 8. El resto adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del resto adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido.

5 Por consiguiente, el resto adyuvante puede ser de fórmula de resto adyuvante A:



Resto adyuvante A,

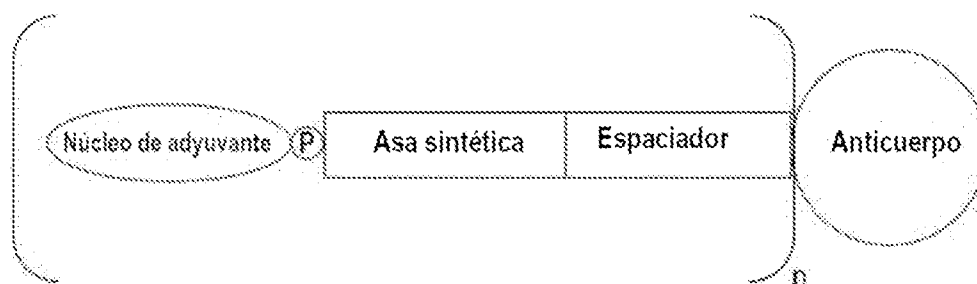
y el conector puede ser de fórmula de conector A:



10 Conector A,

en donde P representa el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante y el núcleo de adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino. El núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo del adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido. Como se usa en el presente documento, la expresión "asa sintética" se refiere a un sustituyente químico que es una parte del resto adyuvante y une el anticuerpo a través del espaciador y el asa sintética al núcleo de adyuvante. Por consiguiente, cuando el anticuerpo está unido a través del espaciador y el asa sintética al núcleo de adyuvante, el asa sintética y el espaciador se convierten en el conector de manera que el conector se une al núcleo de adyuvante en el punto de unión "P". Sin embargo, cuando se considera la actividad adyuvante, el asa sintética se considera parte del resto adyuvante. Por tanto, el resto adyuvante comprende el núcleo de adyuvante, el punto de unión y el asa sintética.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención son de fórmula de inmunoconjugado C:



Inmunoconjugado C;

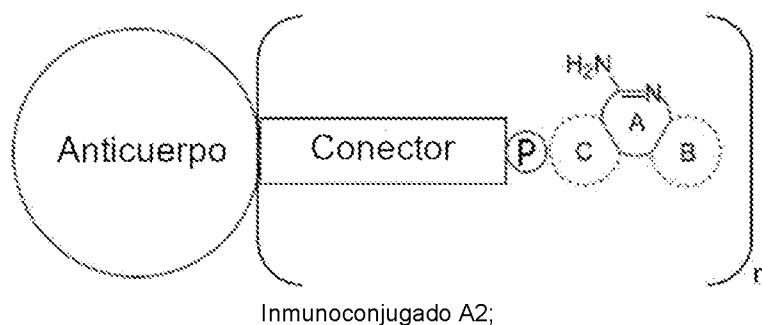
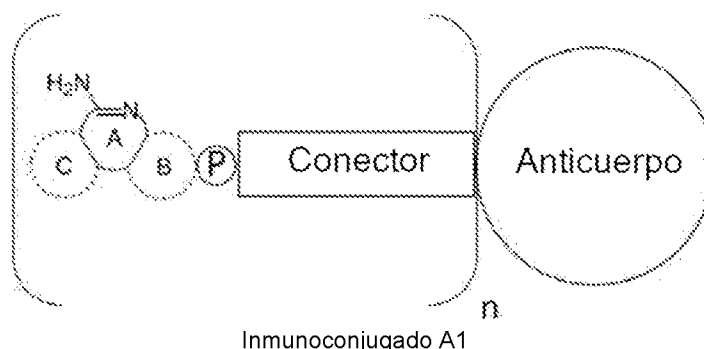
25 en donde el asa sintética y el espaciador constituyen un conector, P representa el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante, el núcleo de adyuvante y el asa sintética constituyen el resto adyuvante, el núcleo de adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino, y n es un número entero de 1 a 8. El núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido.

30 El resto adyuvante es un compuesto que produce una respuesta inmunitaria. En algunos inmunoconjugados de la invención, el resto adyuvante es un agonista de TLR. Los agonistas de TLR incluyen TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, o cualquier combinación de los mismos (p. ej., agonistas de TLR7/8). Puede utilizarse cualquier adyuvante capaz de activar un TLR en los inmunoconjugados de la invención. Los TLR son proteínas transmembrana de tipo I que son responsables del inicio de respuestas inmunitarias innatas en vertebrados. Los TLR reconocen una variedad de patrones moleculares asociados a patógenos de bacterias, virus y hongos y actúan como una primera línea de defensa contra patógenos invasores. Los TLR producen respuestas biológicas superpuestas pero distintas debido a diferencias en la expresión celular y en las rutas de señalización que inician dentro de vertebrados. Una vez activados (p. ej., mediante un estímulo natural o un agonista sintético de TLR) los TLR inician una cascada de transducción de señales que conduce a la activación de NF-κB a través del gen de proteína adaptadora 88 de respuesta primaria de diferenciación mieloide (MyD88) y el reclutamiento de la quinasa asociada al receptor de IL-1 (IRAK). La fosforilación de IRAK conduce entonces al reclutamiento del factor asociado al receptor de TNF (TRAF) 6 (TRAF6), que da como resultado la fosforilación del inhibidor de NF-κB I-κB. Como resultado, NF-κB entra en el núcleo celular e inicia la transcripción de genes cuyos promotores contienen sitios de unión a NF-κB, tales

como citoquinas. Los modos adicionales de regulación para la señalización de TLR incluyen la inducción dependiente de interferón- β inductor de adaptador que contiene dominio TIR (TRIF) de TRAF6 y la activación de rutas independientes de MyD88 a través de TRIF y TRAF3, que conduce a la fosforilación del factor de respuesta a interferón (IRF) tres (IRF3). De manera similar, la ruta dependiente de MyD88 también activa varios miembros de la familia IRF, incluyendo IRF5 e IRF7, mientras que la ruta dependiente de TRIF también activa la ruta de NF- κ B.

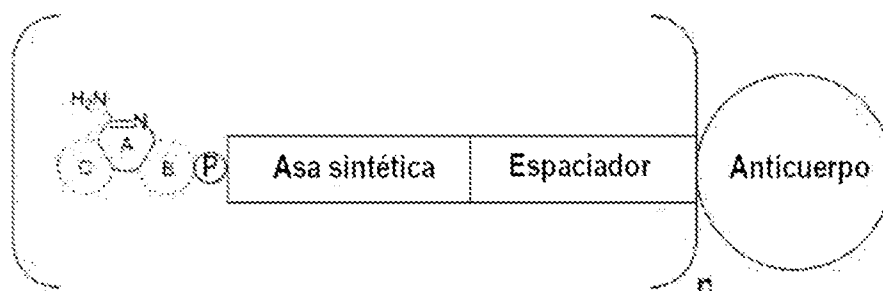
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es un agonista de TLR7 y/o TLR8. Se puede usar cualquier adyuvante capaz de activar TLR7 y/o TLR8 en los inmunoconjugados de la invención. Los ejemplos de agonistas de TLR7 y agonistas de TLR8 se describen, por ejemplo, por Vacchelli et al. (*Onc Immunology* 2 (8): e25238 (2013) y Carson et al. (publicación de solicitud de patente de EE. UU. 2013/0165455). TLR7 y TLR8 se expresan ambos en monocitos y células dendríticas. En seres humanos, TLR7 también se expresa en células dendríticas plasmacitoides (pDC) y células B. TLR8 se expresa principalmente en células de origen mieloide, es decir, monocitos, granulocitos y células dendríticas mieloides. TLR7 y TLR8 son capaces de detectar la presencia de ARN monocatenario "extraño" dentro de una célula como un medio para responder a la invasión viral. El tratamiento de las células que expresan TLR8 con agonistas de TLR8 puede dar como resultado la producción de niveles elevados de IL-12, IFN- γ , IL-1, TNF- α , IL-6 y otras citoquinas inflamatorias. De manera similar, la estimulación de células que expresan TLR7, tales como pDC, con agonistas de TLR7 puede dar como resultado la producción de altos niveles de IFN- α y otras citoquinas inflamatorias. La activación de TLR7/TLR8 y la producción de citoquinas resultante pueden activar células dendríticas y otras células presentadoras de antígeno, promoviendo diversos mecanismos de respuesta inmunitaria innata y adquirida que conducen a la destrucción tumoral.

En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la presente descripción son de fórmula de inmunoconjugado A1 o inmunoconjugado A2:



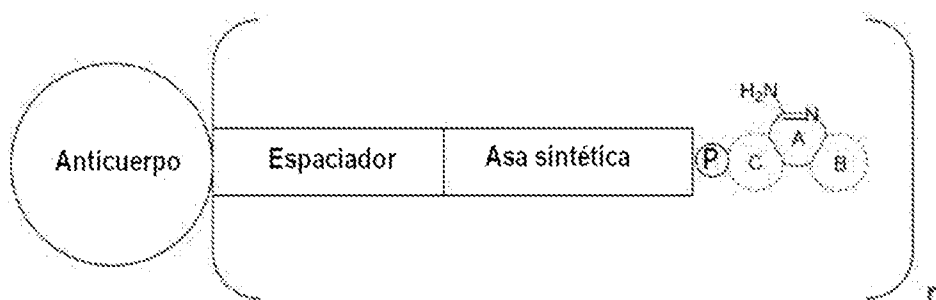
en donde el núcleo del adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, y en donde A está presente, B y C están opcionalmente presentes, y A, B y C indican anillos de 5, 6, 7, 8 o 9 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, que comprenden opcionalmente heteroátomos (p. ej., nitrógeno, oxígeno y/o azufre) además del resto de nitrógeno 2-amino, y opcionalmente sustituidos, P representa el punto de unión del conector al anillo B o al anillo C, y n es un número entero de 1 a 8. El núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido. En ciertas realizaciones, el punto de unión del conector al anillo B o el anillo C se produce en la cara opuesta del núcleo de adyuvante con respecto al resto de nitrógeno 2-amino. Como se usa en el presente documento, la expresión "cara opuesta" se refiere a lo que sería el lado cóncavo y los extremos del núcleo del adyuvante del inmunoconjugado A1 y el inmunoconjugado A2. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que un punto de unión del conector al núcleo de adyuvante en la cara opuesta del núcleo de adyuvante con respecto al resto de nitrógeno 2-amino permite interacciones estéricas y/o electrónicas favorables del conector y se mantiene la actividad del resto de nitrógeno 2-amino. En ciertas realizaciones, los anillos A, B y C están presentes.

En algunas realizaciones, los inmunocombinados de la presente descripción son de fórmula de inmunocombinado C1 o inmunocombinado C2:



Inmunocombinado C1

5 o

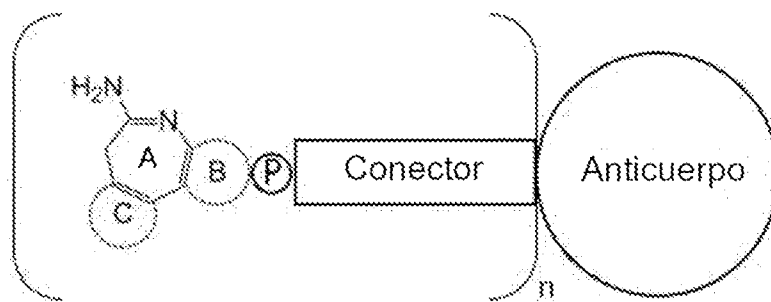


Inmunocombinado C2;

en donde el núcleo del adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, y en donde A está presente, B y C están opcionalmente presentes, y A, B y C indican anillos de 5, 6, 7, 8 o 9 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, que comprenden opcionalmente heteroátomos (p. ej., nitrógeno, oxígeno y/o azufre) además del resto de nitrógeno 2-amino, y opcionalmente sustituidos, el asa sintética y el espaciador constituyen un conector, P representa el punto de unión del conector al anillo B o al anillo C, el núcleo de adyuvante y el asa sintética constituyen el resto adyuvante, y n es un número entero de 1 a 8. El núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido. En realizaciones preferidas, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante en el anillo B o el anillo C se produce en la cara opuesta del núcleo de adyuvante con respecto al resto de nitrógeno 2-amino.

En algunas realizaciones, el anillo B y el anillo C no están presentes. En dichas realizaciones, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante puede estar en el anillo A siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido. El núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido.

Los inmunocombinados de la invención son de fórmula:

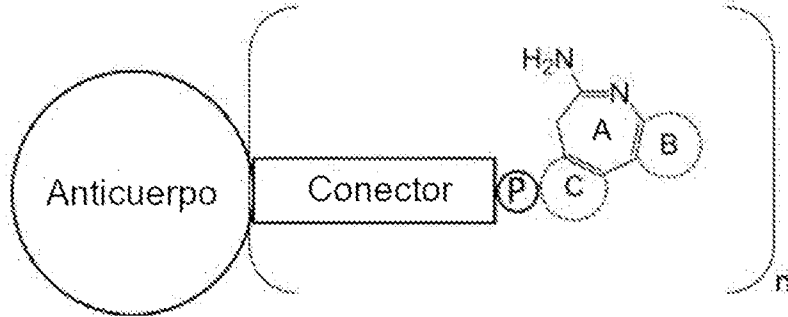


Inmunocombinado D2,

en donde el núcleo del adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, en donde A y B están presentes y C está opcionalmente presente, y B y C indican anillos de 5, 6 o 7 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, y que comprenden opcionalmente heteroátomos además del resto de nitrógeno 2-amino, y el núcleo del adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo del adyuvante

no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido, P representa el punto de unión del conector al anillo B, y n es un número entero de 1 a 8, o

el inmunoconjugado es de fórmula:

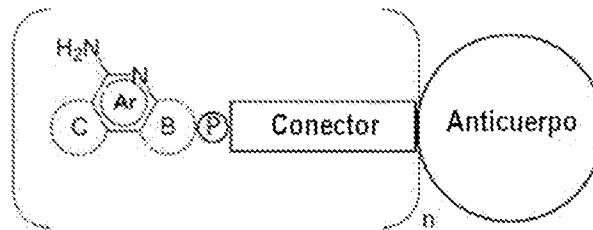


5 Inmunoconjugado D4,

en donde el núcleo de adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, en donde A y C están presentes y B está opcionalmente presente, y B y C indican anillos de 5, 6 o 7 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, y que comprenden opcionalmente heteroátomos además del resto de nitrógeno 2-amino, y el núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido, P representa el punto de unión del conector al anillo C, y n es un número entero de 1 a 8.

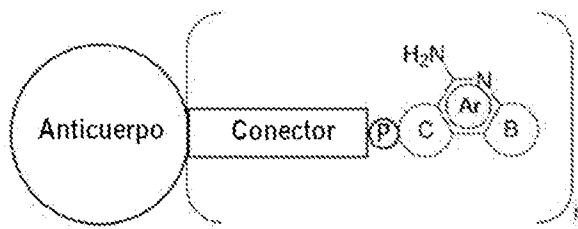
10

También se describen en el presente documento, pero no según las reivindicaciones adjuntas, inmunoconjugados de fórmula:



15 Inmunoconjugado D1

o



Inmunoconjugado D3,

en donde el núcleo de adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, y en donde A está presente, B y C están opcionalmente presentes, y A, B y C indican anillos de 5, 6, 7, 8 o 9 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, que comprenden opcionalmente heteroátomos (p. ej., nitrógeno, oxígeno y/o azufre) además del resto de nitrógeno 2-amino, y opcionalmente sustituidos, P representa el punto de unión del conector al anillo B o al anillo C, y n es un número entero de 1 a 8. El núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido.

20

25

En algunas realizaciones, se considera que el anillo A y el anillo C están en el bolsillo hidrófobo del dominio de unión del receptor de tipo toll. En dichas realizaciones, el punto de unión del conector está en el anillo B. En ciertos aspectos de la invención, el anillo A y/o el anillo C comprenden además un sustituyente que proporciona una interacción adicional entre el anillo A y/o el anillo C y el bolsillo hidrófobo. En algunas realizaciones, el sustituyente que proporciona una interacción adicional es un sustituyente hidrófobo con al menos 1 átomo de carbono (p. ej., al menos 2 átomos de carbono, al menos 3 átomos de carbono, al menos 4 átomos de carbono o al menos 6 átomos de carbono). Generalmente, el sustituyente que proporciona una interacción adicional entre el anillo A y/o el anillo C y el bolsillo hidrófobo se encuentra en la misma cara del núcleo del adyuvante con respecto al resto de nitrógeno 2-amino. Como

30

se usa en el presente documento, la expresión "misma cara" se refiere a lo que sería el lado convexo del núcleo adyuvante del inmunoconjugado A1 y el inmunoconjugado A2.

Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que la actividad adyuvante aumenta con cada uno o más de (i) el resto de nitrógeno 2-amino permanece no sustituido, (ii) el punto de unión del conector está en el anillo B o el anillo C, y ocasionalmente el anillo A pero solo cuando el anillo B y el anillo C no están presentes, y (iii) el anillo A y/o el anillo C comprenden además un sustituyente con al menos 1 átomo de carbono (p. ej., al menos 2 átomos de carbono, al menos 3 átomos de carbono, al menos 4 átomos de carbono, o al menos 6 átomos de carbono). Sin embargo, es importante que el sustituyente del sustituyente del anillo A y/o el anillo C no sea tan grande como para dar como resultado interacciones estéricas y/o electrónicas desfavorables.

En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención comprenden un resto adyuvante con un núcleo de adyuvante que comprende un resto de nitrógeno 2-amino con un átomo de nitrógeno colgante, en donde cuando se une al dominio de unión de un TLR8 que comprende un resto de ácido aspártico, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de aproximadamente 5 Å (p. ej., menos de aproximadamente 4.9 Å, menos de aproximadamente 4.8 Å, menos de aproximadamente 4.7 Å, menos de aproximadamente 4.6 Å menos de aproximadamente 4.5 Å, menos de aproximadamente 4.4 Å, menos de aproximadamente 4.3 Å, menos de aproximadamente 4.2 Å, menos de aproximadamente 4.1 Å, menos de aproximadamente 4.0 Å, menos de aproximadamente 3.9 Å, menos de aproximadamente 3.8 Å, menos de aproximadamente 3.7 Å, menos de aproximadamente 3.6 Å, menos de aproximadamente 3.5 Å, menos de aproximadamente 3.4 Å, menos de aproximadamente 3.3 Å, menos de aproximadamente 3.2 Å, menos de aproximadamente 3.1 Å, o menos de aproximadamente 3 Å) de un oxígeno carbonílico de una cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico. Generalmente, el resto de ácido aspártico es Asp543 o Asp545. En ciertas realizaciones, el resto de ácido aspártico es Asp543. En realizaciones preferidas, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de aproximadamente 3 Å de un oxígeno carbonílico de una cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino forma un enlace de hidrógeno y/o un puente salino con la cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico (p. ej., Asp543). Se cree que el enlace de hidrógeno y/o el puente salino son cruciales para mantener la actividad del resto adyuvante.

En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención comprenden un resto adyuvante con un núcleo de adyuvante que comprende un resto de nitrógeno 2-amino con un átomo de nitrógeno colgante, en donde cuando se une al dominio de unión de un TLR7 que comprende un resto de ácido aspártico, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de aproximadamente 5 Å (p. ej., menos de aproximadamente 4.9 Å, menos de aproximadamente 4.8 Å, menos de aproximadamente 4.7 Å, menos de aproximadamente 4.6 Å menos de aproximadamente 4.5 Å, menos de aproximadamente 4.4 Å, menos de aproximadamente 4.3 Å, menos de aproximadamente 4.2 Å, menos de aproximadamente 4.1 Å, menos de aproximadamente 4.0 Å, menos de aproximadamente 3.9 Å, menos de aproximadamente 3.8 Å, menos de aproximadamente 3.7 Å, menos de aproximadamente 3.6 Å, menos de aproximadamente 3.5 Å, menos de aproximadamente 3.4 Å, menos de aproximadamente 3.3 Å, menos de aproximadamente 3.2 Å, menos de aproximadamente 3.1 Å, o menos de aproximadamente 3 Å) de un oxígeno carbonílico de una cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico. Generalmente, el resto de ácido aspártico es Asp548 o Asp555. En ciertas realizaciones, el resto de ácido aspártico es Asp555. En realizaciones preferidas, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de aproximadamente 3 Å de un oxígeno carbonílico de una cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino forma un enlace de hidrógeno y/o un puente salino con la cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico (p. ej., Asp555). Se cree que el enlace de hidrógeno y/o el puente salino son cruciales para mantener la actividad del resto adyuvante.

En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención comprenden un resto adyuvante con un núcleo de adyuvante que comprende un punto de unión de un conector al núcleo de adyuvante, en donde cuando se une al dominio de unión de un TLR8 que comprende un resto de arginina y serina, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å (p. ej., de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 9 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 8 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 7 Å, o de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 6 Å) de un átomo de oxígeno de una cadena lateral del resto de serina y/o el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å (p. ej., de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 9 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 8 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 7 Å, o de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 6 Å) de un átomo de nitrógeno de una cadena lateral del resto de arginina. En ciertas realizaciones, el resto de serina es Ser352 y el resto de arginina es Arg429. En realizaciones preferidas, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante está a menos de aproximadamente 7 Å del átomo de oxígeno de la cadena lateral del resto de serina y el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante está a menos de aproximadamente 7 Å del átomo de nitrógeno de la cadena lateral del resto de arginina. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante debe estar cerca de la abertura del dominio de unión del TLR8 para evitar interacciones estéricas y/o electrónicas entre el conector y el dominio de unión. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante debe estar cerca de la abertura del dominio de unión (p. ej., Ser352 y Arg429).

En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención comprenden un resto adyuvante con un núcleo de adyuvante que comprende un punto de unión de un conector al núcleo de adyuvante, en donde cuando se une al dominio de unión de un TLR7 que comprende un resto de lisina y valina, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å (p. ej., de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 9 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 8 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 7 Å, o de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 6 Å) de un átomo de carbono de metino de una cadena lateral del resto de valina y/o el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å (p. ej., de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 9 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 8 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 7 Å, o de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 6 Å) de un átomo de nitrógeno de una cadena lateral del resto de lisina. En ciertas realizaciones, el resto de valina es Val355 y el resto de lisina es Lys432. En realizaciones preferidas, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 7 Å del átomo de carbono de metino de la cadena lateral del resto de valina y el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 7 Å del átomo de nitrógeno de la cadena lateral del resto de lisina. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante debe estar cerca de la abertura del dominio de unión del TLR7 para evitar interacciones estéricas y/o electrónicas entre el conector y el dominio de unión. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante debe estar cerca de la abertura del dominio de unión (p. ej., Val355 y Lys432).

En realizaciones preferidas, cuando se une al dominio de unión de un TLR8 que comprende restos de ácido aspártico, arginina y serina, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de aproximadamente 5 Å del oxígeno carbonílico de la cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico y el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å del átomo de oxígeno de la cadena lateral del resto de serina y/o el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å del átomo de nitrógeno de la cadena lateral del resto de arginina. En ciertas realizaciones, el resto de serina es Ser352, el resto de arginina es Arg429 y el resto de ácido aspártico es Asp543.

En realizaciones preferidas, cuando se une al dominio de unión de un TLR7 que comprende restos de ácido aspártico, lisina y valina, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de aproximadamente 5 Å del oxígeno carbonílico de la cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico y el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å del átomo de carbono de metino de la cadena lateral del resto de valina y/o el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante a de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 10 Å del átomo de nitrógeno de la cadena lateral del resto de lisina. En ciertas realizaciones, el resto de valina es Val355, el resto de lisina es Lys432 y el resto de ácido aspártico es Asp555.

Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el núcleo de adyuvante debe estar unido en una cierta posición para facilitar la orientación del resto adyuvante en el dominio de unión del TLR de manera que el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino mantiene un enlace de hidrógeno y/o un puente salino en el bolsillo de unión. Se cree que cuando el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante no está cerca de la abertura del dominio de unión, se fuerza al resto adyuvante a desplazarse, alterando de este modo el enlace de hidrógeno y/o el puente salino del resto de nitrógeno 2-amino. Véanse, por ejemplo, los ejemplos 1 y 2.

La distancia entre átomos se puede medir por cualquier medio adecuado. En algunas realizaciones, la distancia entre átomos se puede medir teóricamente usando PyMol v1.8.0.1 Enhanced para Mac OS X, Copyright © Schrodinger LLC. En algunas realizaciones, la distancia entre átomos puede medirse a partir de una estructura cristalina de molécula, complejo o proteína.

Anticuerpos

Los inmunoconjugados de la invención comprenden una construcción de anticuerpo que comprende (i) un dominio de unión a antígeno y (ii) un dominio Fc. En algunas realizaciones, la construcción de anticuerpo comprende además un dominio de unión de direccionamiento. En ciertas realizaciones, la construcción de anticuerpo es un anticuerpo. En ciertas realizaciones, la construcción de anticuerpo es una proteína de fusión.

Los anticuerpos en los inmunoconjugados pueden ser anticuerpos alogénicos. La frase "anticuerpo alogénico" y el término "aloanticuerpo" se refieren a un anticuerpo que no procede del individuo en cuestión (p. ej., un individuo con un tumor y que busca tratamiento), sino que es de la misma especie, o es de una especie diferente, pero se ha modificado genéticamente para reducir, mitigar o evitar el reconocimiento como un xenoanticuerpo (p. ej., no propio). Por ejemplo, el "anticuerpo alogénico" puede ser un anticuerpo humanizado. Un experto en la técnica conoce bien cómo modificar genéticamente un anticuerpo no humano para evitar el reconocimiento como un xenoanticuerpo. A menos que se indique específicamente lo contrario, "anticuerpo" y "anticuerpos alogénicos" como se usan en el presente documento se refieren a inmunoglobulina G (IgG) o inmunoglobulina A (IgA).

Si una célula cancerosa de un individuo humano se pone en contacto con un anticuerpo que no ha sido generado por esa misma persona (p. ej., el anticuerpo ha sido generado por un segundo individuo humano, el anticuerpo ha sido generado por otra especie tal como un ratón, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado que ha sido generado por otra especie, etc.), entonces el anticuerpo se considera alogénico (con respecto al primer individuo). Un anticuerpo

monoclonal de ratón humanizado que reconoce un antígeno humano (p. ej., un antígeno específico de cáncer, un antígeno que está enriquecido en y/o sobre células cancerosas, etc.) se considera que es un "aloanticuerpo" (un anticuerpo alogénico).

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo IgG policlonal alogénico. En algunas realizaciones, el anticuerpo está presente en una mezcla de anticuerpos IgG policlonales con una pluralidad de especificidades de unión. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la mezcla se unen específicamente a diferentes moléculas diana, y en algunos casos los anticuerpos de la mezcla se unen específicamente a diferentes epítopos de la misma molécula diana. Por lo tanto, una mezcla de anticuerpos puede incluir en algunos casos más de un inmunoconjugado de la invención (p. ej., pueden unirse covalentemente restos adyuvantes a anticuerpos de una mezcla, p. ej., una mezcla
10 de anticuerpos IgG policlonales, dando como resultado una mezcla de conjugados anticuerpo-adyuvante de la invención). Una mezcla de anticuerpos se puede combinar de 2 o más individuos (p. ej., 3 o más individuos, 4 o más individuos, 5 o más individuos, 6 o más individuos, 7 o más individuos, 8 o más individuos, 9 o más individuos, 10 o más individuos, etc.). En algunos casos, se usa suero combinado como fuente de aloanticuerpos, donde el suero puede proceder de cualquier número de individuos, ninguno de los cuales es el primer individuo (p. ej., el suero puede combinarse de 2 o más individuos, 3 o más individuos, 4 o más individuos, 5 o más individuos, 6 o más individuos, 7
15 o más individuos, 8 o más individuos, 9 o más individuos, 10 o más individuos, etc.). En algunos casos, los anticuerpos se aíslan o purifican a partir de suero antes de usar. La purificación se puede llevar a cabo antes o después de combinar los anticuerpos de diferentes individuos.

20 En algunos casos donde los anticuerpos en los inmunoconjugados comprenden IgG del suero, los antígenos diana para algunos (p. ej., más de 0% pero menos de 50%), la mitad, la mayoría (más de 50% pero menos de 100%), o incluso todos los anticuerpos (es decir, IgG del suero) serán desconocidos. Sin embargo, las posibilidades son altas de que al menos un anticuerpo en la mezcla reconozca el antígeno diana de interés porque dicha mezcla contiene una amplia variedad de anticuerpos específicos para una amplia variedad de antígenos diana.

25 En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo IgA policlonal alogénico. En algunas realizaciones, el anticuerpo está presente en una mezcla de anticuerpos IgA policlonales con una pluralidad de especificidades de unión. En algunos casos, los anticuerpos de la mezcla se unen específicamente a diferentes moléculas diana, y en algunos casos los anticuerpos de la mezcla se unen específicamente a diferentes epítopos de la misma molécula diana. Por lo tanto, una mezcla de anticuerpos puede incluir en algunos casos más de un inmunoconjugado de la invención (p. ej., pueden unirse covalentemente restos adyuvantes a anticuerpos de una mezcla, p. ej., una mezcla
30 de anticuerpos IgA policlonales, dando como resultado una mezcla de conjugados anticuerpo-adyuvante de la invención). Una mezcla de anticuerpos puede combinarse de 2 o más individuos (p. ej., 3 o más individuos, 4 o más individuos, 5 o más individuos, 6 o más individuos, 7 o más individuos, 8 o más individuos, 9 o más individuos, 10 o más individuos, etc.). En algunos casos, se usa suero combinado como fuente de aloanticuerpos, donde el suero puede proceder de cualquier número de individuos, ninguno de los cuales es el primer individuo (p. ej., el suero puede combinarse de 2 o más individuos, 3 o más individuos, 4 o más individuos, 5 o más individuos, 6 o más individuos, 7
35 o más individuos, 8 o más individuos, 9 o más individuos, 10 o más individuos, etc.). En algunos casos, los anticuerpos se aíslan o purifican a partir de suero antes de usar. La purificación se puede llevar a cabo antes o después de combinar los anticuerpos de diferentes individuos.

40 En algunos casos en donde los anticuerpos en los inmunoconjugados comprenden las IgA de suero, los antígenos diana para algunos (p. ej., más de 0% pero menos de 50%), la mitad, la mayoría (más de 50% pero menos de 100%), o incluso todos los anticuerpos (es decir, las IgA del suero) serán desconocidos. Sin embargo, las posibilidades son altas de que al menos un anticuerpo en la mezcla reconozca el antígeno diana de interés porque dicha mezcla contiene una amplia variedad de anticuerpos específicos para una amplia variedad de antígenos diana.

45 En algunos casos, el anticuerpo en los inmunoconjugados incluye inmunoglobulina intravenosa (IGIV) y/o anticuerpos de (p. ej., enriquecidos de, purificados de, p. ej., purificados por afinidad de) IGIV. La IGIV es un producto sanguíneo que contiene IgG (inmunoglobulina G) combinada del plasma (p. ej., en algunos casos sin ninguna otra proteína) de muchos (p. ej., algunas veces más de 1000 a 60 000) donantes de sangre normales y sanos. La IGIV está disponible comercialmente. La IGIV contiene un alto porcentaje de IGIV monomérica humana nativa, y tiene un bajo contenido de IgA. Cuando se administra por vía intravenosa, la IGIV mejora varias afecciones patológicas. Por lo tanto, la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (FDA) ha aprobado el uso de IGIV para varias enfermedades que incluyen (1) enfermedad de Kawasaki; (2) trombocitopenia inmunomediada; (3) inmunodeficiencias primarias; (4) trasplante de células madre hematopoyéticas (para los mayores de 20 años); (5) leucemia linfocítica crónica de células B; y (6) infección pediátrica por VIH tipo 1. En 2004, la FDA aprobó el Protocolo IVIG de Cedars-Sinai para receptores de trasplante de riñón de modo que dichos receptores podrían aceptar un riñón de donante vivo de cualquier donante sano, independientemente del tipo de sangre (incompatible con ABO) o la compatibilidad de tejidos. Estos y otros aspectos de la IGIV se describen, por ejemplo, en las publicaciones de solicitudes de patente de EE. UU. 2010/0150942; 2004/0101909; 2013/0177574; 2013/0108619; y 2013/0011388.
50
55

60 En algunos casos, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal de una subclase definida (p. ej., IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ o IgA₂). Si se usan combinaciones de anticuerpos, los anticuerpos pueden ser de la misma subclase o de diferentes subclases. Por ejemplo, los anticuerpos pueden ser anticuerpos IgG₁. Los expertos en la técnica pueden obtener diversas combinaciones de diferentes subclases, en diferentes proporciones relativas. En algunos casos, una

subclase específica, o una combinación específica de diferentes subclases puede ser particularmente eficaz en el tratamiento del cáncer o la reducción del tamaño del tumor. Por consiguiente, algunas realizaciones de la invención proporcionan inmunocombinados en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo monoclonal está humanizado.

- 5 En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un antígeno de una célula cancerosa. Por ejemplo, el anticuerpo puede unirse a un antígeno diana que está presente en una cantidad de al menos 10; 100; 1000; 10 000; 100 000; 1 000 000; 2.5×10^6 ; 5×10^6 ; o 1×10^7 copias o más en la superficie de una célula cancerosa.

- 10 En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un antígeno en una célula cancerosa o inmunitaria con una afinidad mayor que un antígeno correspondiente en una célula no cancerosa. Por ejemplo, el anticuerpo puede reconocer preferentemente un antígeno que contiene un polimorfismo que se encuentra en una célula cancerosa o inmunitaria en comparación con el reconocimiento de un antígeno natural correspondiente en la célula no cancerosa o no inmunitaria. En algunos casos, el anticuerpo se une a una célula cancerosa o inmunitaria con mayor avidez que a una célula no cancerosa o no inmunitaria. Por ejemplo, la célula cancerosa o inmunitaria pueden expresar una densidad mayor de un antígeno, proporcionando así una unión de mayor afinidad de un anticuerpo multivalente a la célula cancerosa o inmunitaria.

- 15 En algunos casos, el anticuerpo no se une significativamente a antígenos no cancerosos (p. ej., el anticuerpo se une a uno o más antígenos no cancerosos con al menos 10; 100; 1000; 10 000; 100 000; o 1 000 000 veces menor afinidad (Kd mayor) que al antígeno canceroso diana). En algunos casos, el antígeno canceroso diana al que se une el anticuerpo está enriquecido en la célula cancerosa. Por ejemplo, el antígeno canceroso diana puede estar presente en la superficie de la célula cancerosa en un nivel que es al menos 2, 5, 10; 100; 1000; 10 000; 100 000; o 1 000 000 veces mayor que en una célula no cancerosa correspondiente. En algunos casos, la célula no cancerosa correspondiente es una célula del mismo tejido u origen que no es hiperproliferativa o cancerosa de otro modo. En general, un anticuerpo IgG objeto que se une específicamente a un antígeno (un antígeno diana) de una célula cancerosa se une preferentemente a ese antígeno particular en relación con otros antígenos disponibles. Sin embargo, no es necesario que el antígeno diana sea específico para la célula cancerosa o incluso que esté enriquecido en células cancerosas en relación con otras células (p. ej., el antígeno diana puede ser expresado por otras células). Por lo tanto, en la frase "un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno de una célula cancerosa", el término "específicamente" se refiere a la especificidad del anticuerpo y no a la exclusividad del antígeno en ese tipo de célula particular.

- 20 En algunas realizaciones, los anticuerpos en los inmunocombinados contienen una región Fc modificada, en donde la modificación modula la unión de la región Fc a uno o más receptores de Fc.

- 25 En algunas realizaciones, los anticuerpos contienen una o más modificaciones (p. ej., inserción, delección y/o sustitución de aminoácidos) en la región Fc que dan como resultado una unión modulada (p. ej., unión aumentada o unión disminuida) a uno o más receptores de Fc (p. ej., FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A), FcγRIIB (CD32B), FcγRIIIA (CD16a) y/o FcγRIIIB (CD16b)) en comparación con el anticuerpo nativo que carece de la mutación en la región Fc. En algunas realizaciones, los anticuerpos contienen una o más modificaciones (p. ej., inserción, delección y/o sustitución de aminoácidos) en la región Fc que reducen la unión de la región Fc del anticuerpo a FcγRIIB. En algunas realizaciones, los anticuerpos contienen una o más modificaciones (p. ej., inserción, delección y/o sustitución de aminoácidos) en la región Fc del anticuerpo que reducen la unión del anticuerpo a FcγRIIB mientras mantienen la misma unión o tienen una unión aumentada a FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A) y/o FcγRIIIA (CD16a) en comparación con el anticuerpo nativo que carece de la mutación en la región Fc. En algunas realizaciones, los anticuerpos contienen una o más modificaciones en la región Fc que aumentan la unión de la región Fc del anticuerpo a FcγRIIB. En algunas realizaciones, las modificaciones reducen o eliminan sustancialmente las funciones efectoras de los anticuerpos.

- 30 En algunas realizaciones, la unión modulada se proporciona mediante mutaciones en la región Fc del anticuerpo con respecto a la región Fc nativa del anticuerpo. Las mutaciones pueden estar en un dominio CH2, un dominio CH3, o una combinación de los mismos. Una "región Fc nativa" es sinónimo de una "región Fc natural" y comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc encontrada en la naturaleza o idéntica a la secuencia de aminoácidos de la región Fc encontrada en el anticuerpo nativo. Las regiones Fc humanas de secuencia nativa incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia nativa, una región Fc de IgG2 humana de secuencia nativa, una región Fc de IgG3 humana de secuencia nativa y una región Fc de IgG4 humana de secuencia nativa, así como variantes de origen natural de las mismas. La secuencia nativa de Fc incluye los diversos alotipos de Fc (véase, p. ej., Jefferis et al., *mAbs*, 1(4): 332-338 (2009)).

- 35 En algunas realizaciones, las mutaciones en la región Fc que dan como resultado la unión modulada a uno o más receptores de Fc pueden incluir una o más de las siguientes mutaciones: SD (S239D), SDIE (S239D/I332E), SE (S267E), SELF (S267E/L328F), SDIE (S239D/I332E), SDIEAL (S239D/I332E/A330L), GA (G236A), ALIE (A330L/I332E), GASDALIE (G236A/S239D/A330L/I332E), V9 (G237D/P238D/P271G/A330R) y V11 (G237D/P238D/H268D/P271G/A330R), y/o una o más mutaciones en los siguientes aminoácidos: E233, G237, P238, H268, P271, L328 y A330. Modificaciones adicionales de la región Fc para modular la unión al receptor de Fc se describen, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. 2016/0145350 y patentes de EE. UU. 7,416,726 y 5,624,821.

En algunas realizaciones, la región Fc de los anticuerpos se modifica para tener un patrón de glicosilación alterado de la región Fc en comparación con la región Fc no modificada nativa.

La inmunoglobulina humana está glicosilada en el resto Asn297 en el dominio Cy2 de cada cadena pesada. Este oligosacárido unido por N está compuesto por un heptasacárido central, N-acetilglucosamina4Manosa3 (GlcNAc4Man3). Se sabe que la eliminación del heptasacárido con endoglicosidasa o PNGasa F conduce a cambios conformacionales en la región Fc del anticuerpo, lo que puede reducir significativamente la afinidad de unión del anticuerpo al FcγR activador y conducir a una disminución de la función efectora. El heptasacárido central a menudo está decorado con galactosa, GlcNAc bisecante, fucosa o ácido siálico, que afecta de forma diferencial a la unión de Fc al FcγR activador e inhibidor. Adicionalmente, se ha demostrado que la α2,6-sialilación potencia la actividad antiinflamatoria *in vivo*, mientras que la defucosilación conduce a una unión mejorada a FcγRIIIa y un aumento de 10 veces en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y la fagocitosis dependiente de anticuerpos. Por lo tanto, se pueden usar patrones de glicosilación específicos para controlar funciones efectoras inflamatorias.

En algunas realizaciones, la modificación para alterar el patrón de glicosilación es una mutación. Por ejemplo, una sustitución en Asn297. En algunas realizaciones, Asn297 se muta a glutamina (N297Q). Los métodos para controlar la respuesta inmunitaria con anticuerpos que modulan la señalización regulada por FcγR se describen, por ejemplo, en patente de EE. UU. 7,416,726 y publicaciones de solicitud de patente de EE. UU. 2007/0014795 y 2008/0286819.

En algunas realizaciones, los anticuerpos se modifican para contener una región Fab modificada genéticamente con un patrón de glicosilación de origen no natural. Por ejemplo, los híbrdomas pueden modificarse genéticamente para secretar mAb afucosilado, mAb desialilado o Fc desglicosilado con mutaciones específicas que permiten mayor unión a FcγRIIIa y función efectora. En algunas realizaciones, los anticuerpos se modifican genéticamente para ser afucosilados.

En algunas realizaciones, la región Fc completa de un anticuerpo se intercambia con una región Fc diferente, de modo que la región Fab del anticuerpo se conjuga con una región Fc no nativa. Por ejemplo, la región Fab de atezolizumab, que normalmente comprende una región Fc de IgG1, puede conjugarse con IgG2, IgG3, IgG4 o IgA, o la región Fab de nivolumab, que normalmente comprende una región Fc de IgG4, puede conjugarse con IgG1, IgG2, IgG3, IgA1 o IgG2. En algunas realizaciones, el anticuerpo modificado en Fc con un dominio Fc no nativo también comprende una o más modificaciones de aminoácidos, tales como la mutación S228P dentro del Fc de IgG4, que modulan la estabilidad del dominio Fc descrito. En algunas realizaciones, el anticuerpo modificado en Fc con un dominio Fc no nativo también comprende una o más modificaciones de aminoácidos descritas en el presente documento que modulan la unión de Fc a FcR.

En algunas realizaciones, las modificaciones que modulan la unión de la región Fc a FcR no alteran la unión de la región Fab del anticuerpo a su antígeno cuando se comparan con el anticuerpo nativo no modificado. En otras realizaciones, las modificaciones que modulan la unión de la región Fc a FcR también aumentan la unión de la región Fab del anticuerpo a su antígeno en comparación con el anticuerpo nativo no modificado.

En algunas realizaciones, la región Fc se modifica mediante la unión o inclusión de un receptor del factor de crecimiento transformante beta 1 (TGFβ1), o un fragmento del mismo, que es capaz de unirse a TGFβ1. Por ejemplo, el receptor puede ser el receptor II de TGFβ (TGFβRII) (véase la patente de EE. UU. 9,676,863). En algunas realizaciones, el receptor de TGFβ es un receptor de TGFβ humano. En algunas realizaciones, la región Fc (p. ej., IgG) tiene una fusión C-terminal con un dominio extracelular del receptor de TGFβ (p. ej., TGFβRII) (ECD; p. ej., aminoácidos 24-159 de la SEQ ID NO: 9 de patente de EE. UU. 9,676,863). Se puede usar un "conector de Fc" para unir la IgG al dominio extracelular de TGFβR, por ejemplo, un conector de Fc G4S4G. El conector Fc puede ser un péptido corto, flexible que permite el plegamiento tridimensional apropiado de la molécula mientras mantiene la especificidad de unión a las dianas. En algunas realizaciones, el extremo N del receptor de TGFβ se fusiona con la región Fc (con o sin un conector de Fc). En algunas realizaciones, el extremo C de la cadena pesada de inmunoglobulina se fusiona con el receptor de TGFβ (con o sin un conector de Fc). En algunas realizaciones, el resto de lisina C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo se muta a alanina. En algunas realizaciones, el anticuerpo incluye la SEQ ID NO: 168.

Dianas

En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno o anticuerpo es capaz de unirse a una o más dianas o antígenos seleccionados de (p. ej., se une específicamente a una diana seleccionada de) 5T4, ABL, ABCF1, ACVR1, ACVR1B, ACVR2, ACVR2B, ACVRL1, ADORA2A, AFP, agrecano, AGR2, AICDA, AIF1, AIGI, AKAP1, AKAP2, ALCAM, ALK, AMH, AMHR2, ANGPT1, ANGPT2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANPEP, APC, APOC1, AR, aromataasa, ASPH, ATX, AX1, AXL, AZGP1 (zinc-a-glicoproteína), B4GALNT1, B7, B7.1, B7.2, B7-H1, B7-H3, B7-H4, B7-H6, BAD, BAFF, BAG1, BAI1, BCR, BCL2, BCL6, BCMA, BDNF, BLNK, BLR1 (MDR15), BlyS, BMP1, BMP2, BMP3B (GDF10), BMP4, BMP6, BMP8, BMP10, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2, BPAG1 (plectina), BRCA1, C19orf10 (IL27w), C3, C4A, C5, C5R1, CA6, CA9, CANT1, CAPRIN-1, CASP1, CASP4, CAV1, CCBP2 (D6/JAB61), CCL1 (1-309), CCL11 (eotaxina), CCL13 (MCP-4), CCL15 (MIP-1d), CCL16 (HCC-4), CCL17 (TARC), CCL18 (PARC), CCL19 (MIP-3b), CCL2 (MCP-1), MCAF, CCL20 (MIP-3a), CCL21 (MEP-2), SLC, exodus-2, CCL22(MDC/STC-1), CCL23 (MPIF-1), CCL24 (MPIF-2/eotaxina-2), CCL25 (TECK), CCL26(eotaxina-3), CCL27 (CTACK/ILC), CCL28, CCL3 (MIP-1a), CCL4

(MIP1b), CCL5(RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL8 (mcp-2), CCNA1, CCNA2, CCND1, CCNE1, CCNE2, CCR1 (CKR1/HM145), CCR2 (mcp-IRB/RA), CCR3 (CKR3/CMKBR3), CCR4, CCR5(CMKBR5/ChemR13), CCR6 (CMKBR6/CKR-L3/STRL22/DRY6), CCR7 (CKR7/EB11), CCR8 o CDw198 (CMKBR8/TERI/CKR-L1), CCR9 (GPR-9-6), CCRL1 (VSHK1), CCRL2 (L-CCR), CD13, CD164, CD19, CDH6, CDIC, CD2, CD20, CD21, CD200, CD22, CD23, CD24, CD27, CD28, CD29, CD3, CD33, CD35, CD37, CD38, CD3E, CD3G, CD3Z, CD4, CD40, CD40L, CD44, CD45RB, CD47, CD52, CD56, CD69, CD70, CD72, CD74, CD79A, CD79B, CD8, CD80, CD81, CD83, CD86, CD97, CD99, CD117, CD125, CD137, CD147, CD179b, CD223, CD279, CD152, CD274, CDH1 (E-cadherina), CDH10, CDH12, CDH13, CDH18, CDH19, CDH20, CDH3, CDH5, CDH7, CDH8, CDH9, CDH17, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK9, CDKN1A (p21Wap1/Cip1), CDKN1B (p27Kip1), CDKN1C, CDKN2A (p16INK4a), CDKN2B, CDKN2C, CDKN3, CEA, CEACAM5, CEACAM6, CEBPB, CER1, CFC1B, CHGA, CHGB, quitinasa, CHST10, CIK, CKLFSF2, CKLFSF3, CKLFSF4, CKLFSF5, CKLFSF6, CKLFSF7, CKLFSF8, CLDN3, CLDN6, CLDN7 (claudina-7), CLDN18, CLEC5A, CLEC6A, CLEC11A, CLEC14A, CLN3, CLU (clusterina), CMKLR1, CMKOR1 (RDC1), CNR1, C-MET, COL18A1, COL1A1, COL4A3, COL6A1, CR2, Cripto, CRP, CSF1 (M-CSF), CSF2 (GM-CSF), CSF3 (G-CSF), CTAG1B (NY-ESO-1), CTLA4, CTL8, CTNNB1 (b-catenina), CTSB (cathepsina B), CX3CL1 (SCYD1), CX3CR1 (V28), CXCL1 (GRO1), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (1-TAC/IP-9), CXCL12 (SDF1), CXCL13, CXCL14, CXCL16, CXCL2 (GRO2), CXCL3 (GRO3), CXCL5 (ENA-78/LIX), CXCL6 (GCP-2), CXCL9 (MIG), CXCR3 (GPR9/CKR-L2), CXCR4, CXCR6 (TYMSTR/STRL33/Bonzo), CYB5, CYC1, CYSLTR1, DAB2IP, DES, DKFZp451J0118, DLK1, DNCL1, DPP4, E2F1, Engel, Edge, Fennel, EFNA3, EFNB2, EGF, EGFR, ELAC2, ENG, Enola, ENO2, ENO3, EpCAM, EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHA9, EPHA10, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB5, EPHB6, efrina-A1, efrina-A2, efrinaA3, efrina-A4, efrina-A5, efrina-A6, efrina-B1, efrina-B2, efrina-B3, EPHB4, EPG, ERBB2 (HER-2), ERBB3, ERBB4, EREG, ERK8, ERK8, receptor de estrógenos, Earl, ESR2, F3 (TF), FADD, FAP, farnesiltransferasa, FasL, FASNf, FCER1A, FCER2, FCGR3A, FGF, FGF1 (aFGF), FGF10, FGF11, FGF12, FGF12B, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF2 (bFGF), FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, FGF3 (int-2), FGF4 (HST), FGF5, FGF6 (HST-2), FGF7 (KGF), FGF8, FGF9, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FIGF (VEGFD), FIL1(EPSILON), FBL1 (ZETA), FLJ12584, FLJ25530, FLRT1 (fibronectina), FLT1, FLT-3, FOLR1, FOS, FOSL1 (FRA-1), FR-alfa, FY (DARC), GABRP (GABAa), GAGEB1, GAGEC1, GALNAC4S-6ST, GATA3, GD2, GD3, GDF5, GF11, GFRA1, GGT1, GM-CSF, GNAS1, GNRH1, GPC1, GPC3, GPNB, GPR2 (CCR10), GPR31, GPR44, GPR81 (FKSG80), GRCC10 (C10), GRP, GSN (Gelsolina), GSTP1, GUCY2C, HAVCR1, HAVCR2, HDAC, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, Hedgehog, HER3, HGF, HIF1A, HIP1, histamina y receptores de histamina, HLA-A, HLA-DR, HLA-DRA, HLA-E, HM74, HMOX1, HSP90, HUMCYT2A, ICEBERG, ICOSL, ID2, IFN-a, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, EFNA6, BFNA7, IFNB1, IFNgamma, IFNW1, IGBP1, IGF1, IGFIR, IGF2, IGFBP2, IGFBP3, IGFBP6, DL-1, IL10, ILIORA, ILIORB, IL-1, IL1R1 (CD121a), IL1R2(CD121b), IL-1RA, IL-2, IL2RA (CD25), IL2RB(CD122), IL2RG(CD132), IL-4, IL-4R(CD123), IL-5, IL5RA(CD125), IL3RB(CD131), IL-6, IL6RA, (CD126), IR6RB(CD130), IL-7, IL7RA(CD127), IL-8, CXCR1 (IL8RA), CXCR2, (IL8RB/CD128), IL-9, IL9R(CD129), IL-10, IL10RA(CD210), IL10RB(CDW210B), IL-11, IL11RA, IL-12, IL-12A, IL-12B, IL-12RB1, IL-12RB2, IL-13, IL13RA1, IL13RA2, IL14, IL15, IL15RA, IL16, IL17, IL17A, IL17B, IL17C, IL17R, IL18, IL18BP, IL18R1, IL18RAP, IL19, IL1IA, IL1IB, IL1IF5, IL1IF6, IL1IF7, IL1F8, DL1F9, ILIHY1, ILIR1, IL1R2, ILIRAP, ILIRAPLI, ILIRAPL2, ILIRL1, IL1RL2, ILIRN, IL2, IL20, IL20RA, IL21R, IL22, IL22R, IL22RA2, IL23, DL24, IL25, IL26, IL27, IL28A, IL28B, IL29, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL3, IL30, IL3RA, IL4, 1L4, IL6ST (glicoproteína 130), ILK, INHA, INHBA, INSL3, INSL4, IRAK1, IRAK2, ITGA1, ITGA2, ITGA3, ITGA6 (integrina α 6), ITGAV, ITGB3, ITGB4 (integrina β 4), JAG1, JAK1, JAK3, JTB, JUN, K6HF, KAI1, KDR, KIT, KITLG, KLF5 (GC Box BP), KLF6, KLK10, KLK12, KLK13, KLK14, KLK15, KLK3, KLK4, KLK5, KLK6, KLK9, KRT1, KRT19 (queratina 19), KRT2A, KRTHB6(queratina tipo II específica de cabello), L1CAM, LAG3, LAMA5, LAMP1, LEP (leptina), antígeno de Lewis Y ("LeY"), LILRB1, Lingo-p75, Lingo-Troy, LGALS3BP, LRRC15, LPS, LTA (TNF-b), LTB, LTB4R (GPR16), LTB4R2, LTBR, LY75, LYPD3, MACMARCKS, MAG o OMgp, MAGEA3, MAGEA6, MAP2K7 (c-Jun), MCP-1, MDK, MIB1, midkina, MIF, MISRII, MJP-2, MLSN, MK, MKI67 (Ki-67), MMP2, MMP9, MS4A1, MSMB, MT3 (metalotionectina-U), mTOR, MTSS1, MUC1 (mucina), MUC16, MYC, MYD88, NCK2, NCR3LG1, neurocan, NFKBI, NFKB2, NGFB (NGF), NGFR, NgR-Lingo, NgRNogo66, (Nogo), NgR-p75, NgR-Troy, NME1 (NM23A), NOTCH, NOTCH1, NOTCH3, NOX5, NPPB, NROB1, NROB2, NR1D1, NR1D2, NR1H2, NR1H3, NR1H4, NR112, NR113, NR2C1, NR2C2, NR2E1, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, NR6A1, NRP1, NRP2, NT5E, NTN4, NY-ESO1, ODZI, OPRDI, P2RX7, PAP, PART1, PATE, PAWR, P-cadherina, PCA3, PCD1, PD-L1, PCDGF, PCNA, PDGFA, PDGFB, PDGFRB, PECAM1, L1-CAM, peg-asparaginasa, PF4 (CXCL4), PGF, PGR, fosfacan, PIAS2, quinasa PI3, PIK3CG, PLAU (uPA), PLG, PLXDCI, PKC, PKC-beta, PPBP (CXCL7), PPID, PR1, PRAME, PRKCQ, PRKD1, PRL, PROC, PROK2, PSAP, PSCA, PSMA, PTAFR, PTEN, PTHR2, PTGS2 (COX-2), PTN, PVRIG, RAC2 (P21Rac2), RANK, ligando de RANK, RARB, RGS1, RGS13, RGS3, RNFI10 (ZNF144), Ron, ROBO2, ROR1, RXR, S100A2, SCGB 1D2 (lipofilina B), SCGB2A1 (mamaglobina 2), SCGB2A2 (mamaglobina 1), SCYE1 (citoquina activadora de monocitos endoteliales), SDF2, SERPENA1, SERPINA3, SERPINB5 (maspina), SERPINEI (PAI-I), SERPINFI, SHIP-1, SHIP-2, SHB1, SHB2, SHBG, SfcAZ, SLAMF7, SLC2A2, SLC33A1, SLC43A1, SLC44A4, SLC34A2, SLIT2, SPP1, SPRR1B (Spr1), ST6GAL1, ST8SIA1, STAB1, STATE, STEAP, STEAP2, TB4R2, TBX21, TCP10, TDGF1, TEK, TGFA, TGFB1, TGFB1I1, TGFB2, TGFB3, TGFB1, TGFB1R1, TGFB2R2, TGFB3R3, THIL, THBS1 (trombospondina-1), THBS2, THBS4, THPO, TIE (Tie-1), TIMP3, factor tisular, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TNF, TNF-a, TNFAIP2 (B94), TNFAIP3, TNFRSF1A, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TNFRSF21, TNFRSF5, TNFRSF6 (Fas), TNFRSF7, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFSF10 (TRAIL), TNFRSF10A, TNFRSF12A, TNFRSF12A, TNFRSF17, TNFSF11 (TRANCE), TNFSF12 (APO3L), TNFSF13 (April), TNFSF13B, TNFSF14 (HVEM-L), TNFRSF14 (HVEM), TNFSF15 (VEGI), TNFSF18, TNFSF4 (OX40 ligand), TNFSF5 (CD40 ligand), TNFSF6 (FasL), TNFSF7 (ligando CD27), TNFSF8 (ligando CD30), TNFSF9 (ligando 4-1BB), TOLLIP, receptores tipo Toll, TOP2A (topoisomerasa IIA), TP53, TPM1, TPM2, TRADD, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4,

TRAF5, TRAF6, TRKA, TREM1, TREM2, TROP2, TRPC6, TSLP, TWEAK, tirosinasa, uPAR, VEGF, VEGFB, VEGFC, versican, VHL C5, VLA-4, WT1, Wnt-1, XCL1 (linfotactina), XCL2 (SCM-Ib), XCRI (GPR5/CCXCR1), YY1, ZFPM2, CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CDH6, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (Mincle), CLEC6A (Dectina-2), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNDR-1), CLEC7A (Dectina-1), CLEC11A, PDGFRa, SLAMF7, GP6 (GPVI), LILRA1 (CD85I), LILRA2 (CD85H, ILT1), LILRA4 (CD85G, ILT7), LILRA5 (CD85F, ILT11), LILRA6 (CD85b, ILT8), LILRB1, NCR1 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD337, NKp30), OSCAR, TARM1, CD30, CD300C, CD300E, CD300LB (CD300B), CD300LD (CD300D), KIR2DL4 (CD158D), KIR2DS, KLRC2 (CD159C, NKG2C), KLRK1 (CD314, NKG2D), NCR2 (CD336, NKp44), PILRB, SIGLEC1 (CD169, SN), SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC7, SIGLEC8, SIGLEC9, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC14, SIGLEC15 (CD33L3), SIGLEC16, SIRPA, SIRPB1 (CD172B), TREM1 (CD354), TREM2, KLRF1 (NKp80), 17-1A, SLAM7, MSLN, CTAG1B/NY-ESO-1, MAGEA3/A6, ATP5I (Q06185), OAT (P29758), AIFM1 (Q9Z0X1), AOFa (Q64133), MTDC (P18155), CMC1 (Q8BH59), PREP (Q8K411), YMEL1 (Q88967), LPPRC (Q6PB66), LONM (Q8CGK3), ACON (Q99K10), ODO1 (Q60597), IDHP (P54071), ALDH2 (P47738), ATPB (P56480), AATM (P05202), TMM93 (Q9CQW0), ERG13 (Q9CQE7), RTN4 (Q99P72), CL041 (Q8BQR4), ERLN2 (Q8BFZ9), TERA (Q01853), DAD1 (P61804), CALX (P35564), CALU (Q35887), VAPA (Q9WV55), MOGS (Q80UM7), GANAB (Q8BHN3), ERO1A (Q8R180), UGGG1 (Q6P5E4), P4HA1 (Q60715), HYEP (Q9D379), CALR (P14211), AT2A2 (Q55143), PDIA4 (P08003), PDIA1 (P09103), PDIA3 (P27773), PDIA6 (Q922R8), CLH (Q68FD5), PPIB (P24369), TCPG (P80318), MOT4 (P57787), NICA (P57716), BASI (P18572), VAPA (Q9WV55), ENV2 (P11370), VAT1 (Q62465), 4F2 (P10852), ENOA (P17182), ILK (Q55222), GPNMB (Q99P91), ENV1 (P10404), ERO1A (Q8R180), CLH (Q68FD5), DSG1A (Q61495), AT1A1 (Q8VDN2), HYOU1 (Q9JKR6), TRAP1 (Q9CQN1), GRP75 (P38647), ENPL (P08113), CH60 (P63038), y CH10 (Q64433). En la lista precedente, se muestran los números de acceso entre paréntesis.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-HER2, un anticuerpo anti-EGFR y un anticuerpo anti-CEA.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que reconoce específicamente y se une a PD-L1 (SEQ ID NO: 1). La construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una o más regiones variables (p. ej., dos regiones variables) de un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo anti-PD-L1, comprendiendo cada región variable una CDR1, una CDR2 y una CDR3.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de atezolizumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 2-4, (ii) todas las SEQ ID NO: 5-7, o (iii) todas las SEQ ID NO: 2-7. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 2-7.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de atezolizumab comprende además las regiones armazón del atezolizumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR del atezolizumab comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 2-4 y 8-11, (ii) todas las SEQ ID NO: 5-7 y 12-15; o (iii) todas las SEQ ID NO: 2-7 y 8-15.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de atezolizumab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 44. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 45. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende la SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, o tanto la SEQ ID NO: 44 como la 45. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 44-45.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de durvalumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 18-20, (ii) todas las SEQ ID NO: 21-23, o (iii) todas las SEQ ID NO: 18-23. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 18-23.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de durvalumab comprende además las regiones armazón del durvalumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR del durvalumab comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 18-20 y 24-26, (ii) todas las SEQ ID NO: 21-23 y 27-31; o (iii) todas las SEQ ID NO: 18-21 y 24-31.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de durvalumab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 46. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 47. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, o tanto la SEQ ID NO: 46 como la 47. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 46-47.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de avelumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 30-32, (ii) todas las SEQ ID NO: 33-35, o (iii) todas las SEQ ID NO: 30-35. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 30-35.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de avelumab comprende además las regiones armazón de avelumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de avelumab comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 30-32 y 36-39, (ii) todas las SEQ ID NO: 33-35 y 40-43; o (iii) todas las SEQ ID NO: 30-35 y 36-43.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de avelumab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 48. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 49. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, o tanto la SEQ ID NO: 48 como la 49. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 48-49.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que reconoce específicamente y se une a HER2 (SEQ ID NO: 50). La construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una o más regiones variables (p. ej., dos regiones variables) de un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo anti-HER2, comprendiendo cada región variable una CDR1, una CDR2 y una CDR3.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que

comprende las regiones CDR de trastuzumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 51-53, (ii) todas las SEQ ID NO: 54-56, o (iii) todas las SEQ ID NO: 51-56. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 51-56.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de trastuzumab comprende además las regiones armazón del trastuzumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR del trastuzumab comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 51-53 y 57-60, (ii) todas las SEQ ID NO: 54-56 y 61-64; o (iii) todas las SEQ ID NO: 57-59 y 65-68.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de trastuzumab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 65. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 66. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, o tanto la SEQ ID NO: 65 como la 66. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 65-66.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de pertuzumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 67-69, (ii) todas las SEQ ID NO: 70-72 o (iii) todas las SEQ ID NO: 67-72. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 67-72.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de pertuzumab comprende además las regiones armazón de pertuzumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de pertuzumab comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 67-69 y 73-76, (ii) todas las SEQ ID NO: 70-72 y 77-80; o (iii) todas las SEQ ID NO: 67-72 y 73-80.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de pertuzumab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 81. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 82. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82, o tanto la SEQ ID NO: 81 como la 82. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 81-82.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que reconoce específicamente y se une a CEA (SEQ ID NO: 83). La construcción de anticuerpo o dominio de unión a

antígeno puede comprender una o más regiones variables (p. ej., dos regiones variables) de un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo anti-CEA, comprendiendo cada región variable una CDR1, una CDR2 y una CDR3.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de labetuzumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 84-86, (ii) todas las SEQ ID NO: 87-89, o (iii) todas las SEQ ID NO: 84-89. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 84-89.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de labetuzumab comprende además las regiones armazón de labetuzumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de labetuzumab comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 84-86 y 90-93, (ii) todas las SEQ ID NO: 87-89 y 94-97; o (iii) todas las SEQ ID NO: 84-89 y 90-97.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de labetuzumab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 98. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 99. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, o tanto la SEQ ID NO: 98 como la 99. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 98-99.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de PR1A3. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 100-102, (ii) todas las SEQ ID NO: 103-105 o (iii) todas las SEQ ID NO: 100-105. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 100-105.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de PR1A3 comprende además las regiones armazón de PR1A3. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de PR1A3 comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 108 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 109 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 110 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 100-102 y 106-109, (ii) todas las SEQ ID NO: 103-105 y 110-113; o (iii) todas las SEQ ID NO: 100-103 y 106-113.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de PR1A3. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 114. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 115. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, o tanto la SEQ ID NO: 114 como la 115. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ

ID NO: 114-115.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de MFE-23. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 116 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 116-118, (ii) todas las SEQ ID NO: 119-121, o (iii) todas las SEQ ID NO: 116-121. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 116-121.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de MFE-23 comprende además las regiones armazón de MFE-23. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de MFE-23 comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 116-118 y 122-125, (ii) todas las SEQ ID NO: 119-121 y 126-129; o (iii) todas las SEQ ID NO: 116-121 y 122-129.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de MFE-23. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 130. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 131. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, o tanto la SEQ ID NO: 130 como 131. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 130-131.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de SM3E. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 132-134, (ii) todas las SEQ ID NO: 135-137, o (iii) todas las SEQ ID NO: 132-137. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 132-137.

En una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de SM3E comprende además las regiones armazón de SM3E. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR de SM3E comprende además la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138 (región armazón ("FR") 1 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 (FR2 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140 (FR3 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141 (FR4 de la primera región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142 (FR1 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143 (FR2 de la segunda región variable), la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 (FR3 de la segunda región variable) y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 (FR4 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 132-134 y 138-53, (ii) todas las SEQ ID NO: 135-137 y 142-144; o (iii) todas las SEQ ID NO: 132-137 y 138-144.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables de SM3E. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 146. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 147. Por consiguiente, en una realización de la invención, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende las SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147 o tanto la SEQ ID NO: 146 como la 147. Preferiblemente, el polipéptido comprende ambas SEQ ID NO: 146-147.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR del anticuerpo anti-EGFR cetuximab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 148-150, (ii) todas las SEQ ID NO: 151-153, o (iii) todas las SEQ ID NO: 148-153. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 148-153.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR del anticuerpo anti-EGFR panitumumab. En este sentido, el anticuerpo puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno pueden comprender (i) todas las SEQ ID NO: 154-156, (ii) todas las SEQ ID NO: 157-159, o (iii) todas las SEQ ID NO: 154-159. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 154-159.

Una realización de la invención proporciona la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende las regiones CDR del anticuerpo anti-EGFR necitumumab. En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender una primera región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 (CDR1 de la primera región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161 (CDR2 de la primera región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 (CDR3 de la primera región variable) y una segunda región variable que comprende una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 163 (CDR1 de la segunda región variable), una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164 (CDR2 de la segunda región variable) y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 165 (CDR3 de la segunda región variable). En este sentido, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno puede comprender (i) todas las SEQ ID NO: 160-162, (ii) todas las SEQ ID NO: 163-165, o (iii) todas las SEQ ID NO: 160-165. Preferiblemente, la construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno comprende todas las SEQ ID NO: 160-165.

Una realización de la invención proporciona una construcción de anticuerpo o dominio de unión a antígeno que comprende una o ambas regiones variables del anticuerpo anti-EGFR cetuximab. En este sentido, la primera región variable puede comprender la SEQ ID NO: 166. La segunda región variable puede comprender la SEQ ID NO: 167. Por consiguiente, en una realización de la invención, el anticuerpo comprende la SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, o tanto la SEQ ID NO: 166 como la 167. Preferiblemente, el anticuerpo comprende ambas SEQ ID NO: 166-167.

Además de los anticuerpos, se pueden usar andamios proteicos alternativos como parte de los inmunoconjugados. La expresión "andamio proteico alternativo" se refiere a una proteína o péptido no derivado de inmunoglobulina. Tales proteínas y péptidos son generalmente susceptibles de modificación genética y pueden diseñarse para conferir mono-especificidad contra un antígeno dado, bio-especificidad o multi-especificidad. La modificación genética de un andamio proteico alternativo puede realizarse usando varios enfoques. Se puede usar un enfoque de injerto de bucle donde secuencias de especificidad conocida se injertan en un bucle variable de un andamio. La aleatorización y mutagénesis de secuencia pueden usarse para desarrollar una biblioteca de mutantes, que se pueden cribar usando diversas plataformas de presentación (p. ej., presentación en fagos) para identificar un nuevo ligador. La mutagénesis específica de sitio también se puede usar como parte de un enfoque similar. Los andamios proteicos alternativos existen en una variedad de tamaños, que varían de péptidos pequeños con estructura secundaria mínima a proteínas grandes de tamaño similar a un anticuerpo de tamaño completo. Los ejemplos de andamios incluyen, pero no se limitan a, miniproteínas con nudos de cistina (también conocidas como estructuras de nudo (*knottins*)), miniproteínas con nudos de cistina cíclicas (también conocidas como ciclótidos), avímeros, anticuerpos, el décimo dominio de tipo III de fibronectina humana, DARPinas (repeticiones de anquirina diseñadas) y anticalinas (también conocidas como lipocalinas). Los ligandos de origen natural con especificidad conocida también pueden modificarse genéticamente para conferir especificidad novedosa contra una diana dada. Los ejemplos de ligandos de origen natural que pueden modificarse genéticamente incluyen el ligando de EGF y el ligando de VEGF. Las proteínas modificadas genéticamente pueden producirse como proteínas monoméricas o como multímeros, dependiendo de la estrategia de unión y especificidades deseadas. Pueden usarse estrategias de ingeniería de proteínas para fusionar andamios proteicos alternativos a dominios Fc.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un receptor acoplado a FcR γ . En algunas realizaciones, el receptor acoplado a FcR γ se selecciona del grupo que consiste en GP6 (GPVI), LILRA1 (CD85I), LILRA2 (CD85H, ILT1), LILRA4 (CD85G, ILT7), LILRA5 (CD85F, ILT11), LILRA6 (CD85b, ILT8), LILRB1, NCR1 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD337, NKp30), OSCAR y TARM1.

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un receptor acoplado a DAP12. En algunas realizaciones, el receptor acoplado a DAP12 se selecciona del grupo que consiste en CD300C, CD300E, CD300LB (CD300B), CD300LD (CD300D), KIR2DL4 (CD158D), KIR2DS, KLRC2 (CD159C, NKG2C), KLRK1 (CD314, NKG2D), NCR2 (CD336, NKp44), PILRB, SIGLEC1 (CD169, SN), SIGLEC5, SIGLEC6, SIGLEC7, SIGLEC8, SIGLEC9, SIGLEC10, SIGLEC11, SIGLEC12, SIGLEC14, SIGLEC15 (CD33L3), SIGLEC16, SIRPB1 (CD172B), TREM1 (CD354) y TREM2.

10 En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un receptor que porta hemiTAM. En algunas realizaciones, el receptor que porta hemiTAM es KLRF1 (NKp80).

En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de unirse a una o más dianas seleccionadas de CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (Mincle), CLEC6A (Dectina-2), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNDR-1) y CLEC7A (Dectina-1). En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de unirse a CLEC6A (Dectina-2) o CLEC5A. En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de unirse a CLEC6A (Dectina-2).

15

En algunas realizaciones, el anticuerpo es capaz de unirse a una o más dianas seleccionadas de (p. ej., se une específicamente a una diana seleccionada de): ATP5I (Q06185), OAT (P29758), AIFM1 (Q9Z0X1), AOFA (Q64133), MTDC (P18155), CMC1 (Q8BH59), PREP (Q8K411), YMEL1 (088967), LPPRC (Q6PB66), LONM (Q8CGK3), ACON (Q99K10), ODO1 (Q60597), IDHP (P54071), ALDH2 (P47738), ATPB (P56480), AATM (P05202), TMM93 (Q9CQW0), ERG13 (Q9CQE7), RTN4 (Q99P72), CL041 (Q8BQR4), ERLN2 (Q8BFZ9), TERA (Q01853), DAD1 (P61804), CALX (P35564), CALU (035887), VAPA (Q9WV55), MOGS (Q80UM7), GANAB (Q8BHN3), ERO1A (Q8R180), UGGG1 (Q6P5E4), P4HA1 (Q60715), HYEP (Q9D379), CALR (P14211), AT2A2 (055143), PDIA4 (P08003), PDIA1 (P09103), PDIA3 (P27773), PDIA6 (Q922R8), CLH (Q68FD5), PPIB (P24369), TCGP (P80318), MOT4 (P57787), NICA (P57716), BASI (P18572), VAPA (Q9WV55), ENV2 (P11370), VAT1 (Q62465), 4F2 (P10852), ENOA (P17182), ILK (055222), GPNMB (Q99P91), ENV1 (P10404), ERO1A (Q8R180), CLH (Q68FD5), DSG1A (Q61495), AT1A1 (Q8VDN2), HYOU1 (Q9JKR6), TRAP1 (Q9CQN1), GRP75 (P38647), ENPL (P08113), CH60 (P63038) y CH10 (Q64433). En la lista precedente, los números de acceso se muestran entre paréntesis.

20

25

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un antígeno seleccionado de CCR8, CDH1, CD19, CD20, CD29, CD30, CD38, CD40, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, EGFR, HER2, SLAMF7 y gp75. En algunas realizaciones, el antígeno se selecciona de CCR8, CD19, CD20, CD47, EpCAM, MUC1, MUC16, EGFR y HER2. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un antígeno seleccionado del antígeno Tn y el antígeno Thomsen-Friedenreich.

30

En algunas realizaciones, el anticuerpo o la proteína de fusión Fc se selecciona de: abagovomab, abatacept (también conocido como ORENCIA[™]), abciximab (también conocido como REOPRO[™], Fab c7E3), adalimumab (también conocido como HUMIRA[™]), adecatumumab, alemtuzumab (también conocido como CAMPATH[™], MabCampath o Campath-1H), altumomab, afelimomab, anatumomab mafenatox, anatumumab, anrukizumab, apolizumab, arcitumomab, aselizumab, atlizumab, atorlimumab, bapineuzumab, basiliximab (también conocido como SIMULECT[™]), baviximab, bectumomab (también conocido como LYMPHOSCAN[™]), belimumab (también conocido como LYMPHO-STAT-B[™]), bertilimumab, besilesomab, bevacizumab (también conocido como AVASTIN[™]), biciromab, bralobarbital, bivatumab mertansina, campath, canakinumab (también conocido como ACZ885), cantuzumab mertansina, capromab (también conocido como PROSTASCINT[™]), catumaxomab (también conocido como REMOVAB[™]), cedelizumab (también conocido como CIMZIA[™]), certolizumab pegol, cetuximab (también conocido como ERBITUX[™]), clenoliximab, dacetuzumab, dacliximab, daclizumab (también conocido como ZENAPAX[™]), denosumab (también conocido como AMG 162), detumomab, dorlimomab aritox, dorlixizumab, duntumomab, durimulomab, durmulumab, ecomeximab, eculizumab (también conocido como SOLIRIS[™]), edobacomab, edrecolomab (también conocido como Mab17-1A, PANOREX[™]), efalizumab (también conocido como RAPTIVA[™]), efungumab (también conocido como MYCOGRAB[™]), elotuzumab, elsilimomab, enlimomab pegol, epitumomab cituxetan, efalizumab, epitumomab, epratuzumab, erlizumab, ertumaxomab (también conocido como REXOMUN[™]), etanercept (también conocido como ENBREL[™]), etaracizumab (también conocido como etaratuzumab, Vitaxin[™], ABEGRIN[™]), exbivirumab, fanolesomab (también conocido como NEUTROSPEC[™]), faralimomab, felvizumab, fontolizumab (también conocido como HUZAF[™]), galiximab, gantenerumab, gavilimomab (también conocido como ABXCBL[™]), gemtuzumab ozogamicina (también conocida como MYLOTARG[™]), golimumab (también conocido como CNTO 148), gomiliximab, ibalizumab (también conocido como TNX-355), ibritumomab tiuxetan (también conocido como ZEVALIN[™]), igovomab, imciromab, infliximab (también conocido como REMICADE[™]), inolimomab, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab (también conocido como MDX-010, MDX-101), iratumumab, keliximab, labetuzumab, lemalesomab, lebrilizumab, lerdelimomab, lexatumumab (también conocido como HGS-ETR2, ETR2-ST01), lexitumomab, libivirumab, lintuzumab, lucatumumab, lumiliximab, mapatumumab (también conocido como HGSETR1, TRM-1), maslimomab, matuzumab (también conocido como EMD72000), mepolizumab (también conocido como BOSATRIA[™]), metelimomab, milatuzumab, minretumomab, mitumomab, morolimomab, motavizumab (también conocido como NUMAX[™]), muromonab (también conocido como OKT3), nacolomab tafenatox, naptumomab estafenatox, natalizumab (también conocido como TYSABRI[™], ANTEGREN[™]), nebacumab, nerelimomab,

35

40

45

50

55

60

5 nimotuzumab (también conocido como THERACIM hR3™, THERA-CIM-hR3™, THERALOC™), nofetumomab
 merpentan (también conocido como VERLUMA™), obinutuzumab, ocrelizumab, odulimomab, ofatumumab,
 10 omalizumab (también conocido como XOLAIR™), oregovomab (también conocido como OVAREX™), otelixizumab,
 pagibaximab palivizumab (también conocido como SYNAGIS™), panitumumab (también conocido como ABX-EGF,
 VECTIBIX™), pascolizumab, pemtumomab (también conocido como THERAGYN™), pertuzumab (también conocido
 como 2C4, OMNITARG™), pexelizumab, pintumomab, priliximab, primumab, ranibizumab (también conocido como
 LUCENTIS™), raxibacumab, regavirumab, reslizumab, rituximab (también conocido como RITUXAN™, MabTHERA™),
 15 rovelizumab, ruplizumab, satumomab, sevirumab, sibrotuzumab, siplizumab (también conocido como MEDI-507),
 sontuzumab, stamulumab (también conocido como MYO-029), sulesomab (también conocido como LEUKOSCAN™),
 tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, talizumab, taplitumomab paptox, tefibazumab (también conocido como
 AUREXIS™), telimomab aritox, teneliximab, teplizumab, ticilimumab, tocilizumab (también conocido como
 ACTEMRA™), toralizumab, tositumomab, trastuzumab (también conocido como HERCEPTIN™), tremelimumab
 (también conocido como CP-675,206), tucotuzumab celmoleucina, tuvirumab, urtoxazumab, ustekinumab (también
 conocido como CNTO 1275), vavaliximab, veltuzumab, vepalimomab, visilizumab (también conocido como
 20 NUVION™), volociximab (también conocido como M200), votumumab (también conocido como HUMASPECT™),
 zalutumumab, zanolimumab (también conocido como HuMAX-CD4), ziralimumab, zolimomab aritox, daratumumab,
 olaratumab, brentuximab vedotina, afibercept, abatacept, belatacept, afibercept, etanercept, romiplostim, SBT-040
 (secuencias mencionadas en el documento de EE. UU. 2017/0158772. En algunas realizaciones, el anticuerpo se
 selecciona del grupo que consiste en olaratumab, obinutuzumab, trastuzumab, cetuximab, rituximab, pertuzumab,
 bevacizumab, daratumumab, etanercept, pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab, ipilimumab, panitumumab,
 zalutumumab, nimotuzumab, matuzumab y elotuzumab. En ciertas realizaciones, el anticuerpo es trastuzumab.

Inhibidores de puntos de control

25 Se contempla cualquier inhibidor de puntos de control inmunitario adecuado para usar con los inmunocombinados
 descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, el inhibidor de puntos de control inmunitario reduce la
 expresión o actividad de una o más proteínas de puntos de control inmunitario. En otra realización, el inhibidor de
 puntos de control inmunitario reduce la interacción entre una o más proteínas de puntos de control inmunitario y sus
 ligandos. Los ácidos nucleicos inhibidores que disminuyen la expresión y/o actividad de moléculas de puntos de control
 inmunitario también pueden usarse en los métodos descritos en el presente documento.

30 La mayoría de los anticuerpos de puntos de control se diseñan para no tener función efectora ya que no están tratando
 de matar células, sino más bien de bloquear la señalización. Los inmunocombinados de la invención pueden añadir de
 nuevo la "funcionalidad efectora" necesaria para activar la inmunidad mieloide. Por lo tanto, para la mayoría de los
 inhibidores de anticuerpos de puntos de control, este descubrimiento será crítico.

35 En algunas realizaciones, el inhibidor de puntos de control inmunitario es el antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos
 (CTLA4, también conocido como CD152), inmunorreceptor de células T con dominios de Ig e ITIM (TIGIT), proteína
 relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides (GITR, también conocida como TNFRSF18), coestimulador de
 células T inducible (ICOS, también conocido como CD278), CD96, receptor relacionado con poliovirus 2 (PVRL2,
 también conocido como CD112R, proteína de muerte celular programada 1 (PD-1, también conocida como CD279),
 40 ligando 1 de muerte celular programada 1 (PD-L1, también conocido como B7-H3 y CD274), ligando 2 de muerte
 celular programada (PD-L2, también conocido como B7-DC y CD273), gen 3 de activación de linfocitos (LAG-3,
 también conocido como CD223), B7-H4, receptor de inmunoglobulina citolítica (KIR), miembro 4 de la superfamilia de
 receptores de factor de necrosis tumoral (TNFRSF4, también conocido como OX40 y CD134) y su ligando OX40L
 (CD252), indolamina 2,3-dioxigenasa 1 (IDO-1), indolamina 2,3-dioxigenasa 2 (IDO-2), molécula de adhesión celular
 45 1 relacionada con antígeno carcinoembrionario (CEACAM1), atenuador de linfocitos B y T (BTLA, también conocido
 como CD272), proteína 3 de membrana de células T (TIM3), el receptor A2A de adenosina (A2Ar) y supresor de Ig de
 dominio V de activación de células T (proteína VISTA). En algunas realizaciones, el inhibidor de puntos de control
 inmunitario es un inhibidor de CTLA4, PD-1 o PD-L1.

50 En algunas realizaciones, el anticuerpo se selecciona de ipilimumab (también conocido como YERVOY™
 pembrolizumab (también conocido como KEYTRUDA™), nivolumab (también conocido como OPDIVO™), atezolizumab
 (también conocido como TECENTRIG™), avelumab (también conocido como BAVENCIO™), y durvalumab (también
 conocido como IMFINZI™). En algunas realizaciones, el anticuerpo se selecciona de ipilimumab (también conocido
 como YERVOY™), pembrolizumab (también conocido como KEYTRUDA™), nivolumab (también conocido como
 OPDIVO™) y atezolizumab (también conocido como TECENTRIG™).

Espaciador

55 Los restos adyuvantes y núcleos de adyuvantes en los conjugados pueden unirse covalentemente a los anticuerpos
 usando diversos procedimientos químicos para la modificación de proteínas, y los conectores o espaciadores descritos
 anteriormente resultan de la reacción de grupos funcionales de proteínas (es decir, cadenas laterales de aminoácidos),
 con reactivos que tienen grupos conectores reactivos. Se conoce en la técnica una amplia variedad de dichos
 reactivos. Los ejemplos de dichos reactivos incluyen, pero no se limitan a, ésteres de N-hidroxisuccinimidilo (NHS) y
 60 ésteres de N-hidroxisulfosuccinimidilo (sulfo-NHS) (reactivos con amina); carbodiimidias (reactivos con amina y
 carboxilo); hidroximetil fosfinas (reactivas con amina); maleimidias (reactivas con tiol); acetamidias halogenadas tales

como *N*-yodoacetamidas (reactivas con tiol); aril-azidas (reactivas con amina primaria); aril-azidas fluoradas (reactivas por inserción en carbono-hidrógeno (C-H)); ésteres de pentafluorofenilo (PFP) (reactivos con amina); ésteres de tetrafluorofenilo (TFP) (reactivos con amina); imidoésteres (reactivos con amina); isocianatos (reactivos con hidroxilo); vinilsulfonas (reactivas con tiol, amina e hidroxilo); disulfuros de piridilo (reactivos con tiol); y derivados de benzofenona (reactivos por inserción en enlaces C-H). Otros reactivos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, 2ª edición, Academic Press, 2008.

El conector puede tener cualquier longitud adecuada de manera que cuando el conector se une covalentemente a la construcción de anticuerpo y al núcleo de adyuvante, se mantiene la función de la construcción de anticuerpo y el resto adyuvante. El conector puede tener una longitud de aproximadamente 3 Å o más, por ejemplo, aproximadamente 4 Å o más, aproximadamente 5 Å o más, aproximadamente 6 Å o más, aproximadamente 7 Å o más, aproximadamente 8 Å o más, aproximadamente 9 Å o más, aproximadamente 10 Å o más, o aproximadamente 20 Å o más. Alternativamente, o además de, el conector puede tener una longitud de aproximadamente 100 Å o menos, por ejemplo, aproximadamente 90 Å o menos, aproximadamente 80 Å o menos, aproximadamente 70 Å o menos, aproximadamente 60 Å o menos, aproximadamente 50 Å o menos, aproximadamente 45 Å o menos, aproximadamente 40 Å o menos, aproximadamente 35 Å o menos, aproximadamente 30 Å o menos, aproximadamente 25 Å o menos, aproximadamente 20 Å o menos, o aproximadamente 15 Å o menos. Por lo tanto, el conector puede tener una longitud delimitada por dos cualesquiera de los puntos finales mencionados anteriormente. El conector puede tener una longitud de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 100 Å, por ejemplo, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 90 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 80 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 70 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 60 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 50 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 45 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 40 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 35 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 30 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 25 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 20 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 15 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 50 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 25 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 20 Å, de aproximadamente 10 Å a aproximadamente 50 Å, de aproximadamente 10 Å a aproximadamente 20 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 30 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 15 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 100 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 90 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 80 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 70 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 60 Å, o de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 50 Å. En ciertas realizaciones, el conector tiene una longitud de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 100 Å.

El espaciador puede tener cualquier longitud adecuada de manera que cuando el espaciador se une covalentemente a la construcción de anticuerpo y el resto adyuvante, se mantiene la función de la construcción de anticuerpo y el resto adyuvante. El espaciador puede tener una longitud de aproximadamente 3 Å o más, por ejemplo, aproximadamente 4 Å o más, aproximadamente 5 Å o más, aproximadamente 6 Å o más, aproximadamente 7 Å o más, aproximadamente 8 Å o más, aproximadamente 9 Å o más, aproximadamente 10 Å o más, o aproximadamente 20 Å o más. Alternativamente, o además de, el espaciador puede tener una longitud de aproximadamente 80 Å o menos, por ejemplo, aproximadamente 70 Å o menos, aproximadamente 60 Å o menos, aproximadamente 50 Å o menos, aproximadamente 45 Å o menos, aproximadamente 40 Å o menos, aproximadamente 35 Å o menos, aproximadamente 30 Å o menos, aproximadamente 25 Å o menos, aproximadamente 20 Å o menos, o aproximadamente 15 Å o menos. Por lo tanto, el espaciador puede tener una longitud delimitada por dos cualesquiera de los puntos finales mencionados anteriormente. El espaciador puede tener una longitud de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 80 Å, por ejemplo, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 70 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 60 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 50 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 45 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 40 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 35 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 30 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 25 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 20 Å, de aproximadamente 3 Å a aproximadamente 15 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 50 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 25 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 20 Å, de aproximadamente 10 Å a aproximadamente 50 Å, de aproximadamente 10 Å a aproximadamente 20 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 30 Å, de aproximadamente 5 Å a aproximadamente 15 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 80 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 70 Å, de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 60 Å, o de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 50 Å. En ciertas realizaciones, el espaciador tiene una longitud de aproximadamente 20 Å a aproximadamente 80 Å.

En algunas realizaciones, el conector no es escindible en condiciones fisiológicas. Como se usa en el presente documento, la expresión "condiciones fisiológicas" se refiere a un intervalo de temperatura de 20-40 grados Celsius, presión atmosférica (es decir, 1 atm), un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8, y la una o más enzimas fisiológicas, proteasas, ácidos y bases.

En algunas realizaciones, el conector es escindible en condiciones fisiológicas. Por ejemplo, el conector puede ser escindido por un proceso enzimático o un proceso metabólico.

El espaciador puede ser cualquier resto de unión divalente orgánico adecuado de manera que se pueda lograr la

longitud deseada del espaciador y/o el conector.

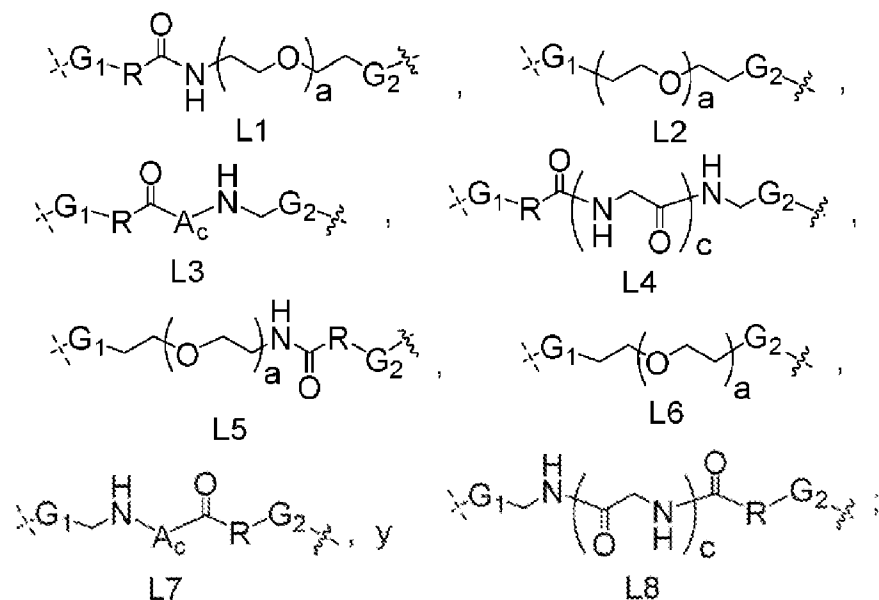
5 En algunas realizaciones, el espaciador es un resto de unión divalente que comprende un grupo etilenglicol o un resto de glicina. El espaciador está unido preferiblemente al resto adyuvante a través de un enlace amida, un enlace sencillo C-N, un enlace sencillo C-O o un enlace sencillo C-C, y al anticuerpo a través de un enlace amida o un enlace sencillo C-N. En algunas realizaciones, el espaciador está unido a un grupo nitrógeno del resto adyuvante y un grupo nitrógeno del anticuerpo. En dichas realizaciones, el espaciador está unido a grupos nitrógeno adyacentes a través de enlaces amida, enlaces sencillos C-N o una combinación de los mismos.

10 En algunas realizaciones, el espaciador comprende un grupo poli(etilenglicol). En ciertas realizaciones, el espaciador comprende al menos 2 grupos etilenglicol (p. ej., al menos 3 grupos etilenglicol, al menos 4 grupos etilenglicol, al menos 5 grupos etilenglicol, al menos 6 grupos etilenglicol, al menos 7 grupos etilenglicol, al menos 8 grupos etilenglicol, al menos 9 grupos etilenglicol, al menos 10 grupos etilenglicol, al menos 11 grupos etilenglicol, al menos 12 grupos etilenglicol, al menos 13 grupos etilenglicol, al menos 14 grupos etilenglicol, al menos 15 grupos etilenglicol, al menos 16 grupos etilenglicol, al menos 17 grupos etilenglicol, al menos 18 grupos etilenglicol, al menos 19 grupos etilenglicol, al menos 20 grupos etilenglicol, al menos 21 grupos etilenglicol, al menos 22 grupos etilenglicol, al menos 23 grupos etilenglicol, al menos 24 grupos etilenglicol o al menos 25 grupos etilenglicol. En ciertas realizaciones, el espaciador comprende un grupo di(etilenglicol), un grupo tri(etilenglicol) o un grupo tetra(etilenglicol), 5 grupos etilenglicol, 6 grupos etilenglicol, 8 grupos etilenglicol, 12 grupos etilenglicol, 24 grupos etilenglicol o 25 grupos etilenglicol.

20 En algunas realizaciones, el espaciador comprende un resto de glicina. En ciertas realizaciones, el espaciador comprende al menos 2 restos de glicina (p. ej., al menos 3 restos de glicina, al menos 4 restos de glicina, al menos 5 restos de glicina, al menos 6 restos de glicina, al menos 7 restos de glicina, al menos 8 restos de glicina, al menos 9 restos de glicina, al menos 10 restos de glicina, al menos 11 restos de glicina, al menos 12 restos de glicina, al menos 13 restos de glicina, al menos 14 restos de glicina, al menos 15 restos de glicina, al menos 16 restos de glicina, al menos 17 restos de glicina, al menos 18 restos de glicina, al menos 19 restos de glicina, al menos 20 restos de glicina, al menos 21 restos de glicina, al menos 22 restos de glicina, al menos 23 restos de glicina, al menos 24 restos de glicina o al menos 25 restos de glicina. En ciertas realizaciones, el espaciador comprende 2 restos de glicina, 3 restos de glicina, 4 restos de glicina, 5 restos de glicina, 6 restos de glicina, 8 restos de glicina, 12 restos de glicina, 24 restos de glicina o 25 restos de glicina.

En algunas realizaciones, el espaciador comprende además un grupo ciclohexileno divalente.

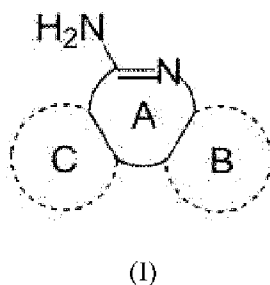
30 En algunas realizaciones, el espaciador se selecciona de:



35 en donde R está opcionalmente presente y es una cadena de alquilo, heteroalquilo, arilo o heteroarilo lineal o ramificada, cíclica o lineal, saturada o insaturada que comprende de 1 a 8 unidades de carbono; a es un número entero de 1 a 40; cada A se selecciona independientemente de cualquier aminoácido; el subíndice c es un número entero de 1 a 25; G₁ es CH₂, C=O, o un enlace, G₂ es CH₂, C=O, o un enlace, la línea discontinua ("---") representa el punto de unión al resto adyuvante; y la línea ondulada ("~~~~") representa el punto de unión al anticuerpo. En ciertas realizaciones, a es un número entero de 2 a 25. En ciertas realizaciones, c es un número entero de 2 a 8.

Adyuvantes

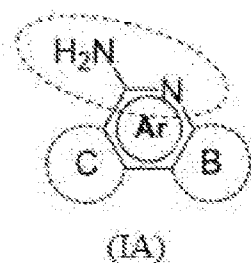
Generalmente, el resto adyuvante tiene una estructura de núcleo de adyuvante de Fórmula I:



5 en donde B y C están opcionalmente presentes, y A, B y C indican anillos de 5, 6, 7, 8 o 9 miembros, que comprenden
 10 opcionalmente dobles enlaces, que comprenden opcionalmente heteroátomos (p. ej., nitrógeno, oxígeno y/o azufre)
 además del resto de nitrógeno 2-amino, y opcionalmente sustituidos. Los dobles enlaces y heteroátomos dentro de la
 estructura de núcleo de la fórmula I (es decir, otros átomos alrededor del anillo aromático) no están particularmente
 limitados, siempre que el anillo A tenga el resto de nitrógeno 2-amino mostrado en la fórmula I. Por consiguiente, como
 se usa en el presente documento, la frase "núcleo de adyuvante" se refiere a un grupo de anillos condensados (es
 decir, 1, 2 o 3 anillos) que comprende un resto de nitrógeno 2-amino. En realizaciones preferidas, el anillo A indica un
 anillo cíclico aromático o no aromático que contiene 4, 5 o 6 átomos de carbono y al menos un átomo de nitrógeno (p.
 ej., un átomo de nitrógeno, dos átomos de nitrógeno o tres átomos de nitrógeno). La sustitución alrededor del núcleo
 del adyuvante no está particularmente limitada, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido.
 Sin desear estar limitados a ninguna teoría particular, se cree que el resto de nitrógeno 2-amino es importante para
 mantener la actividad del adyuvante.

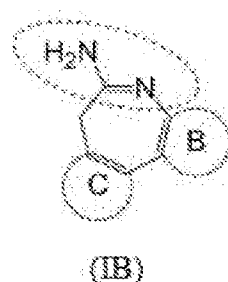
15 En algunas realizaciones, el resto adyuvante tiene una estructura del núcleo de adyuvante de fórmula I, en donde el
 anillo B está presente. En algunas realizaciones, el resto adyuvante tiene una estructura del núcleo de adyuvante de
 fórmula I, en donde el anillo C está presente. En ciertas realizaciones, el resto adyuvante tiene una estructura del
 núcleo de adyuvante de fórmula I, en donde el anillo B y el anillo C están presentes.

20 En ciertas realizaciones descritas en el presente documento, pero no según las reivindicaciones adjuntas, el resto
 adyuvante tiene un núcleo de adyuvante de fórmula IA:



25 en donde, Ar indica que el anillo es aromático, que comprende opcionalmente otros átomos de nitrógeno y está
 opcionalmente sustituido, B y C están opcionalmente presentes, y B, y C indican anillos de 5, 6, 7, 8 o 9 miembros,
 que comprenden opcionalmente dobles enlaces, que comprenden opcionalmente heteroátomos (p. ej., nitrógeno,
 oxígeno y/o azufre) además del resto de nitrógeno 2-amino, y opcionalmente sustituidos. Los dobles enlaces y
 heteroátomos dentro de la estructura del núcleo dentro de la estructura del núcleo de fórmula IA (es decir, otros átomos
 alrededor del anillo) no están particularmente limitados, siempre que se mantenga que el anillo tiene el resto de
 nitrógeno 2-amino, que está marcado por el óvalo discontinuo.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante tiene un núcleo de adyuvante de fórmula IB:



30 en donde B y C están opcionalmente presentes, y B, y C indican anillos de 5, 6, 7, 8 o 9 miembros, que comprenden

opcionalmente dobles enlaces, que comprenden opcionalmente heteroátomos (p. ej., nitrógeno, oxígeno y/o azufre) además del resto de nitrógeno 2-amino, y opcionalmente sustituidos. Los dobles enlaces y heteroátomos dentro de la estructura de núcleo dentro de la estructura de núcleo de fórmula IB (es decir, otros átomos alrededor del anillo) no están particularmente limitados, siempre que se mantenga que el anillo tiene el resto de nitrógeno 2-amino, que está marcado por el óvalo discontinuo.

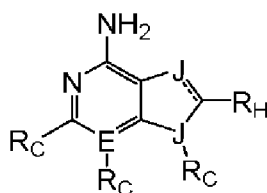
En algunas realizaciones, los inmunocombinados de la invención comprenden un resto adyuvante con un núcleo de adyuvante que comprende un resto de nitrógeno 2-amino con un átomo de nitrógeno colgante y un punto de unión de un conector al núcleo de adyuvante, en donde la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del conector es mayor de aproximadamente 5 Å (p. ej., mayor de aproximadamente 5.25 Å, mayor de aproximadamente 5.5 Å, mayor de aproximadamente 5.75 Å o mayor de aproximadamente 6 Å). En ciertas realizaciones, la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del conector es mayor de aproximadamente 6 Å. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino forma un enlace de hidrógeno y/o un puente salino con un aminoácido en un lado del dominio de unión de un receptor de tipo toll opuesto a la abertura del dominio de unión. Por consiguiente, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino y el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante están típicamente en lados opuestos del resto adyuvante. La FIG. 1 muestra un resto adyuvante de ejemplo en relación con un dominio de unión de un TLR, en donde "▲" indica la distancia del resto de nitrógeno 2-amino al punto de unión del conector.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante comprende además un sustituyente hidrófobo ("R_H") con al menos 1 átomo de carbono (p. ej., al menos 2 átomos de carbono, al menos 3 átomos de carbono, al menos 4 átomos de carbono o al menos 6 átomos de carbono). El sustituyente hidrófobo puede ser cualquier alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo o combinación de los mismos, siempre que el sustituyente hidrófobo no contenga un sustituyente -NH₂, -OH o -SH. Además, es importante que el sustituyente hidrófobo no sea tan grande como para dar como resultado interacciones estéricas y/o electrónicas desfavorables. Por lo tanto, el sustituyente hidrófobo tendrá menos de 8 átomos distintos de hidrógeno (p. ej., carbono, oxígeno, nitrógeno, azufre, etc.).

Típicamente, cuando está presente, el sustituyente hidrófobo tendrá un punto de unión del sustituyente hidrófobo al núcleo del adyuvante que está a una distancia del átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino de menos de aproximadamente 6 Å (p. ej., menos de aproximadamente 5.75 Å, menos de aproximadamente 5.5 Å, menos de aproximadamente 5.25 Å o menos de aproximadamente 5 Å). En ciertas realizaciones, la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del sustituyente hidrófobo al núcleo del adyuvante es menor de aproximadamente 5 Å. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino forma un enlace de hidrógeno y/o un puente salino con un aminoácido en un lado del dominio de unión de un receptor de tipo toll en estrecha proximidad a una región del bolsillo hidrófobo. Por consiguiente, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino y el punto de unión del sustituyente hidrófobo al núcleo del adyuvante están típicamente muy próximos. La FIG. 1 muestra un resto adyuvante de ejemplo en relación con un dominio de unión de un TLR, en donde "▲" indica la distancia del resto de nitrógeno 2-amino al sustituyente hidrófobo.

El núcleo de adyuvante está unido a un conector en una posición que permite que el resto adyuvante mantenga su actividad adyuvante. Por consiguiente, el conector no puede estar unido al resto de nitrógeno 2-amino, ya que este resto químico debe permanecer no sustituido. Además, el resto adyuvante tiene una o más regiones de bolsillo hidrófobo ("R_H"), en donde el conector no puede estar unido al núcleo de adyuvante. Como se usa en el presente documento, la expresión "región de bolsillo hidrófobo" se refiere a una zona del resto adyuvante que reside en un bolsillo hidrófobo y/o interfiere con restos de aminoácidos del dominio de unión del respectivo receptor del resto adyuvante, como se determina por modelización teórica del dominio de unión al receptor. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que un conector unido en las posiciones designadas R_H da como resultado interacciones estéricas y/o electrónicas desfavorables, reduciendo así la actividad del adyuvante. Por consiguiente, el núcleo del adyuvante debe estar unido al conector en una ubicación específica ("R_C") para mantener la actividad del adyuvante.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj A:



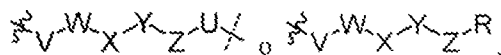
Adj A

en donde

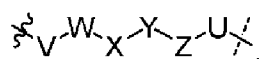
cada J es independientemente C, CH, CH₂, N, NH, O o S,

E es C, CH o N,

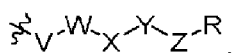
cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:



5 excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:



R_H es de la fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

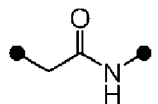
10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



20 U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

" --- " representa un enlace sencillo o un enlace doble,

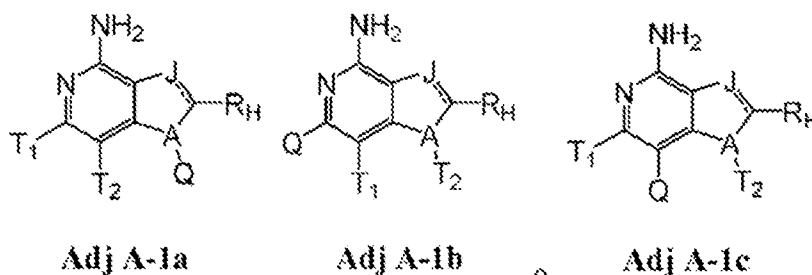
la línea ondulada (" --- ") representa un punto de unión de R_C y R_H,

25 el punto ("•") representa un punto de fijación de U, y

la línea discontinua (" --- ") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

30 Como se usa en el presente documento, el término "divalente" se refiere a un resto químico que es capaz de unirse a otros dos átomos, iguales o diferentes, en la misma o diferentes posiciones del resto químico, incluso si el uno de los otros átomos es hidrógeno. Por ejemplo, los grupos divalentes tienen dos puntos de conexión, iguales o diferentes, que pueden unirse a carbono, nitrógeno, oxígeno o hidrógeno, como se define por V, W, X, Y y Z.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



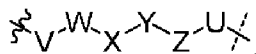
en donde

A es CH o N,

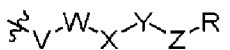
J es CH, CH₂, N, NH, O, o S,

Q es de fórmula:

5



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



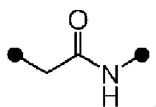
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

20 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

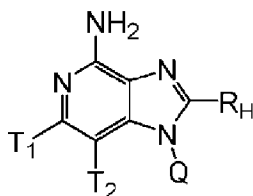
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de fijación de U, y

25 la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

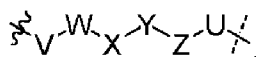
En algunos casos, el resto adyuvante no es de fórmula:



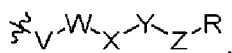
Adj A-1a-i

en donde

30 Q es de fórmula:



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



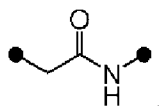
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

5 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

15 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

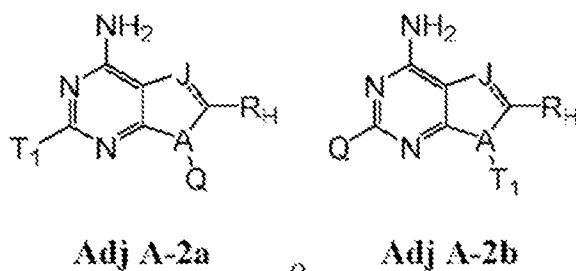
" --- " representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada (" $\overset{\text{Q}}{\text{---}}$ ") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

20 la línea discontinua (" --- ") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

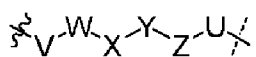


en donde

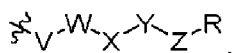
A es CH o N,

25 J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

Q es de fórmula:



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



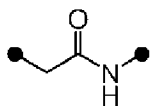
30 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

10 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

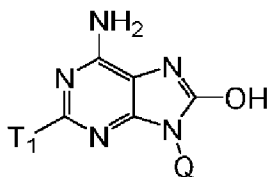
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁, y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

15 la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

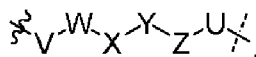
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante no es de fórmula:



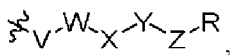
Adj A-2a-i ;

en donde

20 Q es de fórmula:



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



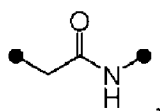
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

25 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

30 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

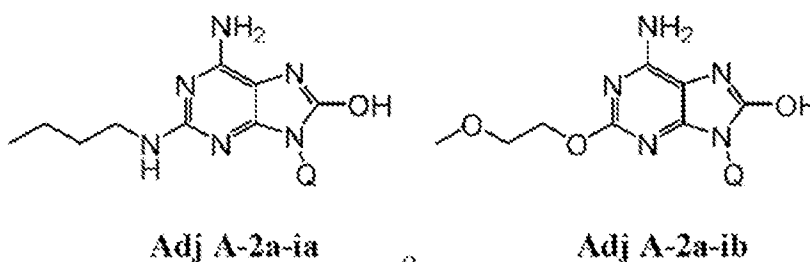
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

5 la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

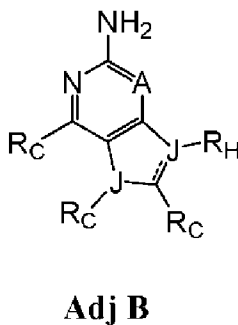
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante no es de fórmula:



10 En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj B:

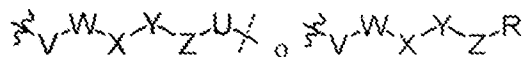


en donde

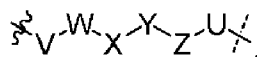
cada J es independientemente C, CH, CH₂, N, NH, O o S,

A es CH o N,

15 cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:

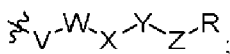


excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:



R_H está opcionalmente presente, es de fórmula:

20



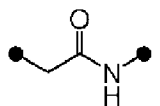
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

10 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

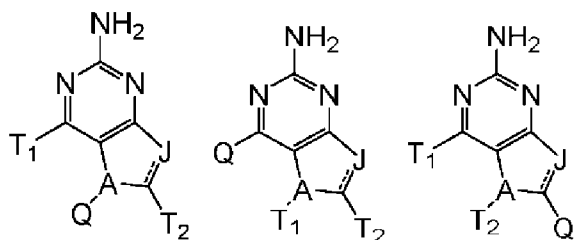
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("") representa un punto de unión de R_C y R_H,

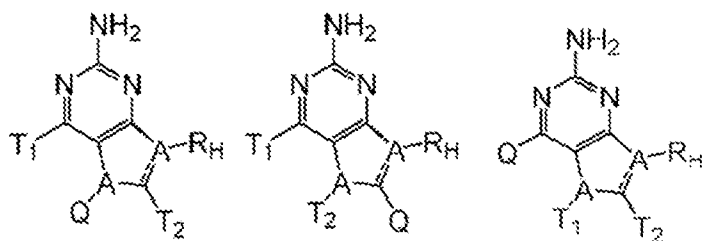
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

15 la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj B-1a , **Adj B-1b** , **Adj B-1c** ,



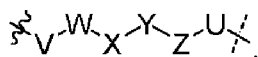
Adj B-1d , **Adj B-1e** , **Adj B-1f** ;

20 en donde

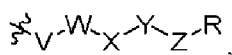
A es CH o N,

J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

Q es de fórmula:



25 T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



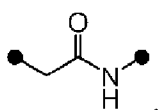
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

10 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

15 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

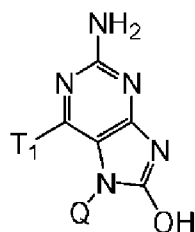
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

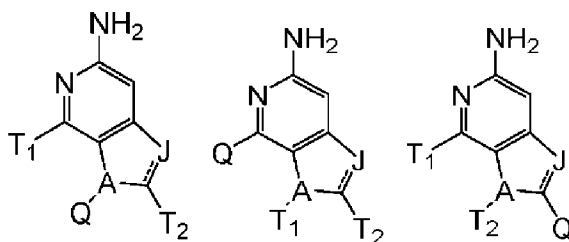
20 la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En algunos casos, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj B-1a-i

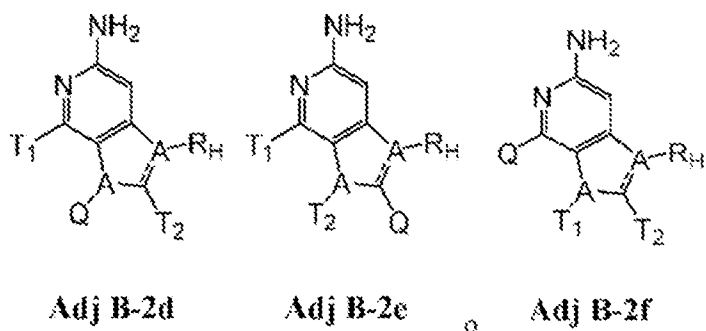
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj B-2a

Adj B-2b

Adj B-2c

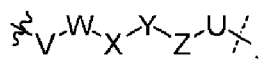


en donde

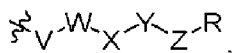
A es CH o N,

J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

5 Q es de fórmula:



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



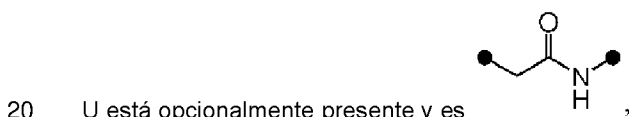
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,


15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,


cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,




cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

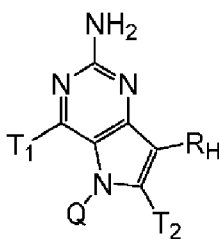
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("")" representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

25 el punto ("")" representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

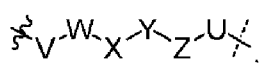
En algunas realizaciones, el resto adyuvante no tiene la fórmula:



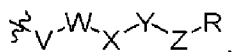
Adj B-3

en donde

Q es de fórmula:



5 T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



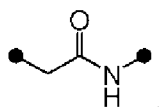
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

20 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

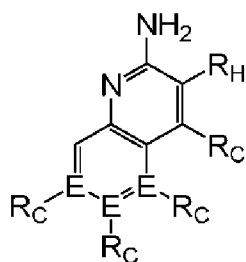
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

25 En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj C:

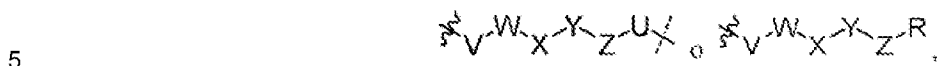


Adj C

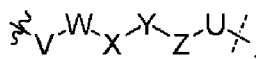
en donde

cada E es independientemente C, CH o N,

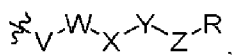
cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:



excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:



R_H es de la fórmula:



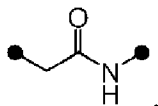
10 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C_1-C_8 divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C_1-C_8 divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

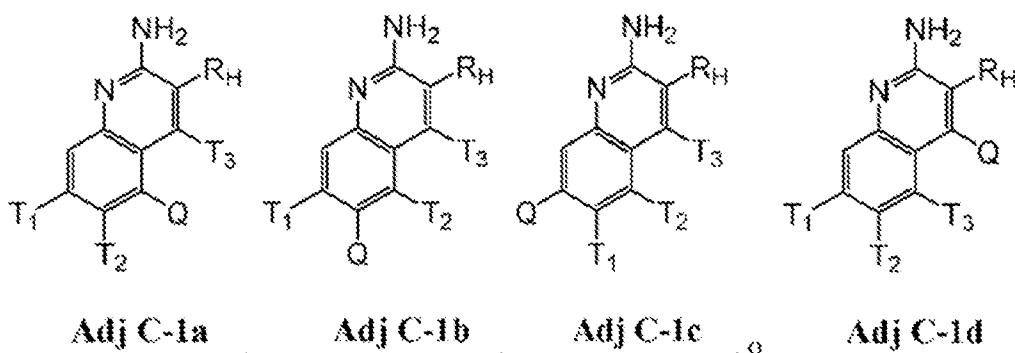
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C_1-C_4 lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de R_C y R_H ,

25 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

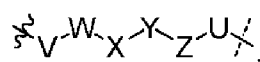
la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

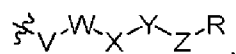


en donde

Q es de la fórmula:



5 T₁, T₂, T₃ y R_H son independientemente de fórmula:



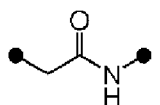
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

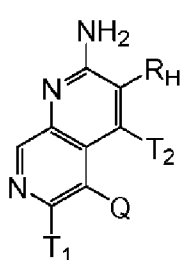
20 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂, T₃ y R_H,

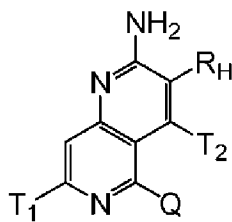
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

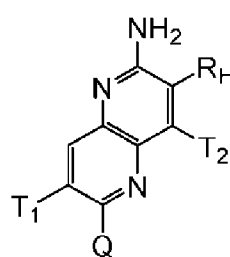
25 En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



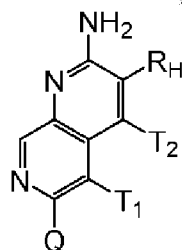
Adj C-2a



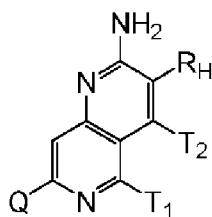
Adj C-2b



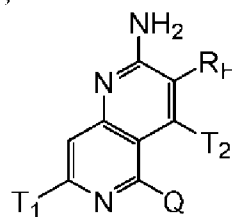
Adj C-2c



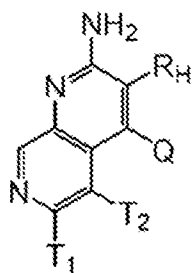
Adj C-2d



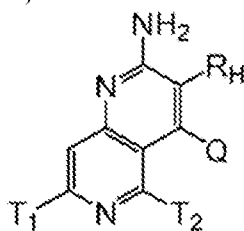
Adj C-2e



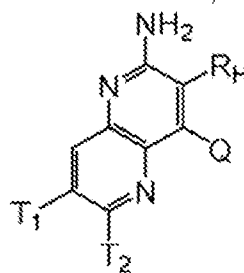
Adj C-2f



Adj C-2g



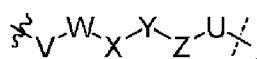
Adj C-2h



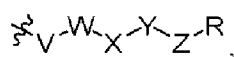
Adj C-2i

en donde

- 5 Q es de fórmula:



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



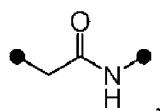
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

- 10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

- 15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

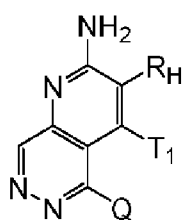
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₈ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

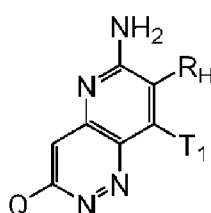
5 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

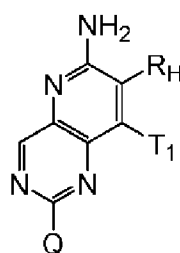
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



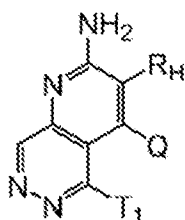
Adj C-3a



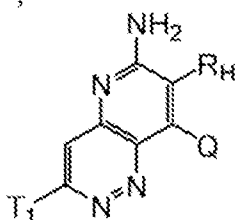
Adj C-3b



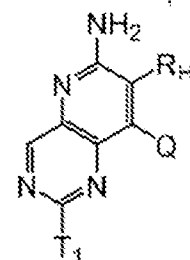
Adj C-3c



Adj C-3d



Adj C-3e

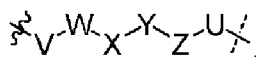


Adj C-3f

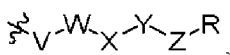
10

en donde

Q es de fórmula:



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



15

cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

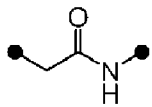
20

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

25

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

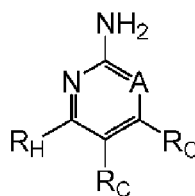
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj D:



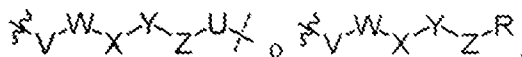
Adj D

10

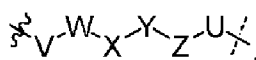
en donde

A es CH, o N,

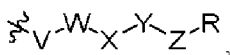
cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:



15 excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:



R_H es de fórmula:



en donde

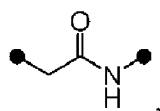
20 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

25 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

30 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

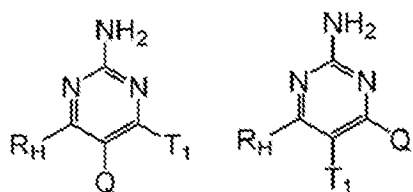
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de R_C y R_H,

5 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

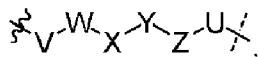
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



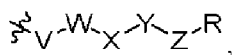
Adj D-1a Adj D-1b ;

10 en donde

Q es de fórmula:



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



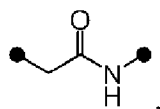
15 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

25 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

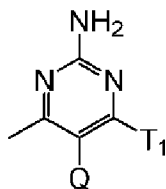
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

30 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

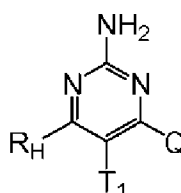
la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En algunos casos, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj D-1a-i

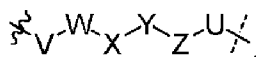
- 5 En ciertas realizaciones, el resto adyuvante no es de fórmula:



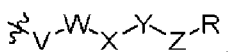
Adj D-1b-i

en donde

Q es de fórmula:



- 10 T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



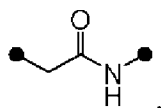
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

- 15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

- 20 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

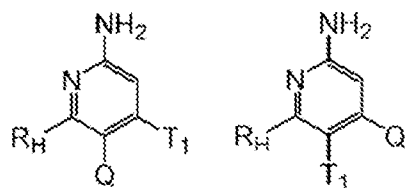
- 25 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

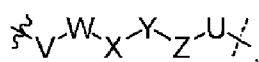
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



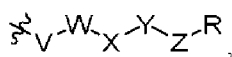
Adj D-2a Adj D-2b

en donde

5 Q es de fórmula:



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

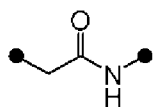
10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,

20 U está opcionalmente presente y es



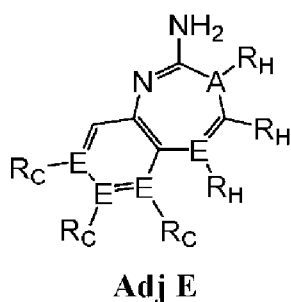
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

25 la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj E:

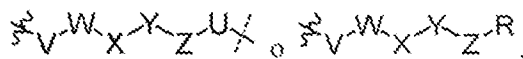


en donde

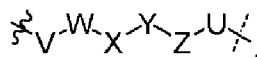
cada E es independientemente C, CH o N,

A es CH o N,

- 5 cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:

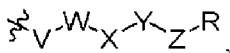


excepto que al menos un R_C está presente es de fórmula:



cada R_H está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:

10



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

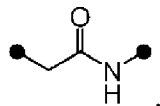
15

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

20

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

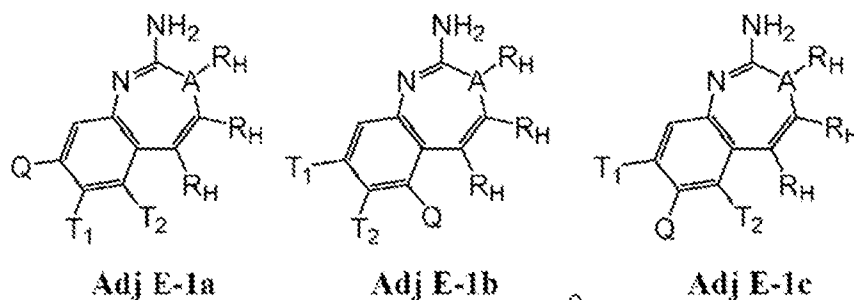
25

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de R_C y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

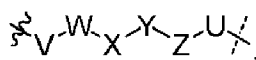


en donde

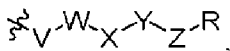
A es CH o N,

Q es de fórmula:

5



T₁, T₂ y cada R_H son independientemente de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

10

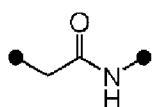
cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

15

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

20

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

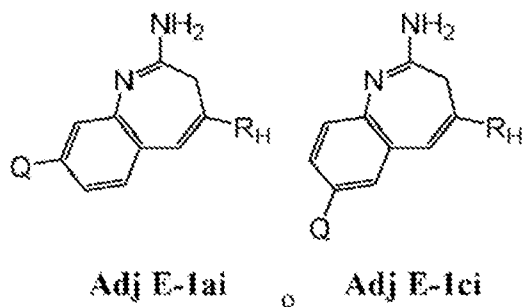
la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

25

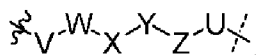
la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

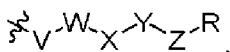


en donde

Q es de fórmula:



5 R_H es de fórmula:



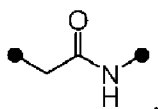
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

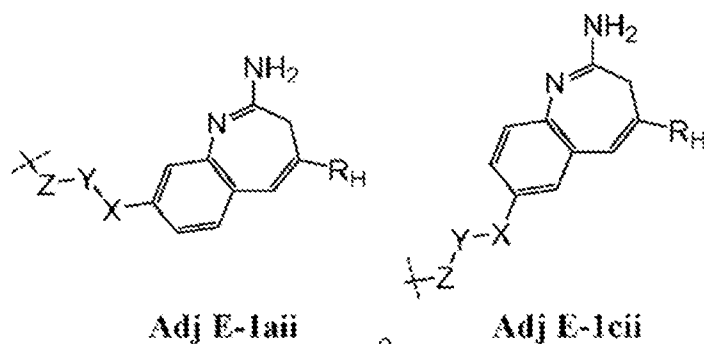
20 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("---") representa un punto de unión de Q y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

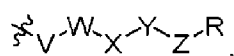
la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

25 En realizaciones preferidas, el resto adyuvante es de fórmula:



en donde

R_H es de fórmula:



5 V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

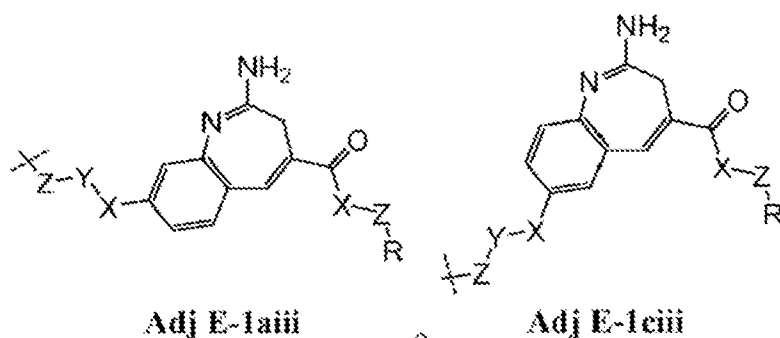
15 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("s") representa un punto de unión de R_H,

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

20 Más preferiblemente, el resto adyuvante es de fórmula:



en donde

25 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado

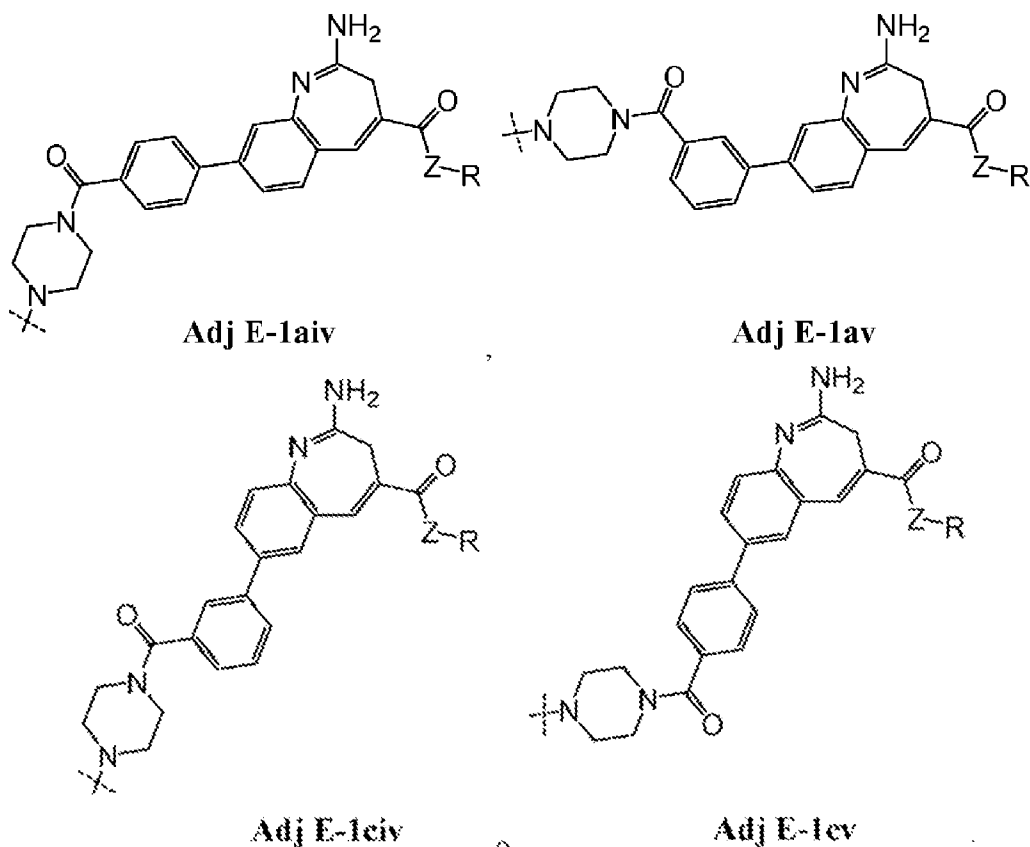
o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



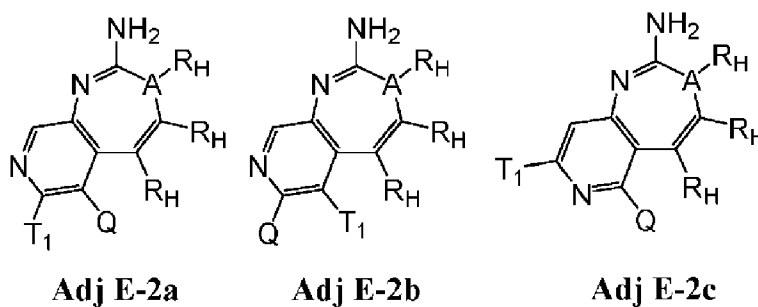
en donde

10 Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, o -NR-,

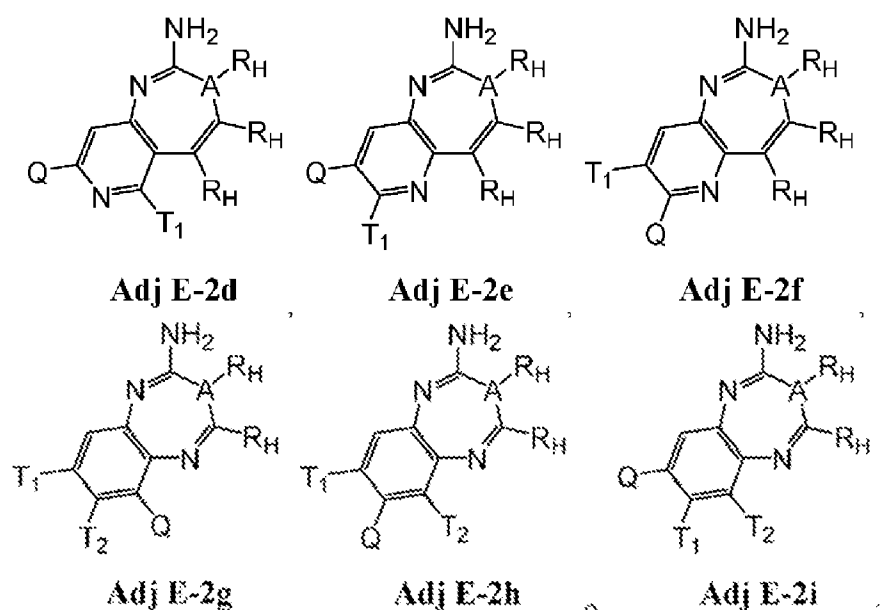
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



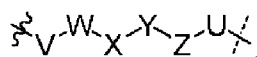
15



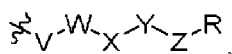
en donde

A es CH o N,

5 Q es de fórmula:



T₁, T₂ y cada R_H son independientemente de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

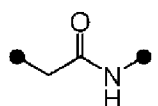
10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,

20 U está opcionalmente presente y es



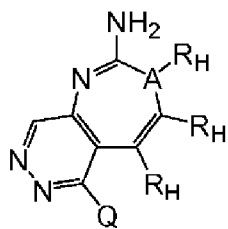
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

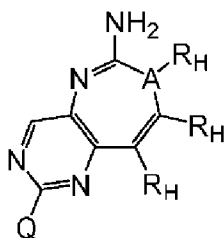
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

25 la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

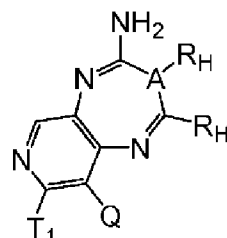
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



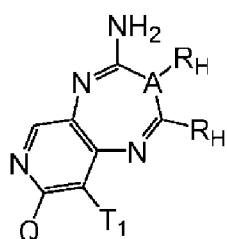
Adj E-3a



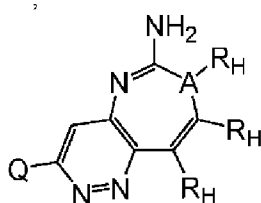
Adj E-3b



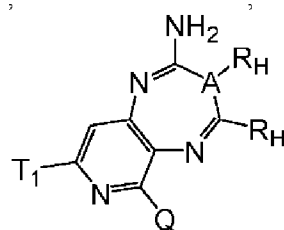
Adj E-3c



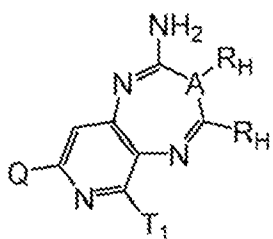
Adj E-3d



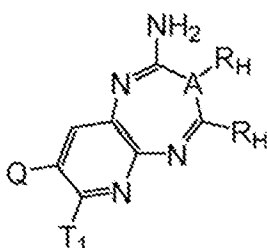
Adj E-3e



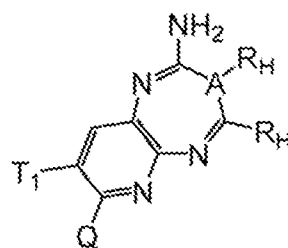
Adj E-3f



Adj E-3g



Adj E-3h

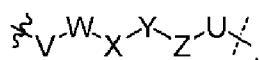


Adj E-3i

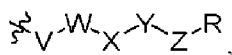
5 en donde

A es CH o N,

Q es de la fórmula:



T₁ y cada R_H son independientemente de fórmula:



10

cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

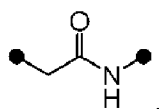
15

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

20

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es,

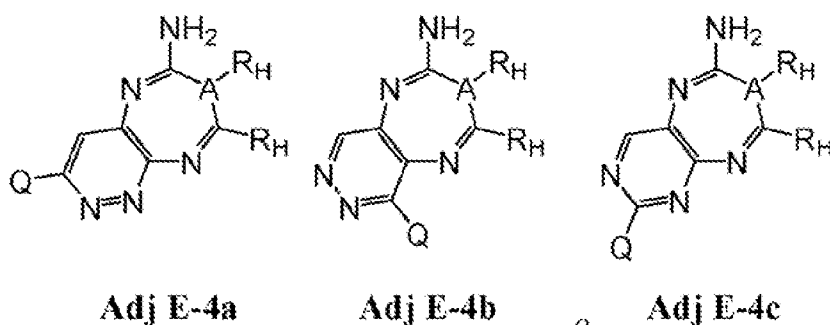
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

5 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

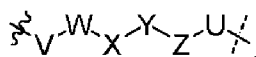
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



10 en donde

A es CH o N,

Q es de fórmula:



cada R_H es independientemente de fórmula:



15

cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

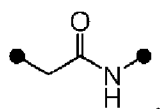
20

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

25

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

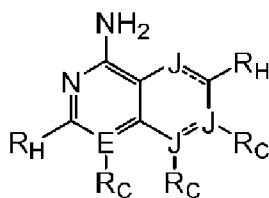
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("s") representa un punto de unión de Q y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

- 5 En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj F:



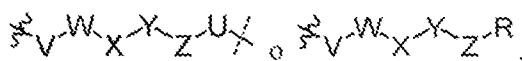
Adj F

en donde

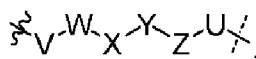
cada J es independientemente C, CH, CH₂, N, NH, O o S,

E es C, CH o N,

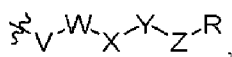
- 10 cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:



excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:



cada R_H es independientemente de fórmula:

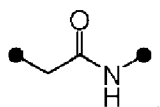


- 15 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,
 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

- 20 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

- 25 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

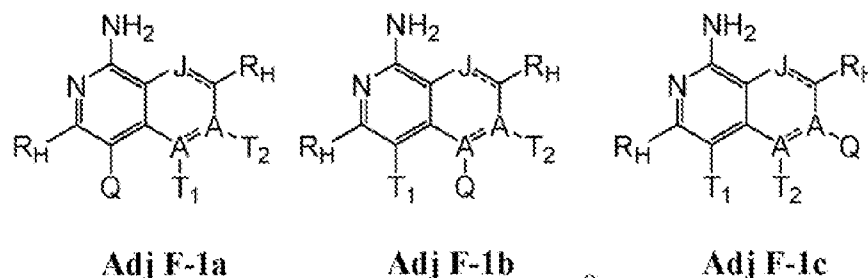
- 30 cada "-----" representa independientemente un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("s") representa un punto de unión de R_C y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



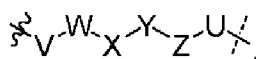
5

en donde

cada A es independientemente CH o N,

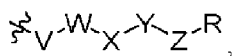
J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

Q es de fórmula:



10

T₁, T₂ y cada R_H son independientemente de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

15

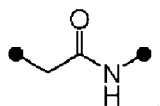
cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

25

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada "≡" representa independientemente un enlace sencillo o un enlace doble,

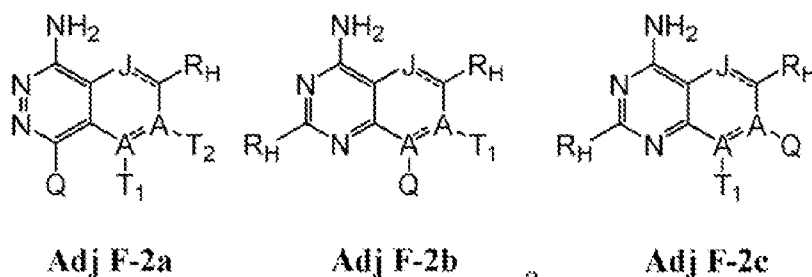
la línea ondulada ("≡") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

30

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

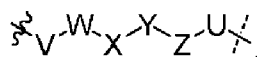


en donde

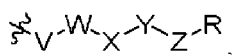
cada A es independientemente CH o N,

J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

5 Q es de fórmula:



T₁, T₂ y cada R_H son independientemente de fórmula:



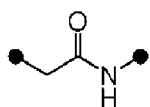
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

10 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



20 U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

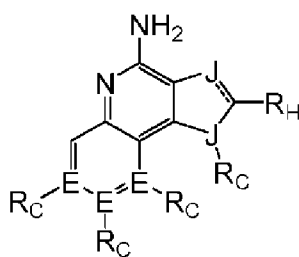
cada "≡" representa independientemente un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

25 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de Fórmula Adj G:



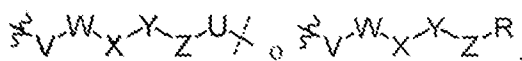
Adj G

en donde

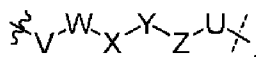
cada J es independientemente C, CH, CH₂, N, NH, O o S,

cada E es independientemente C, CH o N,

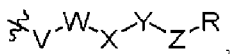
5 cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:



excepto que al menos un R_C está presente es de fórmula:



R_H es de fórmula:



10

cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

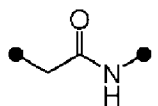
15

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

20

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

25

"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

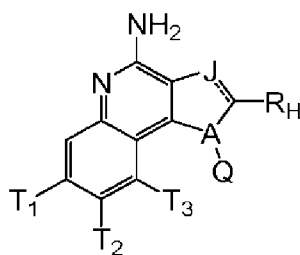
la línea ondulada ("")" representa un punto de unión de R_C y R_H,

el punto ("")" representa un punto de unión de U, y

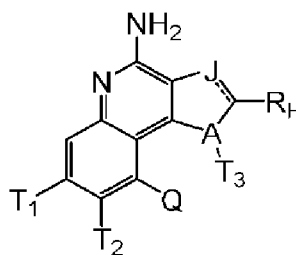
la línea discontinua ("")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

30

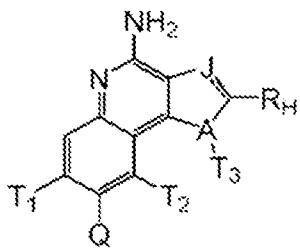
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



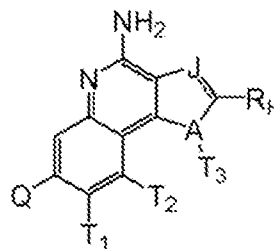
Adj G-1a



Adj G-1b



Adj G-1c



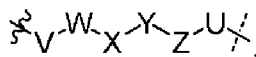
Adj G-1d

en donde

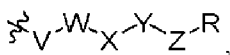
A es CH o N,

5 J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

Q es de fórmula:



T₁, T₂, T₃ y R_H son independientemente de fórmula:



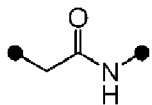
10 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

15 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

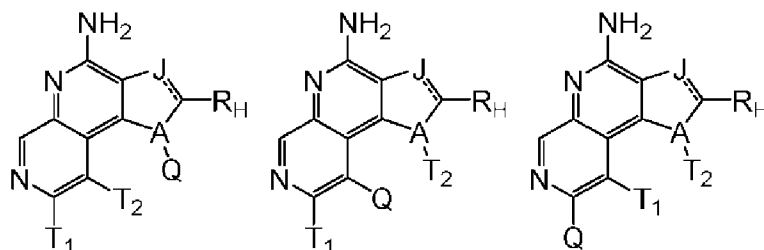
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

25 la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂, T₃ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

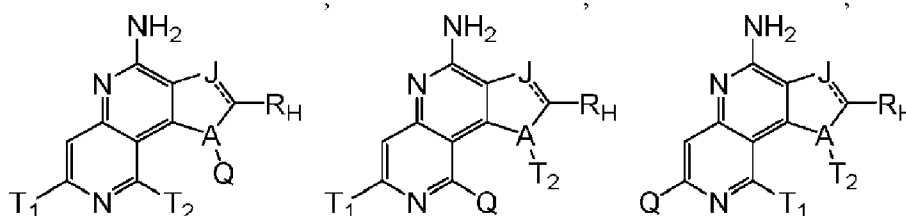


Adj G-2a

Adj G-2b

Adj G-2c

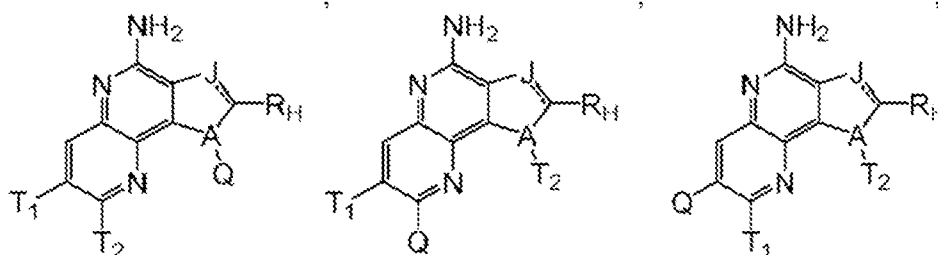
5



Adj G-2d

Adj G-2e

Adj G-2f



Adj G-2g

Adj G-2h

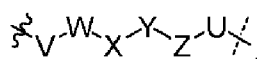
Adj G-2i

en donde

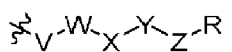
A es CH o N,

10 J es CH, CH₂, N, NH, O o S,

Q es de fórmula:



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



15 cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

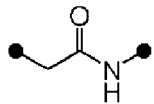
cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo

divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



5 U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

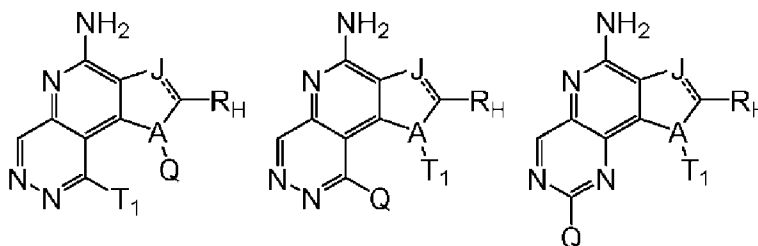
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada (")" representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

10 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua (")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

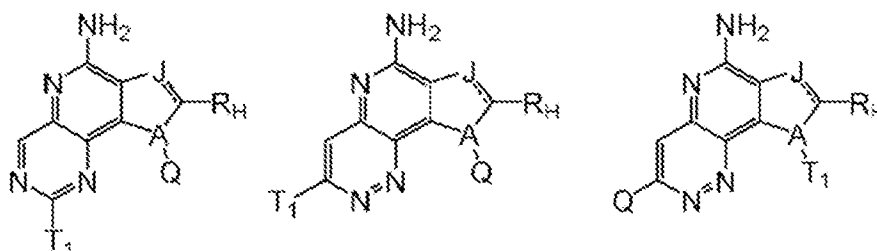
En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj G-3a

Adj G-3b

Adj G-3c



Adj G-3d

Adj G-3e

Adj G-3f

15

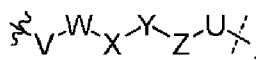
en donde

A es CH o N,

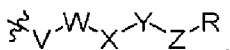
J es CH, CH₂, N, NH, O, o S,

Q es de la fórmula:

20



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



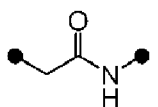
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado; y

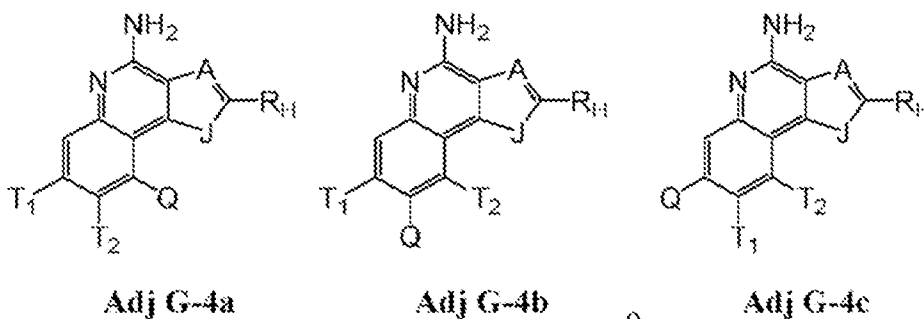
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

15 la línea ondulada ("") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

el punto ("") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



20

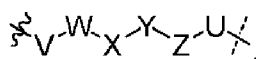
en donde

A es CH o N,

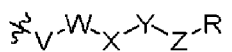
J es CH₂, NH, O, o S,

Q es de la fórmula:

25



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

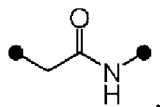
30 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo,

heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

5 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

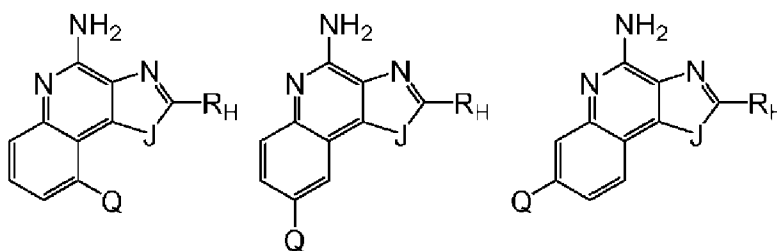
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

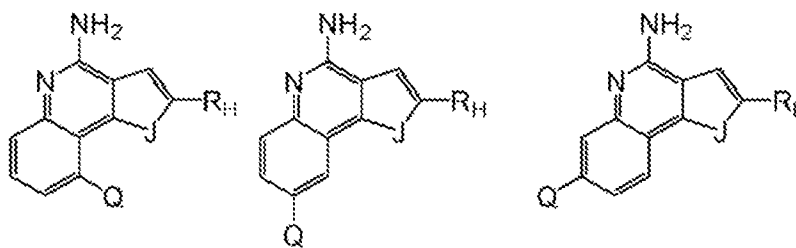


Adj G-5a

Adj G-5b

Adj G-5c

15



Adj G-5d

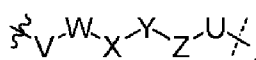
Adj G-5e

Adj G-5f

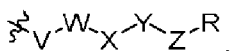
en donde

J es CH₂, NH, O o S,

20 Q es de fórmula:



R_H es de fórmula:



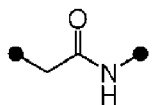
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

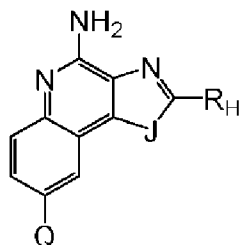
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q y R_H,

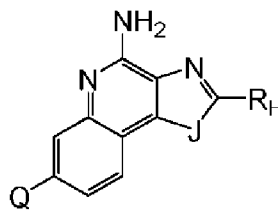
15 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:

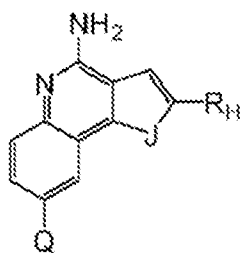


Adj G-6a

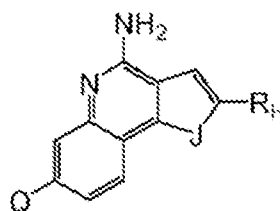


Adj G-6b

20



Adj G-6c

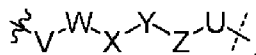


Adj G-6d

en donde

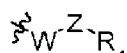
J es CH₂, NH, O, o S,

Q es de fórmula:



25

R_H es de fórmula:



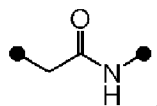
V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

5 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 X está opcionalmente presente y es uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

Y está opcionalmente presente y es -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

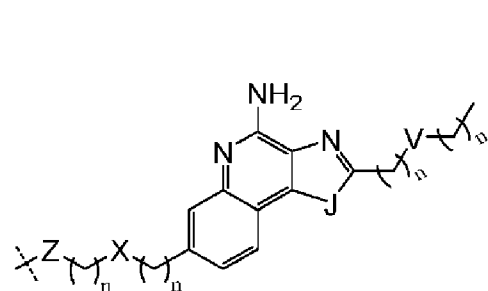
15 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q y R_H,

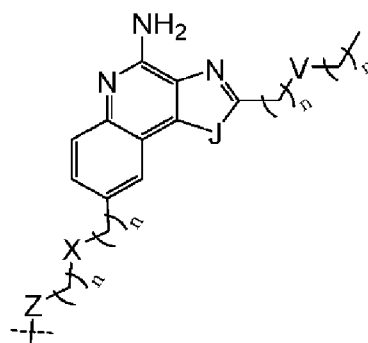
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

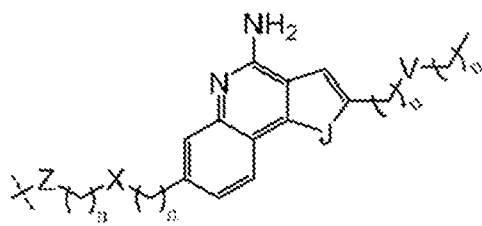
20 En realizaciones preferidas, el resto adyuvante es de fórmula:



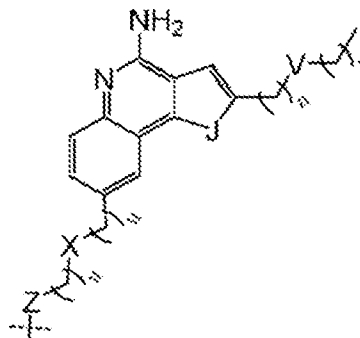
Adj G-7a



Adj G-7b



Adj G-7c



Adj G-7d

en donde

J es CH₂, NH, O o S,

V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

- 5 X está opcionalmente presente y es uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

Z está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH- o -NR-,

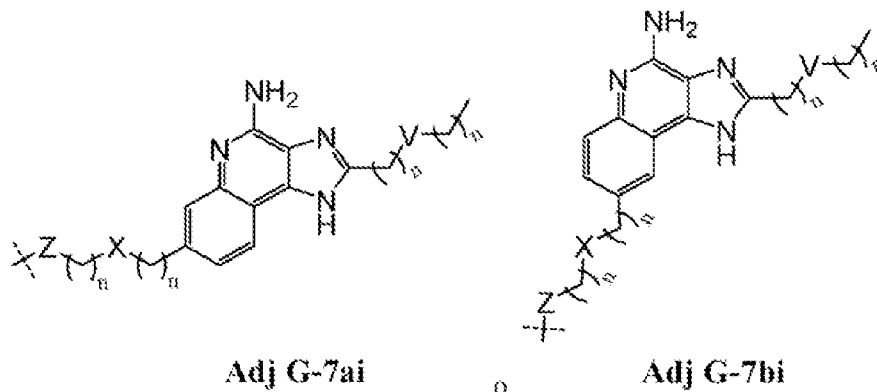
con la condición de que esté presente al menos X o Z,

- 10 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada n es independientemente un número entero de 0 a 4, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

Más preferiblemente, el resto adyuvante es de fórmula:



- 15 en donde

V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

- 20 X está opcionalmente presente y es uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

Z está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH- o -NR-,

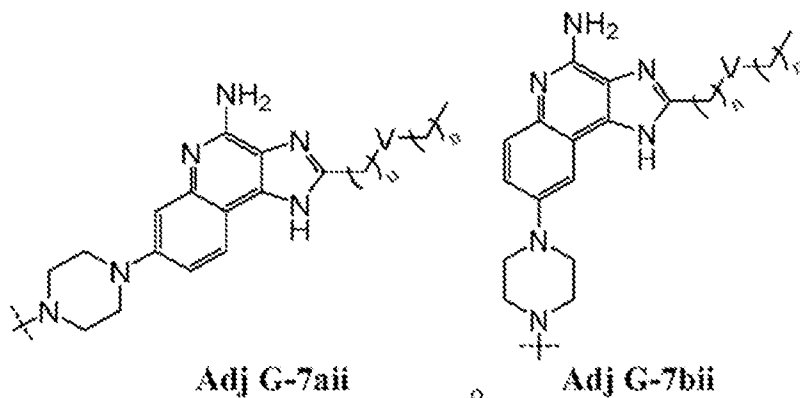
con la condición de que esté presente al menos X o Z,

- 25 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada n es independientemente un número entero de 0 a 4, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



en donde

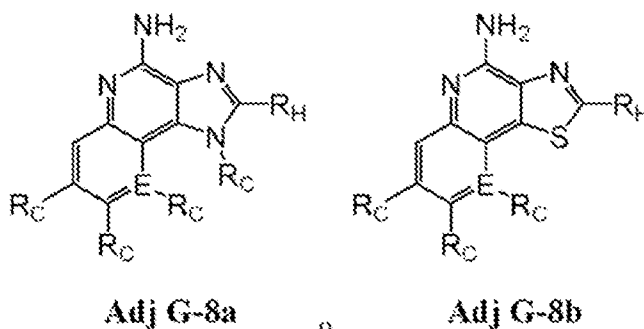
V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

5 R es hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₈ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada n es independientemente un número entero de 0 a 4, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

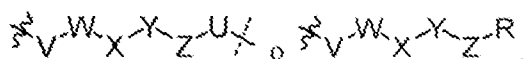
En algunas realizaciones, el resto adyuvante no es de fórmula:



10 en donde

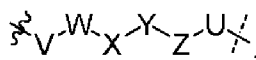
E es C, CH o N,

cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:

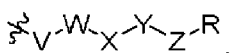


excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:

15



R_H es de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

20

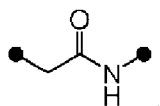
cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo

divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

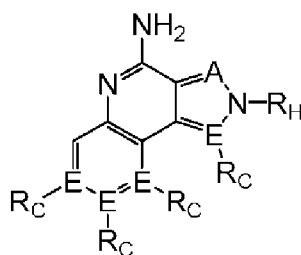
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

10 la línea ondulada (")" representa un punto de unión de R_C y R_H,

el punto (")" representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua (")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula Adj H:



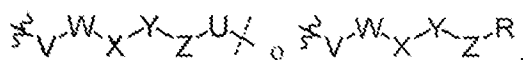
Adj H

15 en donde

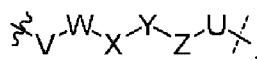
A es CH o N,

cada E es independientemente C, CH o N,

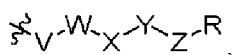
cada R_C está opcionalmente presente y es independientemente de fórmula:



20 excepto que al menos un R_C está presente y es de fórmula:



R_H es de fórmula:



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

25 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

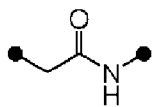
cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo

30 divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo

divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



5 U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

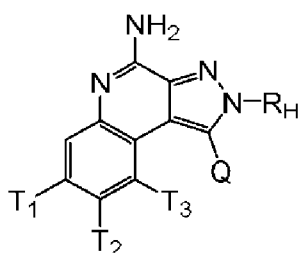
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada ("")" representa un punto de unión de R_C y R_H,

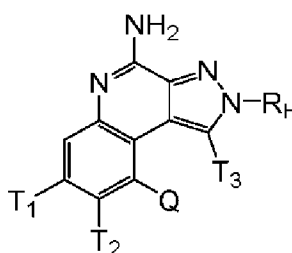
10 el punto ("")" representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que R_C está unido.

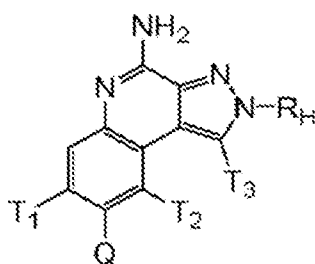
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



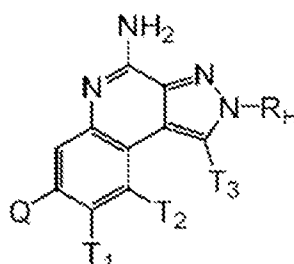
Adj H-1a



Adj H-1b



Adj H-1c

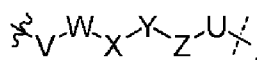


Adj H-1d

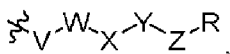
15

en donde

Q es de fórmula:



T₁, T₂, T₃ y R_H son independientemente de fórmula:



20

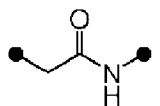
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

10 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

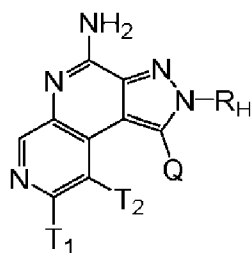
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada (")" representa un punto de unión de Q, T₁, T₂, T₃ y R_H,

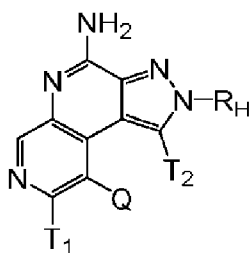
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

15 la línea discontinua (")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

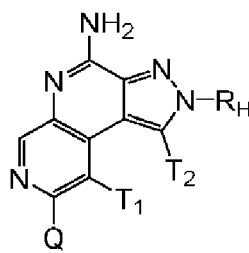
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



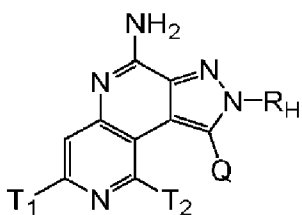
Adj H-2a



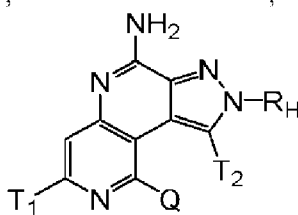
Adj H-2b



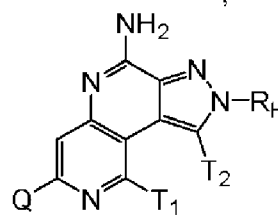
Adj H-2c



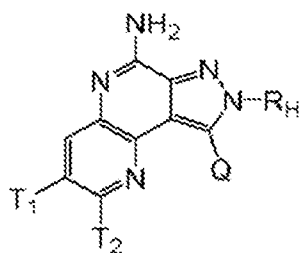
Adj H-2d



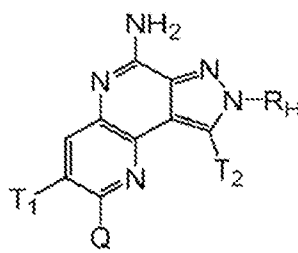
Adj H-2e



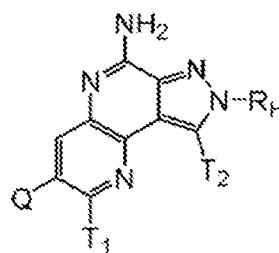
Adj H-2f



Adj H-2g



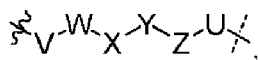
Adj H-2h



Adj H-2i

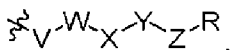
en donde

Q es de fórmula:



T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:

5



cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

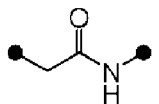
10

cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20

"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

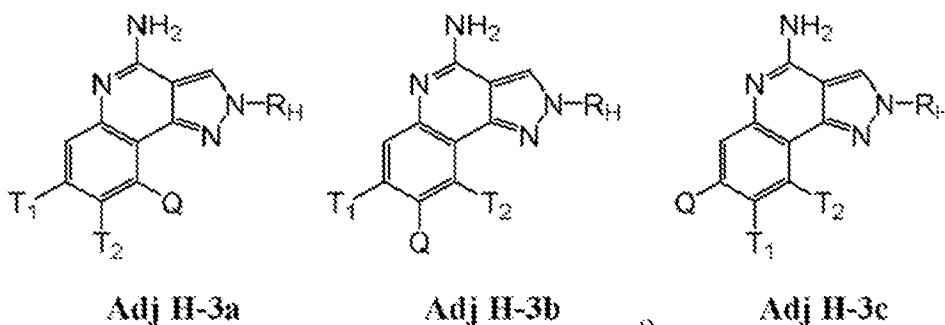
la línea ondulada (")" representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

el punto (")" representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua (")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

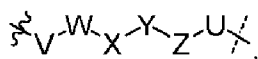
25

En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



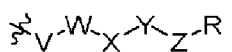
en donde

Q es de fórmula:



30

T₁, T₂ y R_H son independientemente de fórmula:



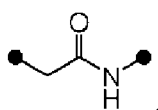
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

5 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

10 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

15 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

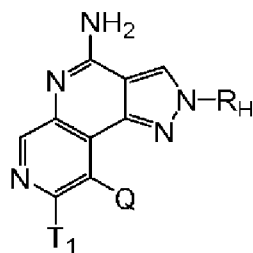
"" representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada (")" representa un punto de unión de Q, T₁, T₂ y R_H,

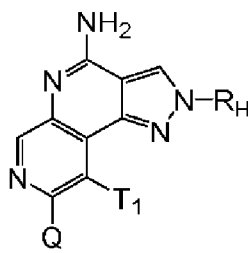
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

20 la línea discontinua (")" representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

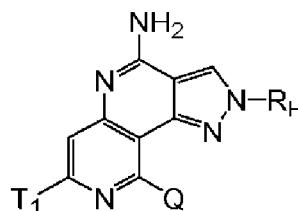
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



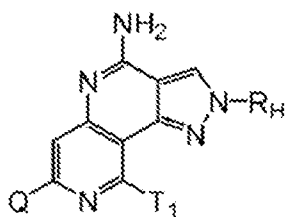
Adj H-4a



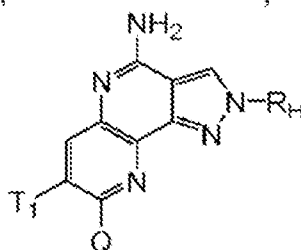
Adj H-4b



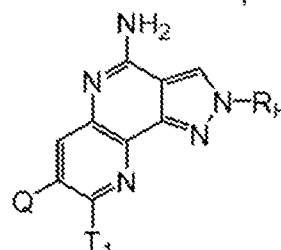
Adj H-4c



Adj H-4d



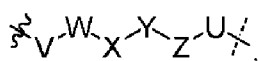
Adj H-4e



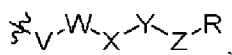
Adj H-4f

en donde

25 Q es de fórmula:



T₁ y R_H son independientemente de fórmula:



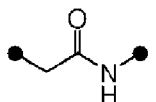
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

- 5 cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

- 10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



- 15 U está opcionalmente presente y es

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

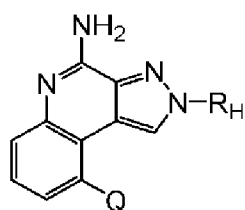
" --- " representa un enlace sencillo o un enlace doble,

la línea ondulada (" --- ") representa un punto de unión de Q, T₁ y R_H,

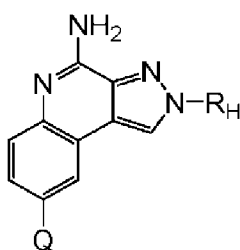
- 20 el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua (" - - - ") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

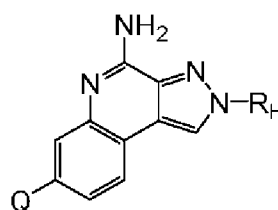
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



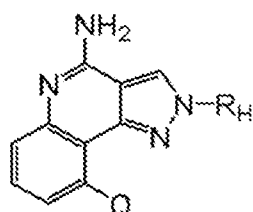
Adj H-5a



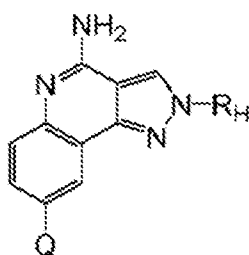
Adj H-5b



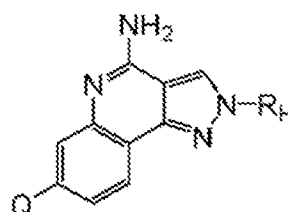
Adj H-5c



Adj H-5d



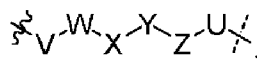
Adj H-5e



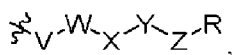
Adj H-5f

en donde

Q es de fórmula:



5 R_H es de fórmula:



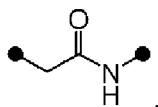
cada V está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 cada X está opcionalmente presente y es independientemente uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15 cada Y está opcionalmente presente y es independientemente -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

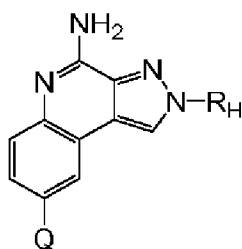
20 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₈ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q y R_H,

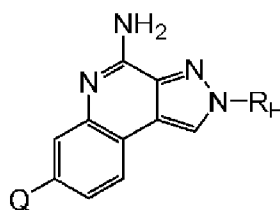
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("- - -") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

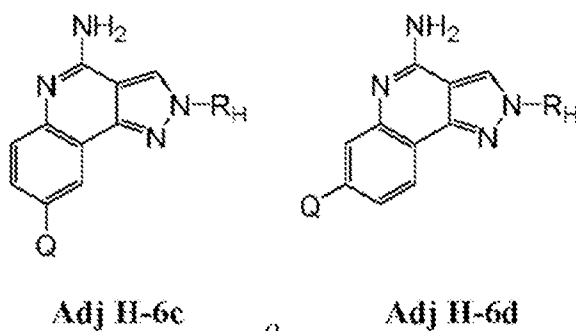
25 En ciertas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj H-6a

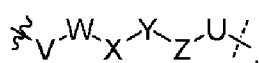


Adj H-6b

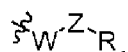


en donde

Q es de fórmula:



5 R_H es de fórmula:

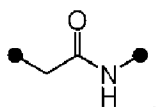


V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

cada W está opcionalmente presente y es independientemente un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado,

10 X está opcionalmente presente y es uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

15 Y está opcionalmente presente y es -CO- o un alquilo C₁-C₈ divalente lineal o ramificado, saturado o insaturado, cada Z está opcionalmente presente y es independientemente -O-, -S-, -NH- o -NR-,



U está opcionalmente presente y es

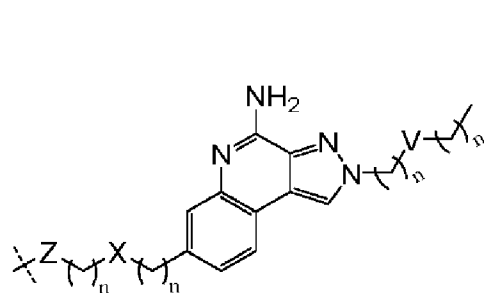
cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20 la línea ondulada ("~") representa un punto de unión de Q y R_H,

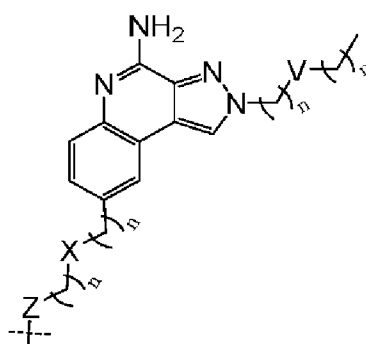
el punto ("•") representa un punto de unión de U, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador. Por consiguiente, el punto de unión del conector al núcleo del adyuvante ("P") es el átomo en el núcleo del adyuvante al que está unido Q.

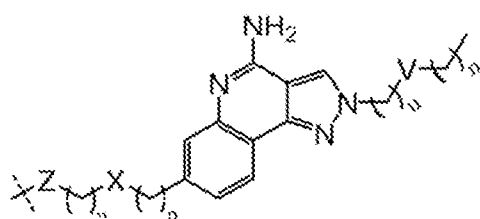
En realizaciones preferidas, el resto adyuvante es de fórmula:



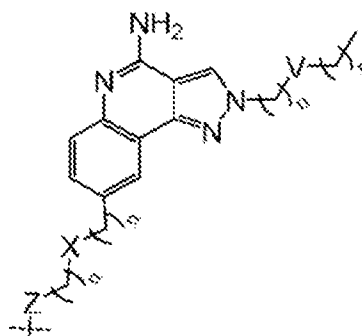
Adj H-7a



Adj H-7b



Adj H-7c



Adj H-7d

en donde

V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

- 5 X está opcionalmente presente y es uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

- 10 Z está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH- o -NR-,

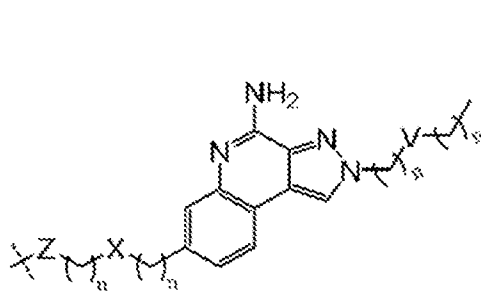
con la condición de que esté presente al menos X o Z,

cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

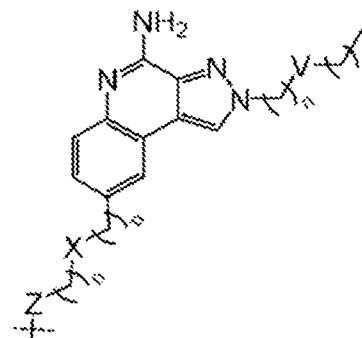
cada n es independientemente un número entero de 0 a 4, y

- 15 la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

Más preferiblemente, el resto adyuvante es de fórmula:



Adj H-7ai



Adj H-7bi

en donde

V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

5 X está opcionalmente presente y es uno, dos, tres o cuatro grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes, y cuando está presente más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalente, los más de un grupo cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes están unidos o condensados, en donde los grupos cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo divalentes unidos están unidos a través de un enlace o -CO-,

Z está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH- o -NR-,

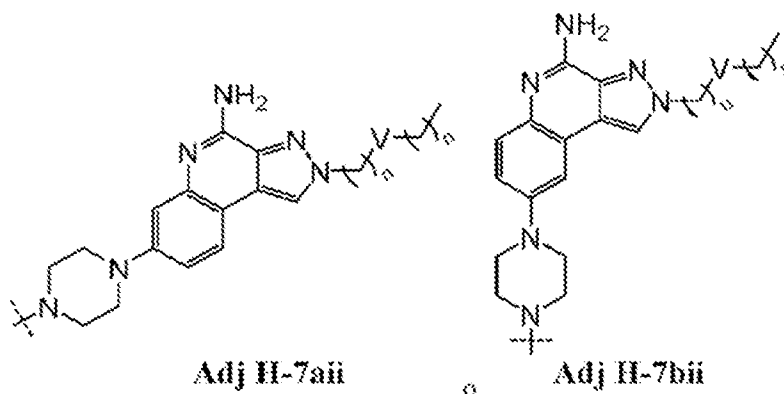
con la condición de que esté presente al menos X o Z,

10 cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

cada n es independientemente un número entero de 0 a 4, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

En algunas realizaciones, el resto adyuvante es de fórmula:



15

en donde

V está opcionalmente presente y es -O-, -S-, -NH-, -NR- o -CO-,

R es hidrógeno, halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo), nitrilo, -COOH o un alquilo C₁-C₄ lineal o ramificado, saturado o insaturado,

20 cada n es independientemente un número entero de 0 a 4, y

la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un espaciador.

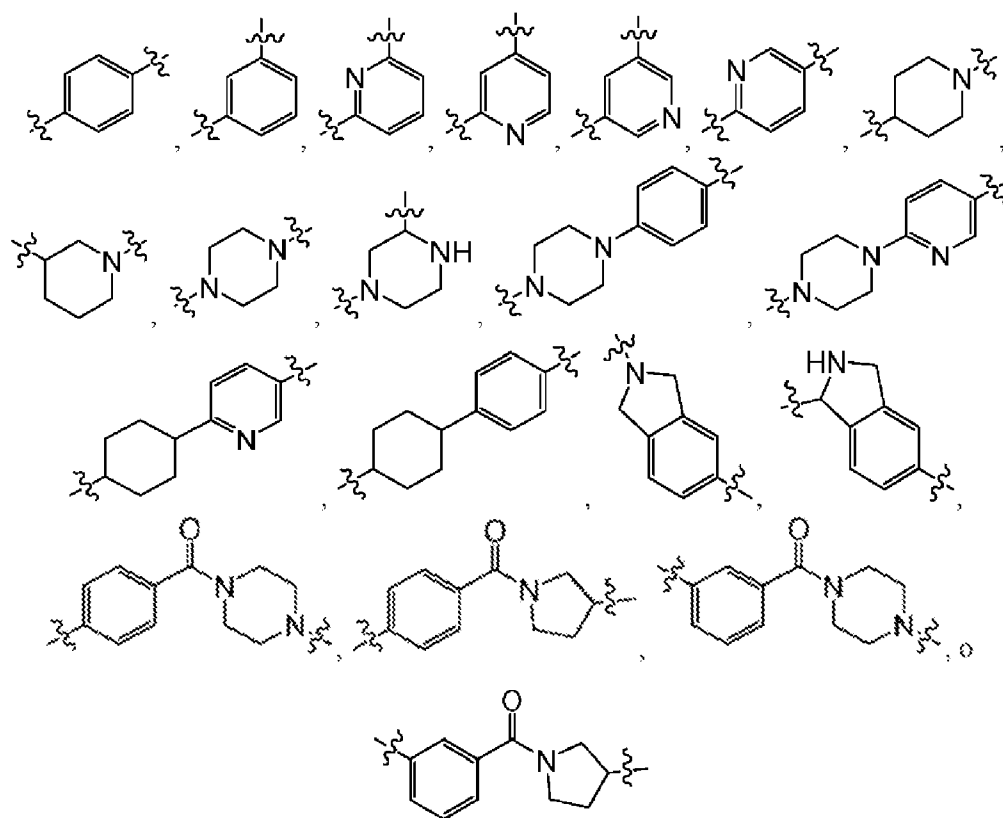
En ciertas realizaciones de la invención, uno o más átomos de hidrógeno aromáticos en las fórmulas AdjE pueden estar sustituidos por un átomo de halógeno (p. ej., flúor, cloro, bromo, yodo o combinaciones de los mismos).

25 En algunas realizaciones, X es uno o más grupos divalentes seleccionados de benceno, naftaleno, pirrol, indol, isoindol, indolizina, furano, benzofurano, benzotiofeno, tiofeno, piridina, acridina, naftiridina, quinolona, isoquinolina, isoxazol, oxazol, benzoxazol, isotiazol, tiazol, benzotiazol, imidazol, tiadiazol, tetrazol, triazol, oxadiazol, bencimidazol, purina, pirazol, pirazina, pteridina, quinoxalina, ftalazina, quinazolina, triazina, fenazina, cinolina, pirimidina, piridazina, ciclohexano, decahidronaftaleno, pirrolidina, octahidroindol, octahidroisoindol, tetrahydrofurano, octahydrobenzofurano, octahydrobenzotiofeno, tetrahydrotiofeno, piperidina, tetradecahidroacridina, naftiridina, decahydroquinolina, decahydroisoquinolina, isoxazolidina, oxazolidina, octahydrobenzooxazol, isotiazolidina, tiazolidina, octahydrobenzotiazol, imidazolidina, 1,2,3-tiadiazolidina, tetrazolidina, 1,2,3-triazolidina, 1,2,3-oxadiazolidina, octahydrobenzoimidazol, octahidropurina, pirazolidina, piperazina, dechidropteridina, decahydroquinoxalina, dechidrotalazina, dechidroquinazolina, 1,3,5-triazinano, tetradecahydrofenazina, decahydrocinolina, hexhidropirimidina o hexahidropiridazina. En algunas realizaciones, el uno o más grupos divalentes de X están condensados. En algunas

30

35 realizaciones, el uno o más grupos divalentes de X están unidos a través de un enlace o -CO-.

En ciertas realizaciones, X es de la fórmula:



5

en donde cualquiera de las estructuras anteriormente mencionadas puede usarse bilateralmente.

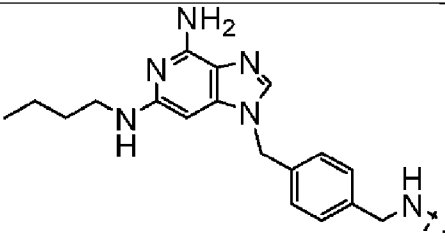
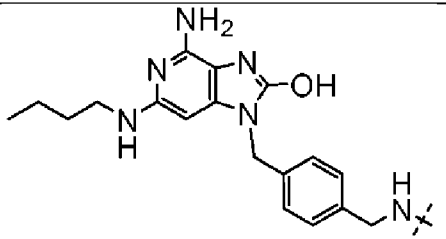
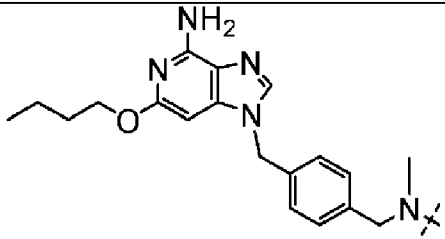
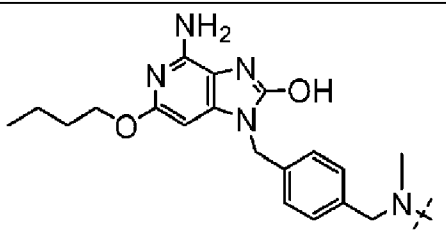
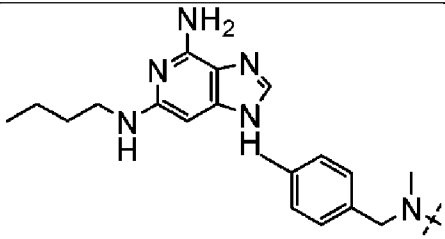
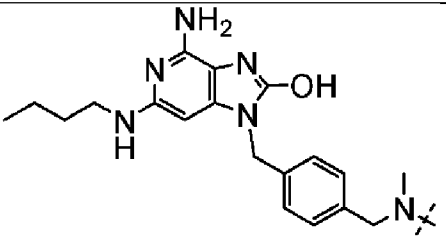
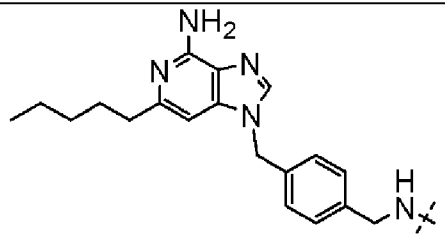
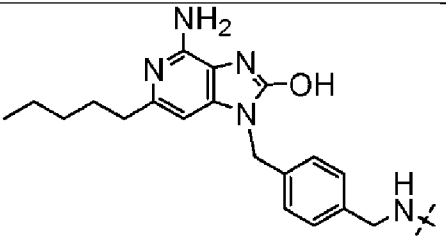
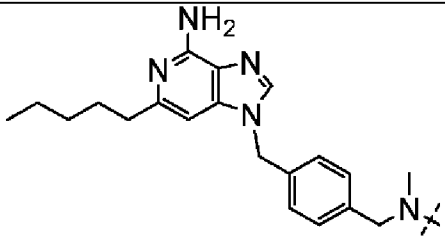
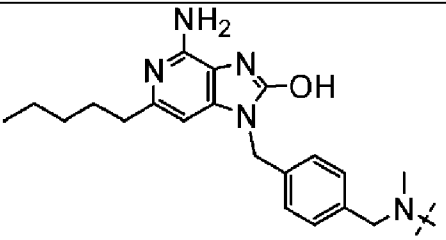
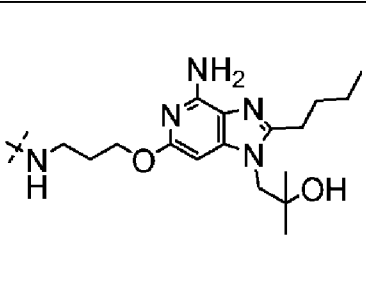
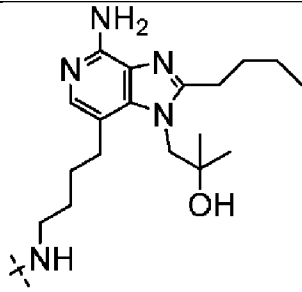
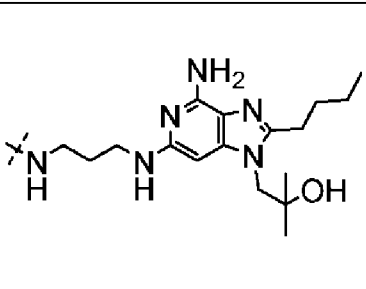
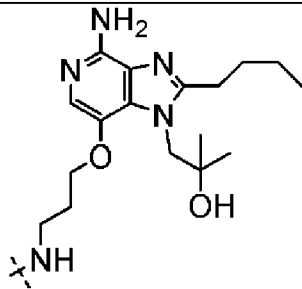
En ciertas realizaciones, el resto adyuvante no es S-27609, CL307, UC-IV150, imiquimod, gardiquimod, resiquimod, motoliod, VTS-1463GS-9620, GSK2245035, TMX-101, TMX-201, TMX-202, isatoribina, AZD8848, MEDI9197, 3M-051, 3M-852, 3M-052, 3M-854A, S-34240, KU34B o CL663, ORN02, ORN06, CL075, CL097, CL264 o loxoribina.

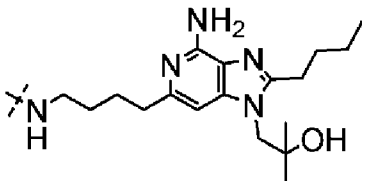
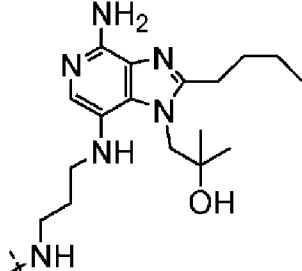
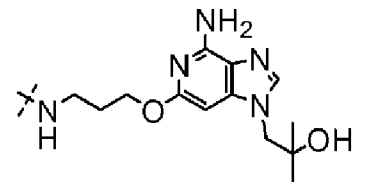
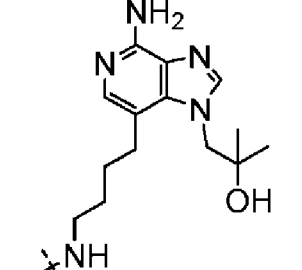
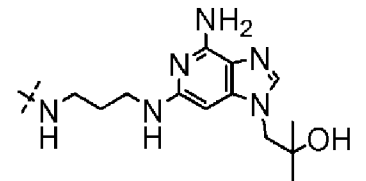
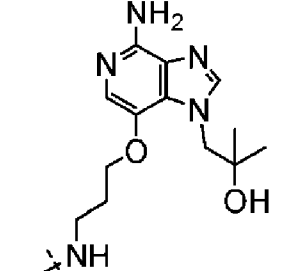
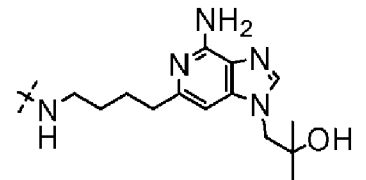
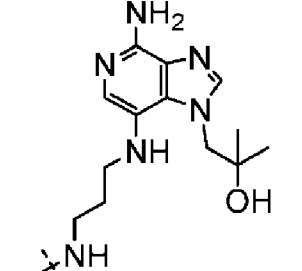
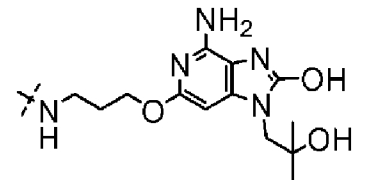
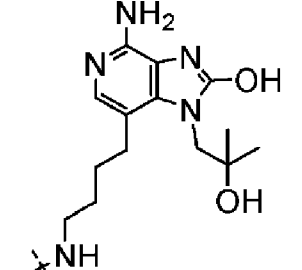
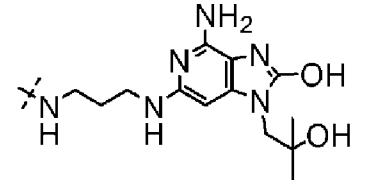
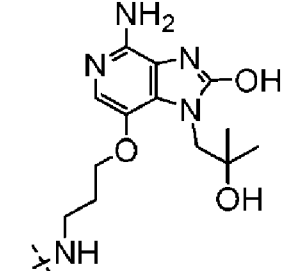
10 En ciertas realizaciones, el adyuvante ("Adj") es:

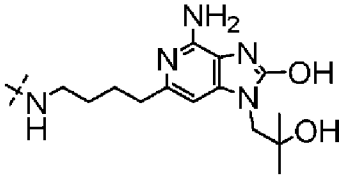
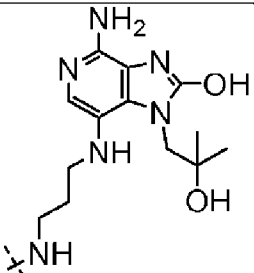
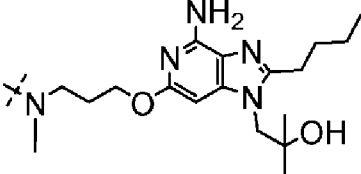
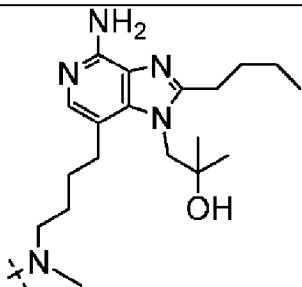
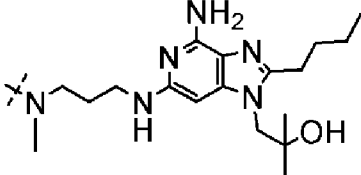
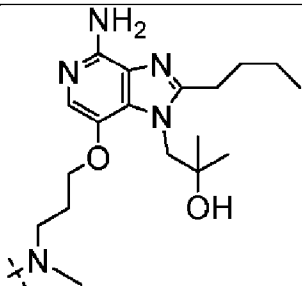
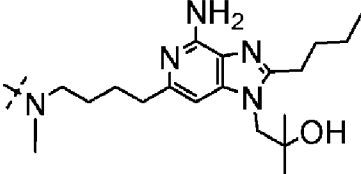
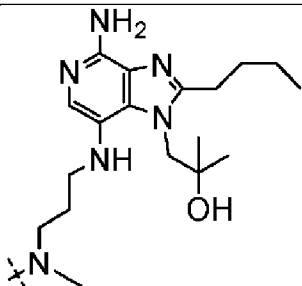
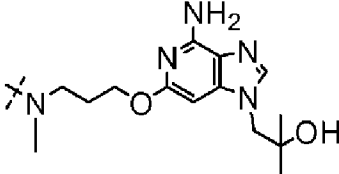
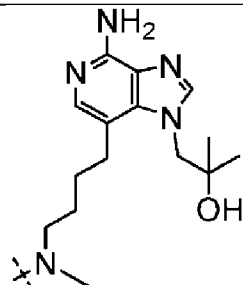
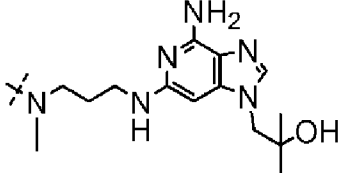
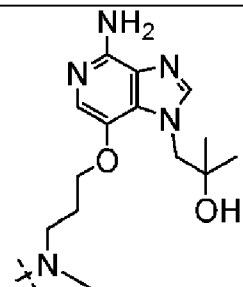
Tabla 1.

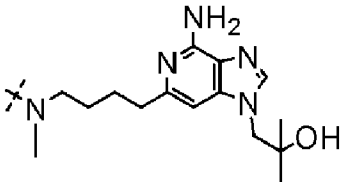
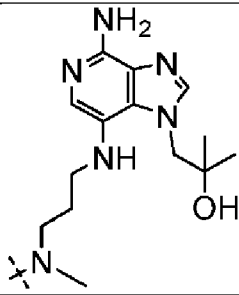
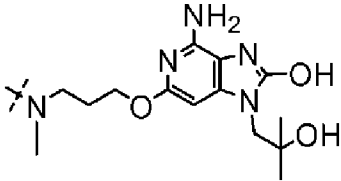
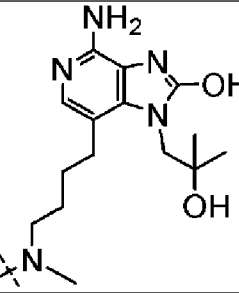
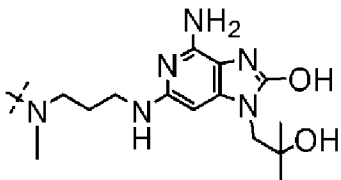
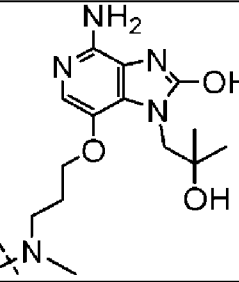
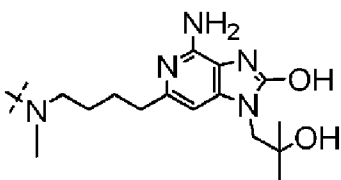
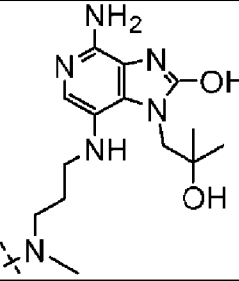
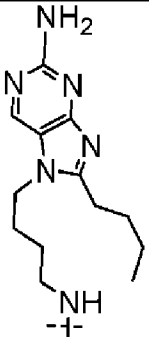
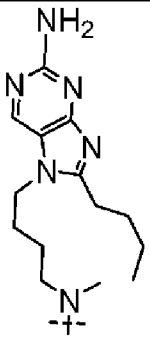
Adj	Estructura	Adj	Estructura
1		2	
3		4	
5		6	

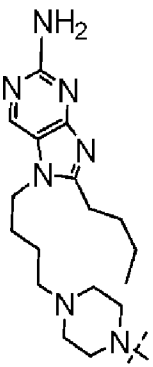
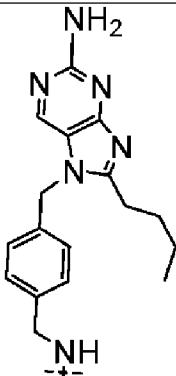
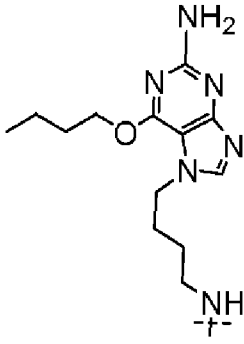
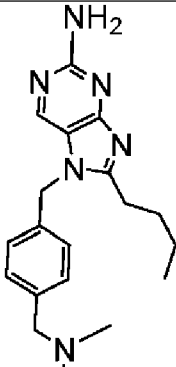
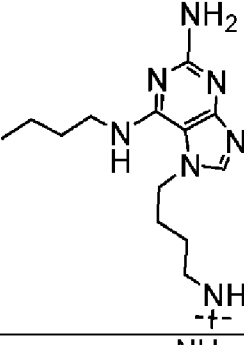
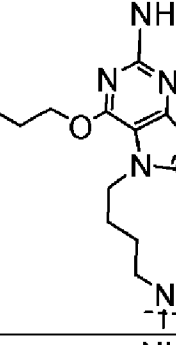
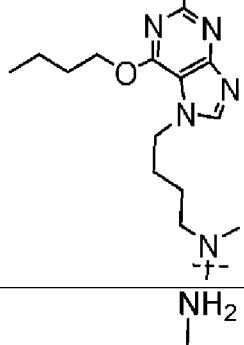
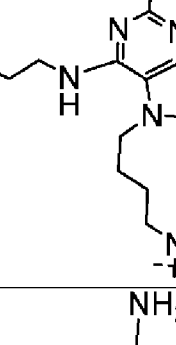
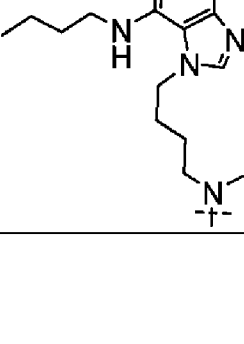
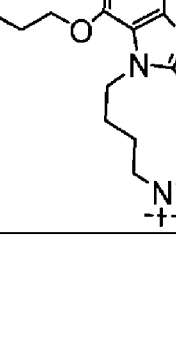
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	
21		22	
23		24	

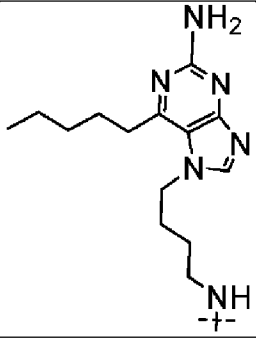
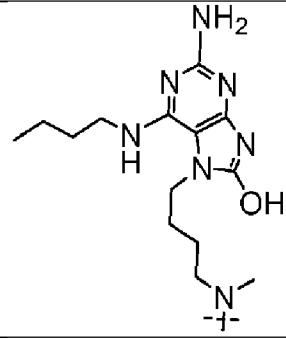
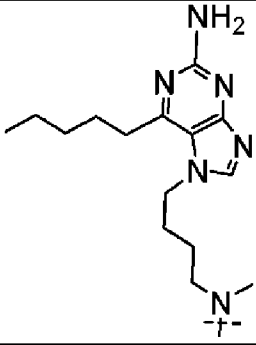
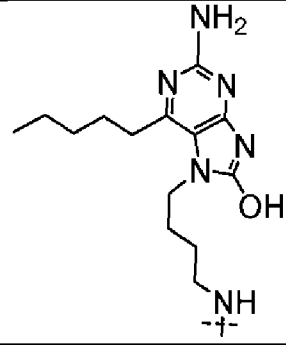
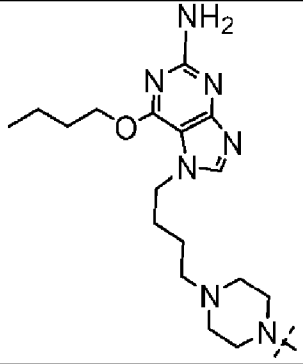
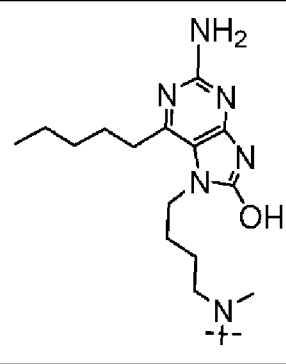
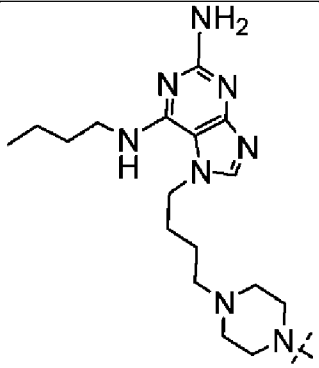
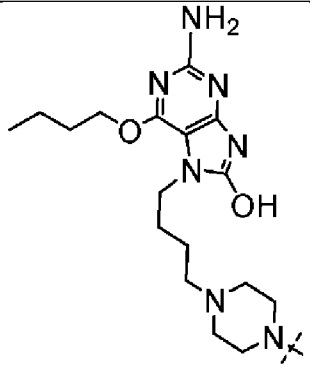
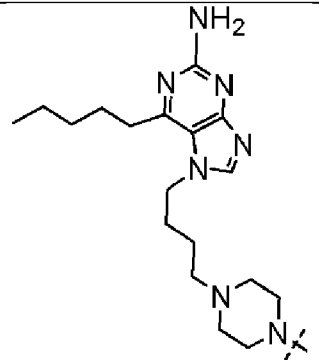
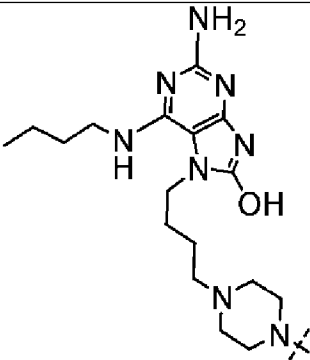
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	
35		36	
37		38	

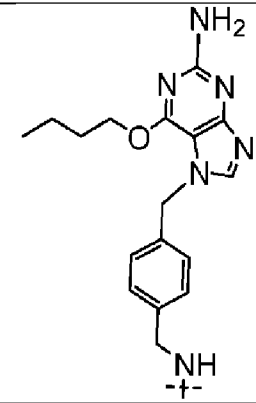
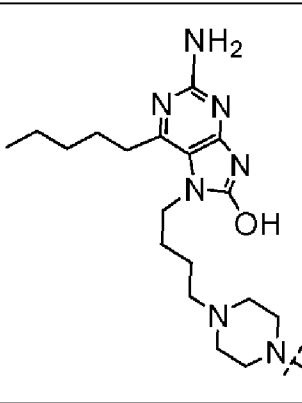
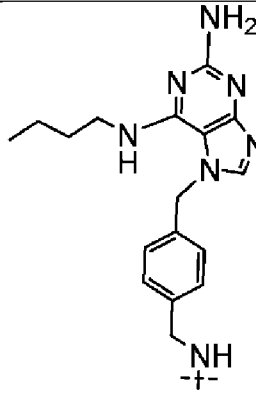
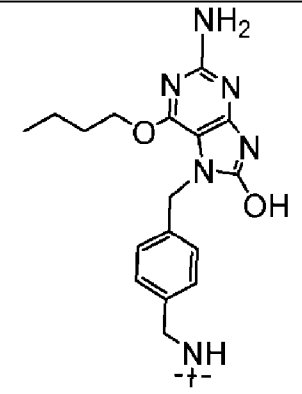
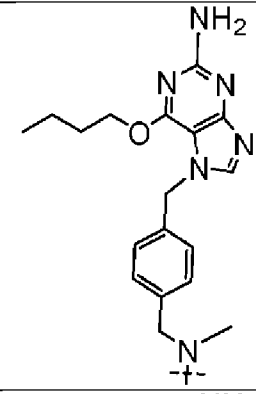
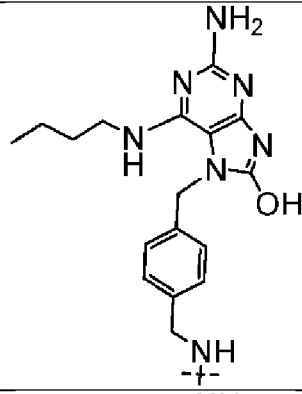
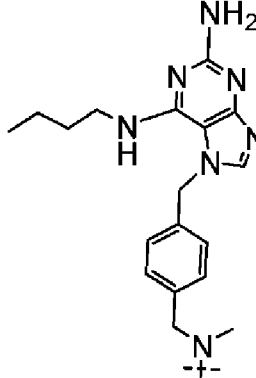
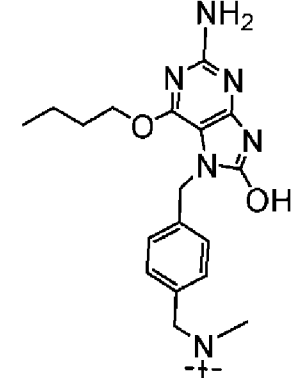
39		40	
41		42	
43		44	
45		46	
47		48	
49		50	

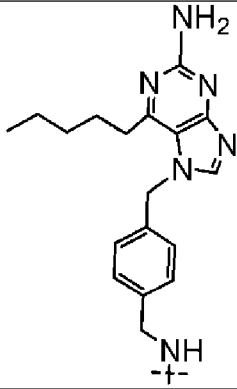
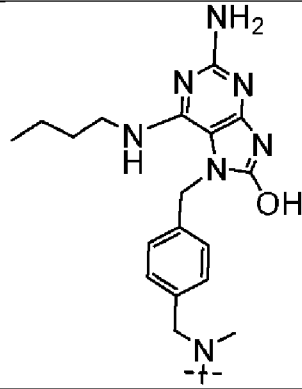
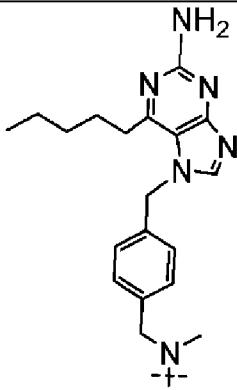
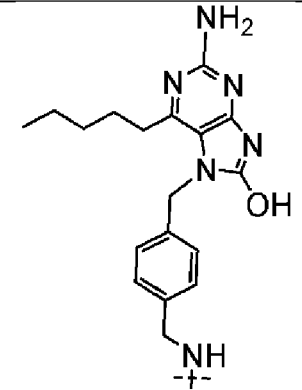
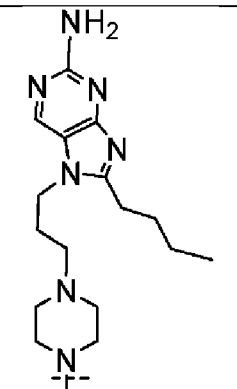
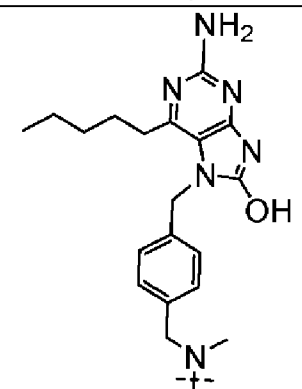
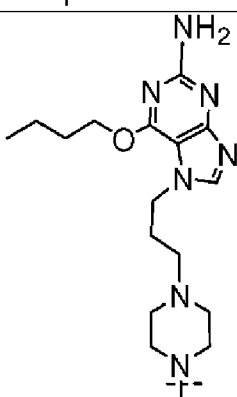
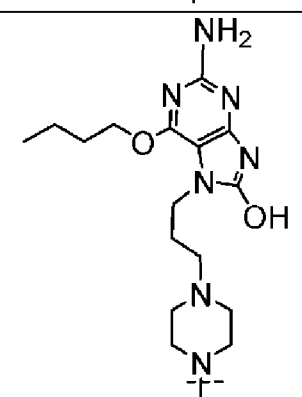
51		52	
53		54	
55		56	
57		58	
59		60	
61		62	

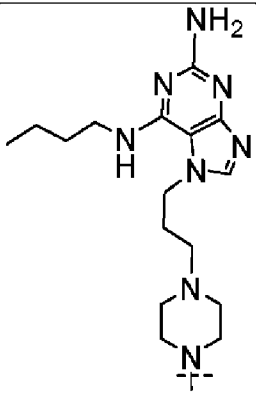
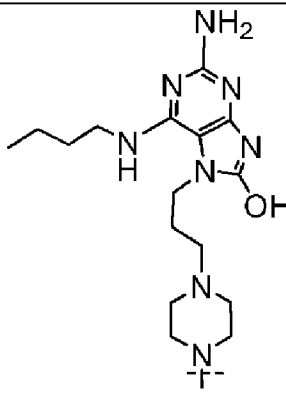
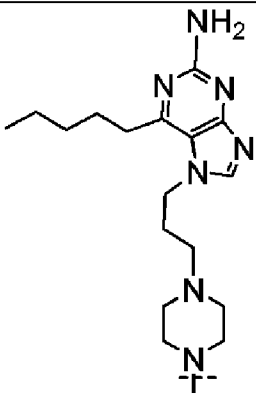
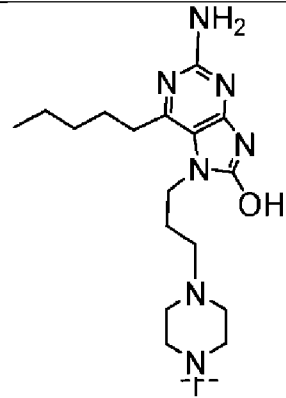
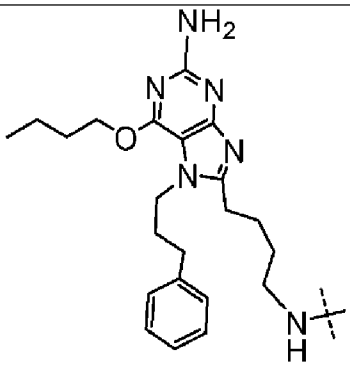
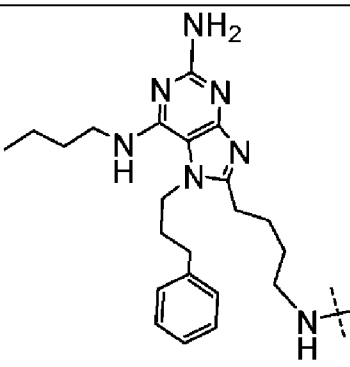
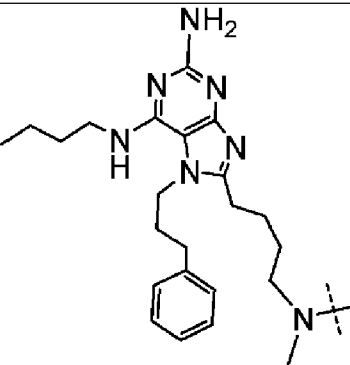
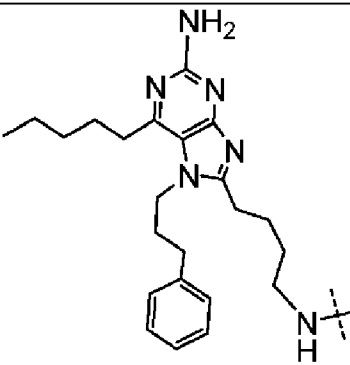
63		64	
65		66	
67		68	
69		70	
71		72	

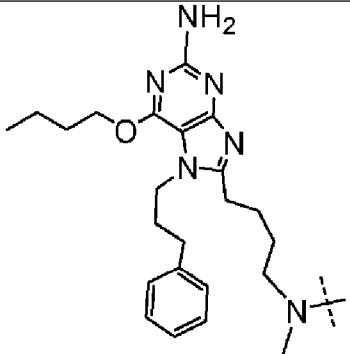
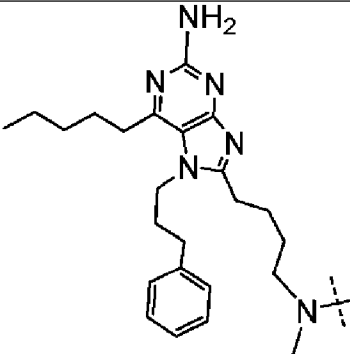
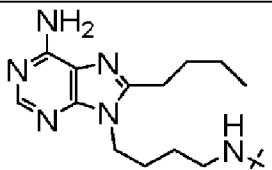
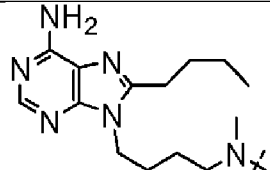
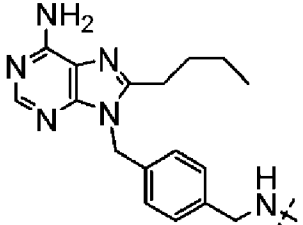
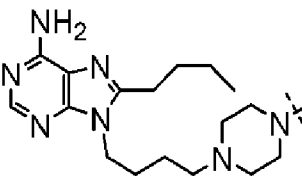
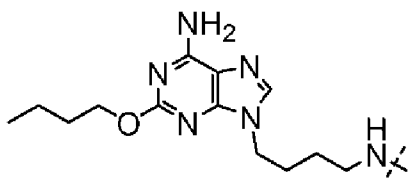
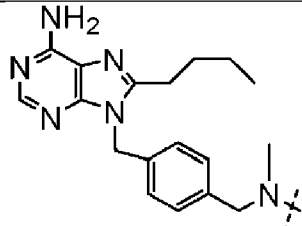
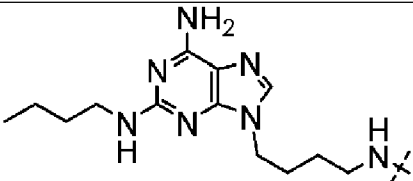
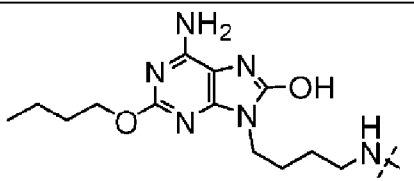
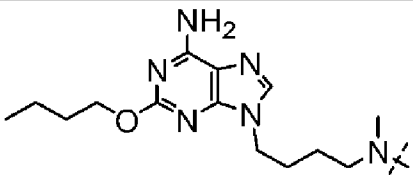
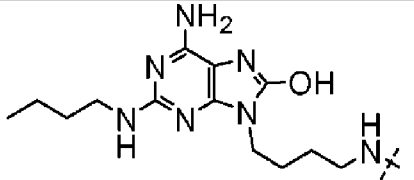
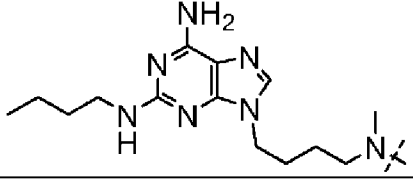
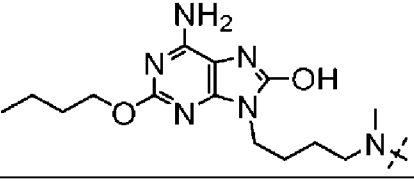
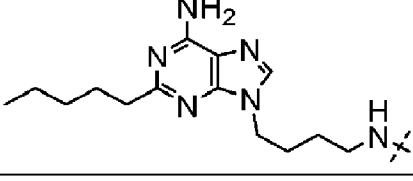
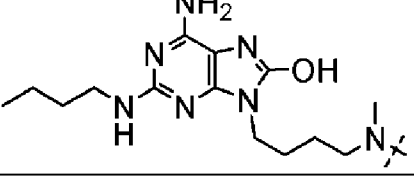
73		74	
75		76	
77		78	
79		80	
81		82	

83		84	
85		86	
87		88	
89		90	
91		92	

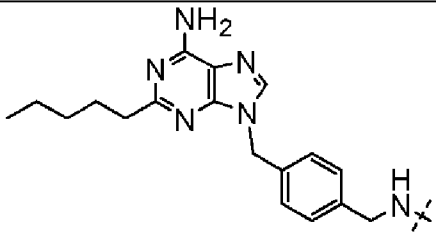
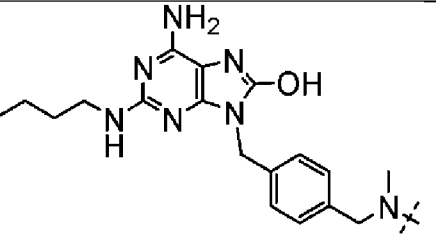
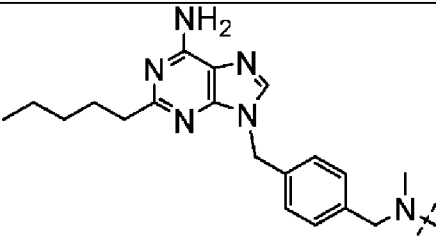
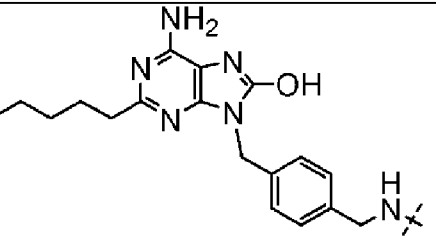
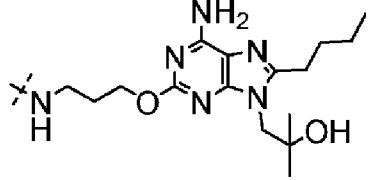
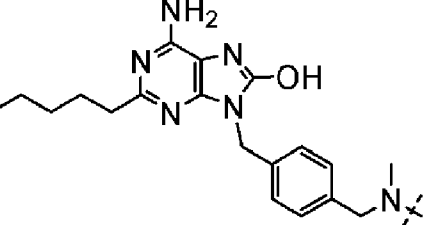
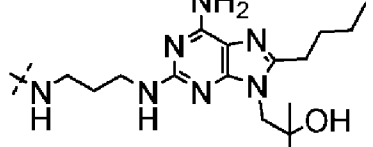
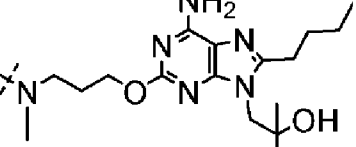
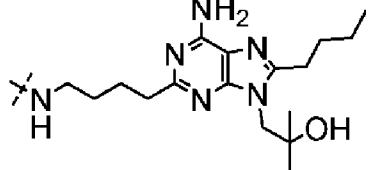
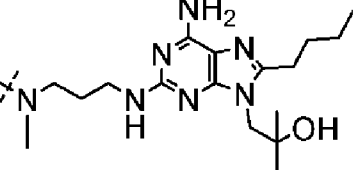
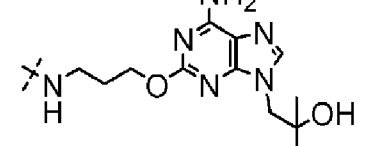
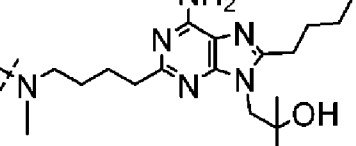
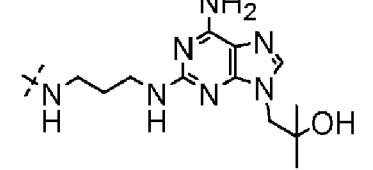
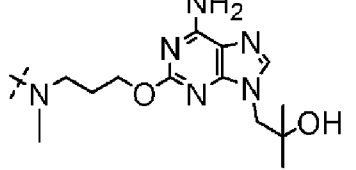
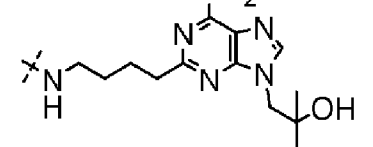
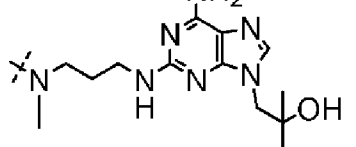
93		94	
95		96	
97		98	
99		100	

101		102	
103		104	
105		106	
107		108	

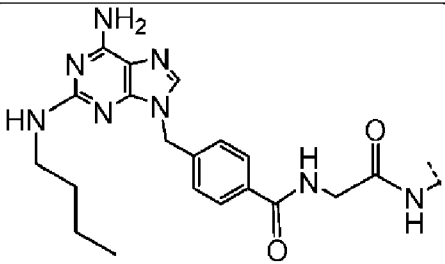
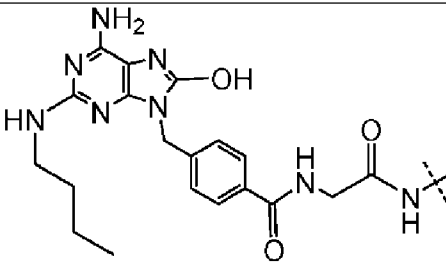
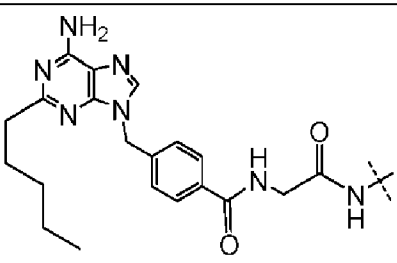
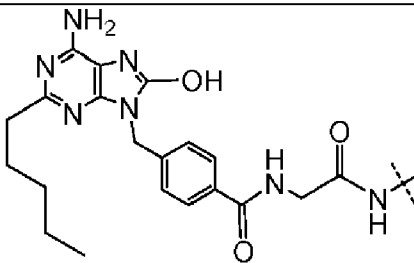
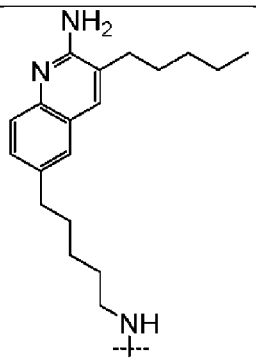
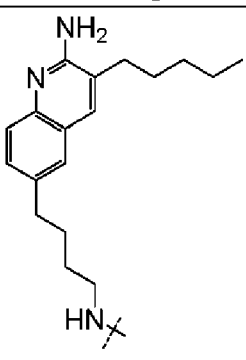
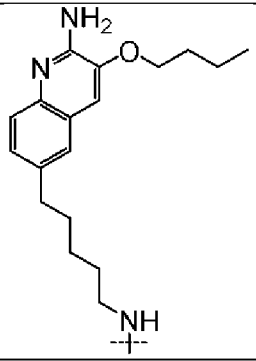
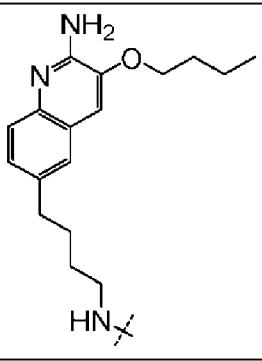
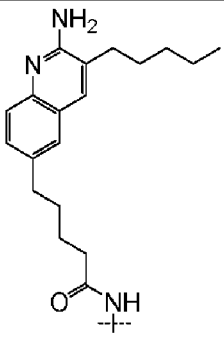
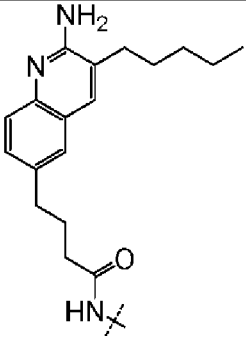
109		110	
111		112	
113		114	
115		116	

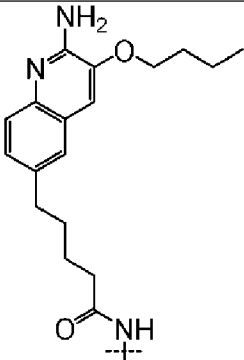
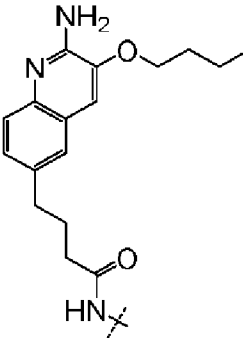
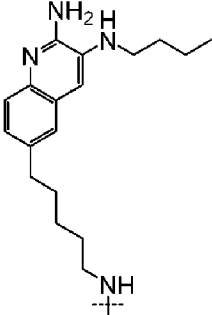
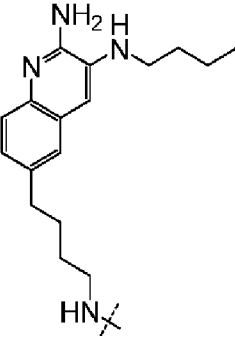
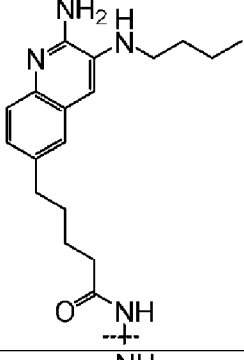
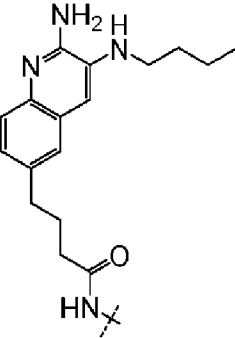
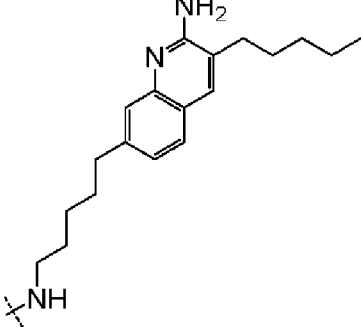
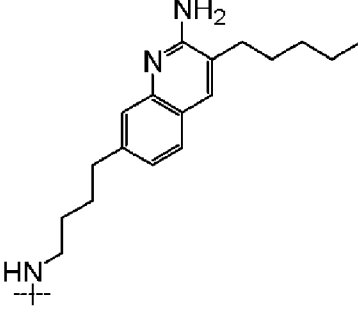
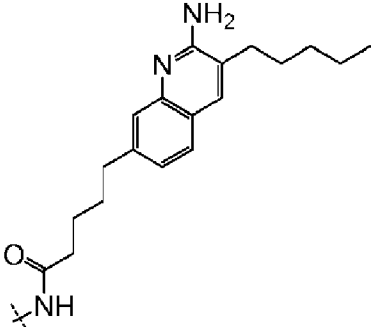
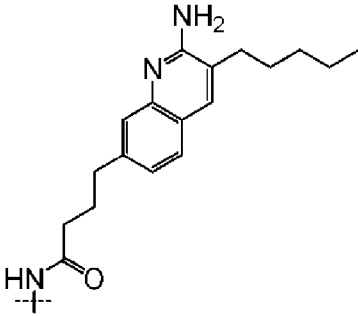
117		118	
119		120	
121		122	
123		124	
125		126	
127		128	
129		130	
131		132	

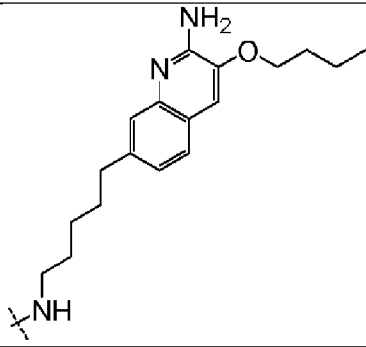
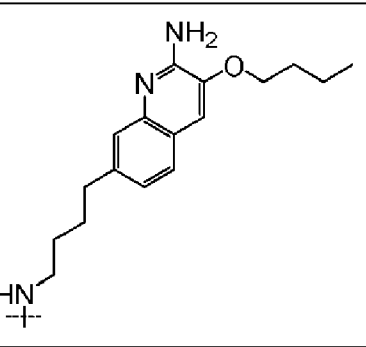
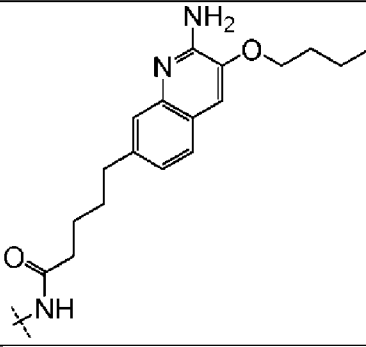
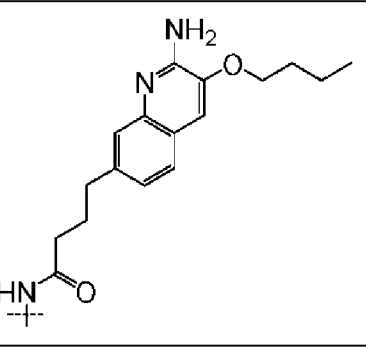
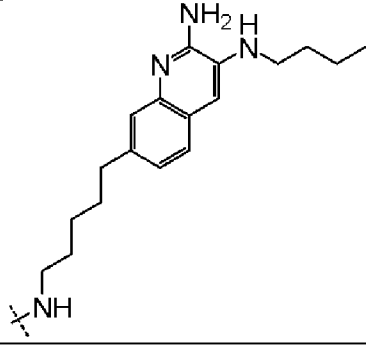
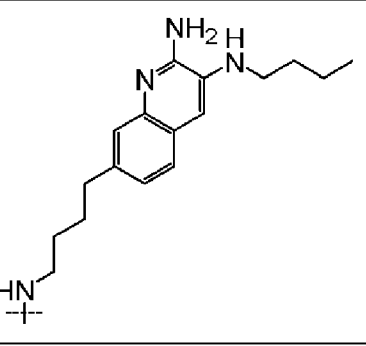
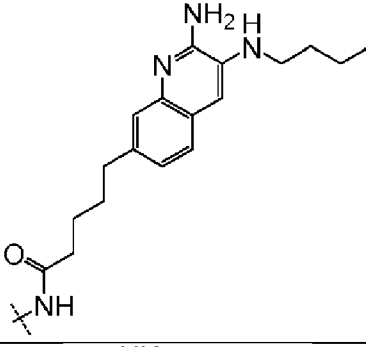
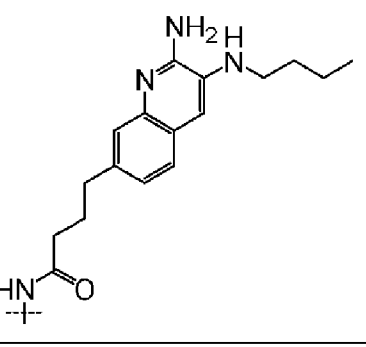
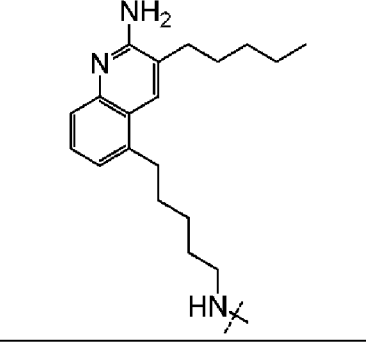
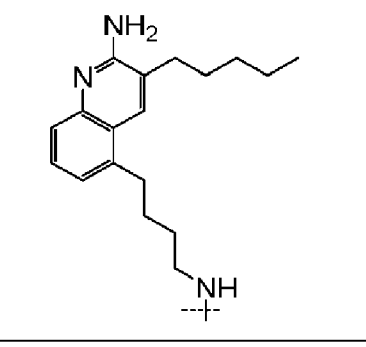
133		134	
135		136	
137		138	
139		140	
141		142	
143		144	
145		146	
147		148	

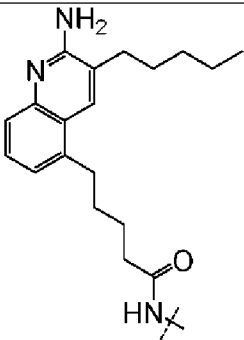
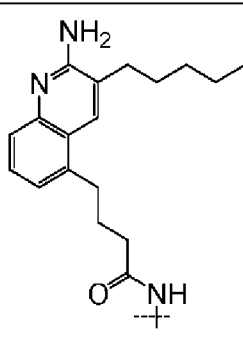
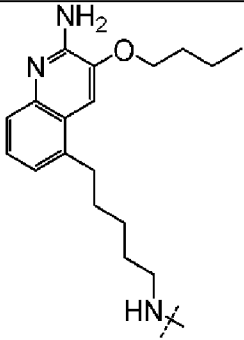
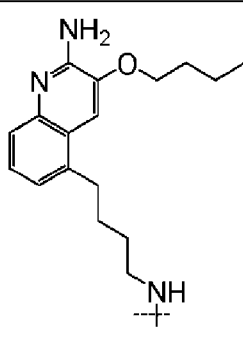
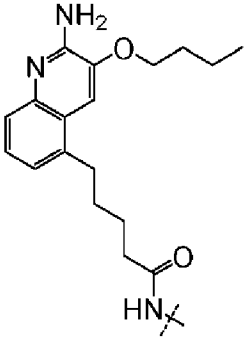
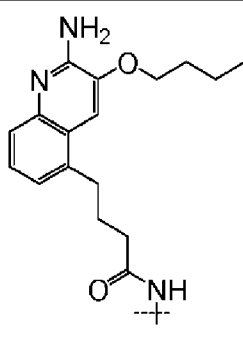
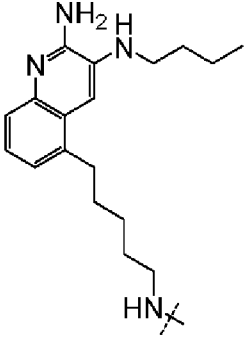
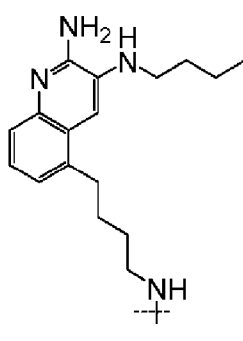
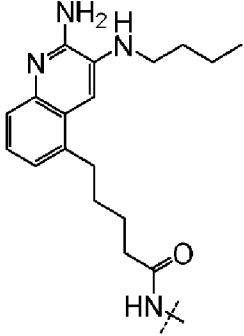
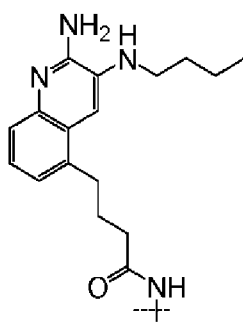
149		150	
151		152	
153		154	
155		156	
157		158	
159		160	
161		162	
163		164	

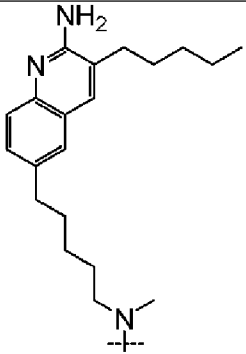
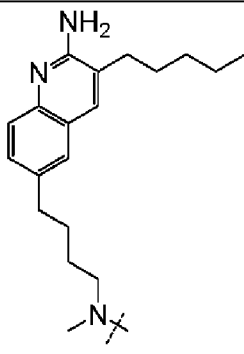
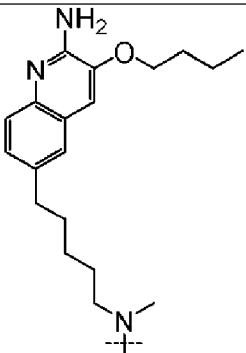
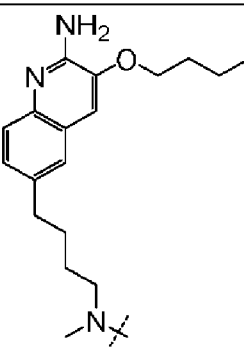
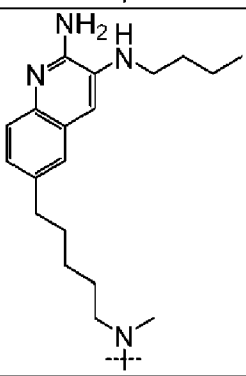
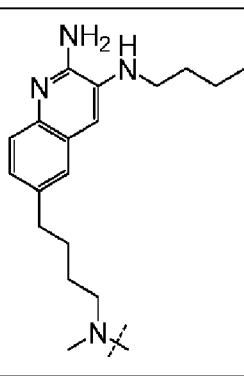
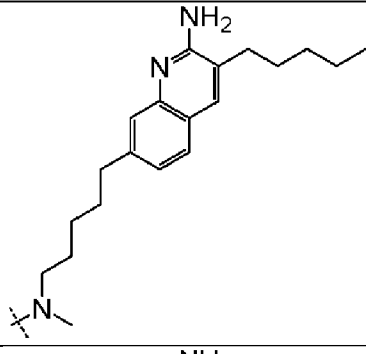
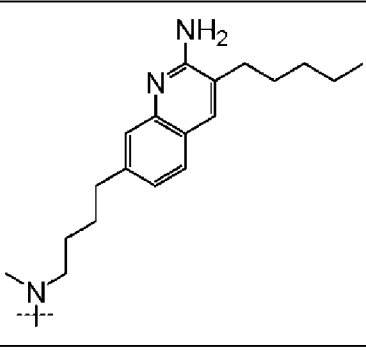
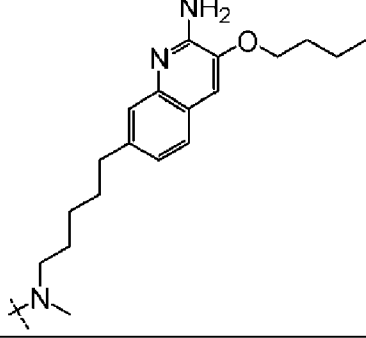
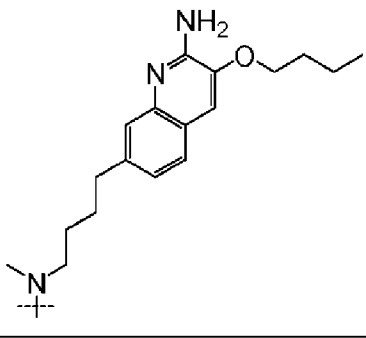
165		166	
167		168	
169		170	
171		172	
173		174	
175		176	
177		178	
179		180	

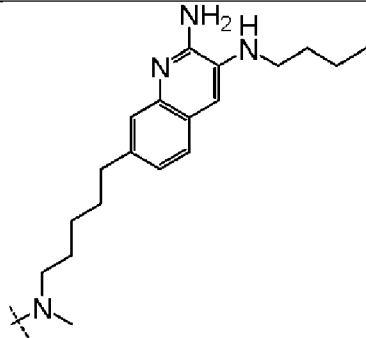
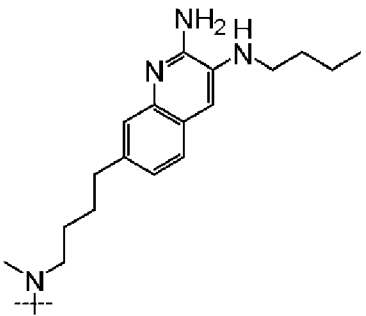
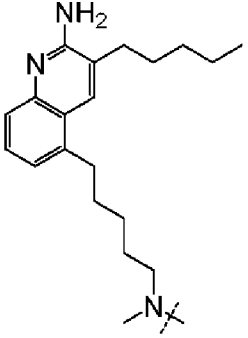
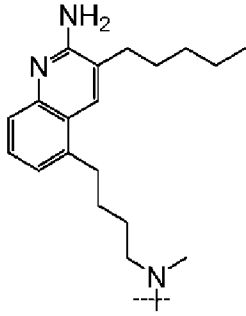
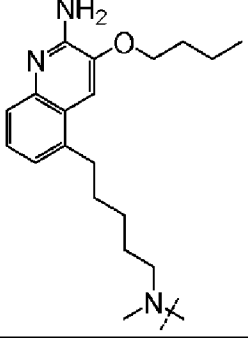
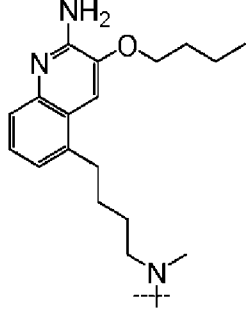
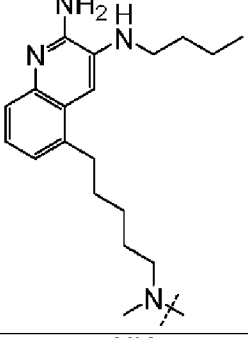
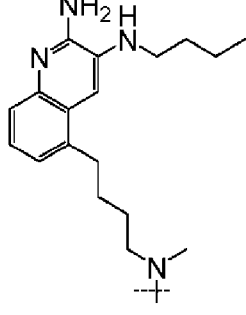
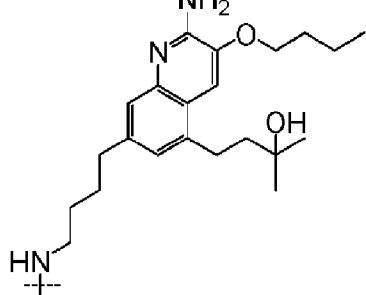
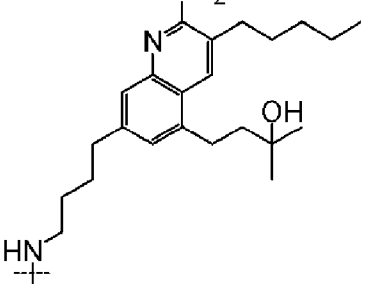
181		182	
183		184	
185		186	
187		188	
189		190	

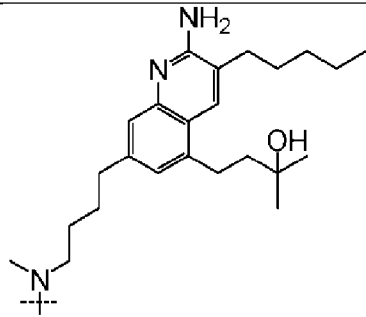
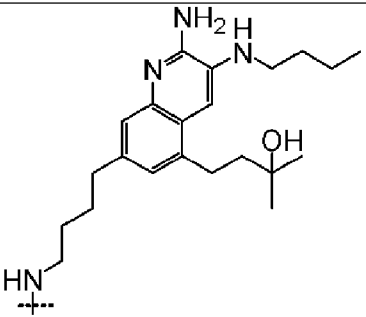
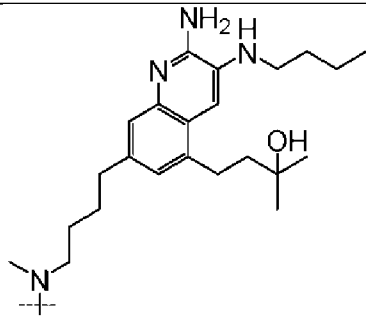
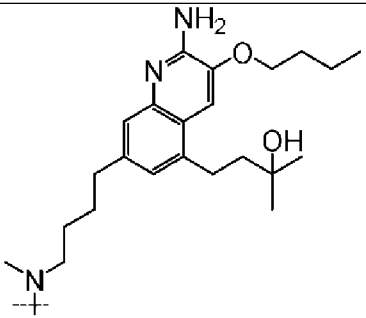
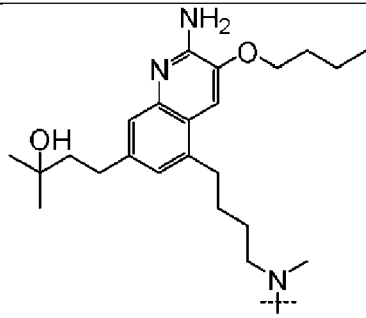
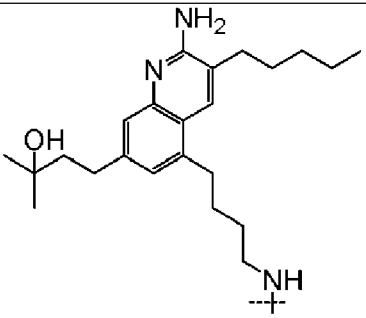
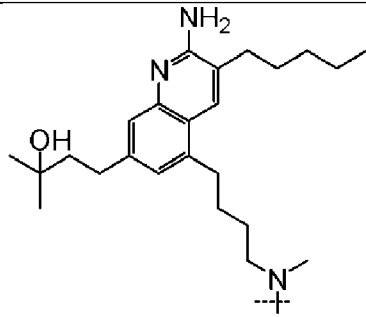
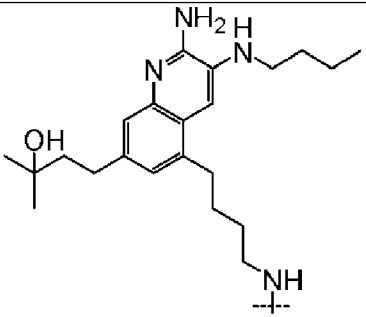
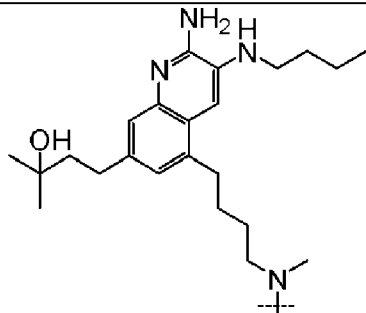
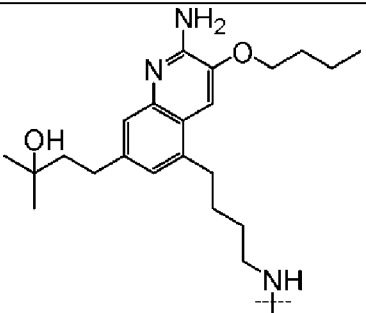
191		192	
193		194	
195		196	
197		198	
199		200	

201		202	
203		204	
205		206	
207		208	
209		210	

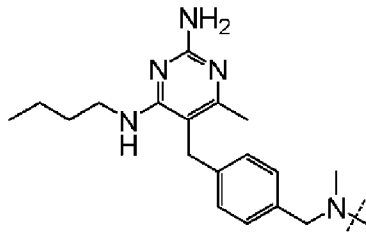
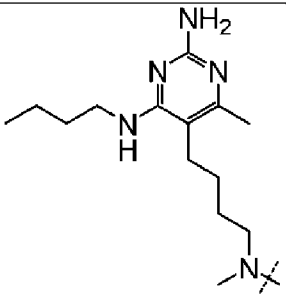
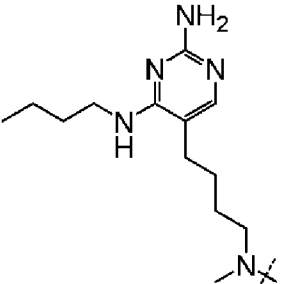
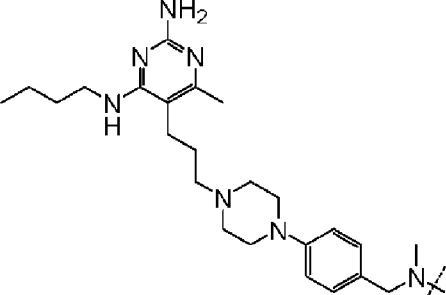
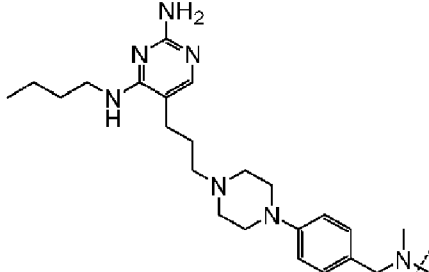
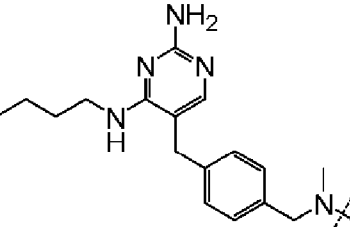
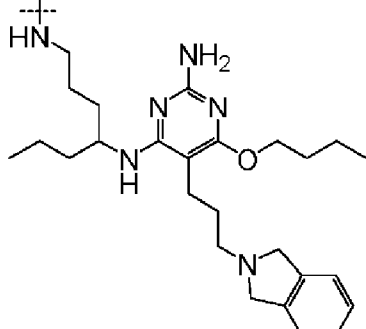
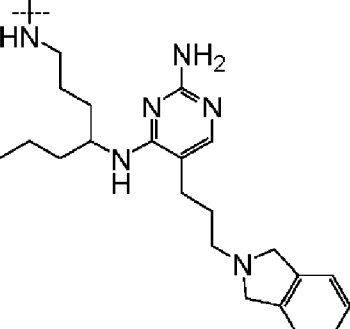
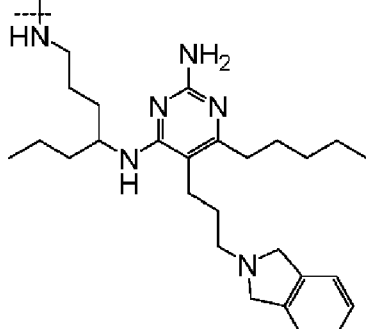
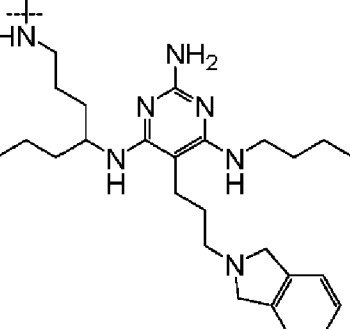
211		212	
213		214	
215		216	
217		218	
219		220	

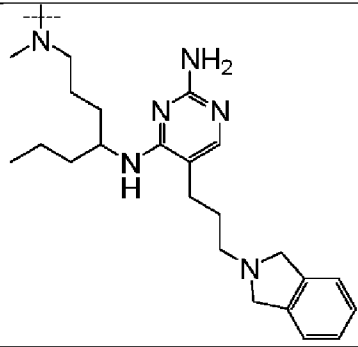
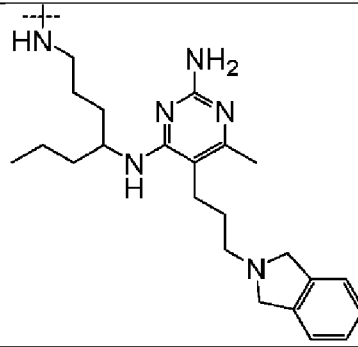
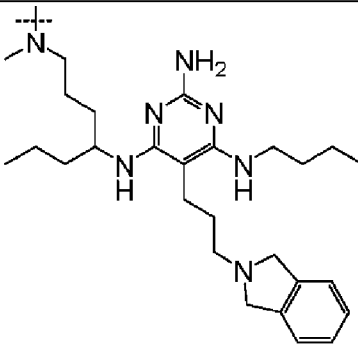
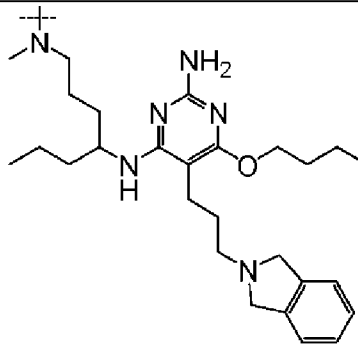
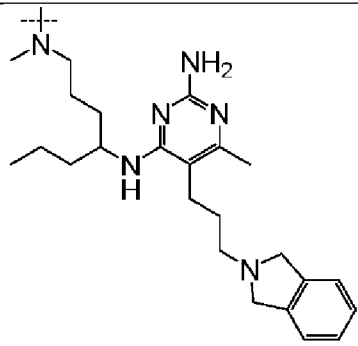
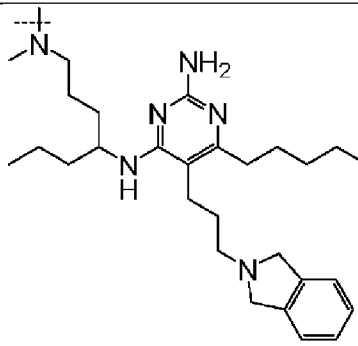
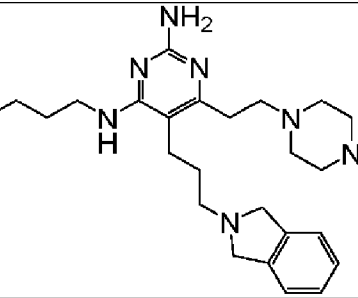
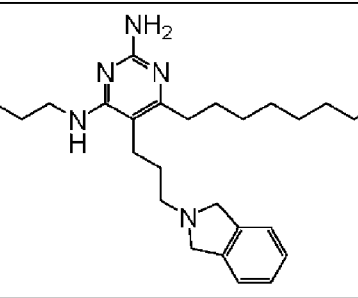
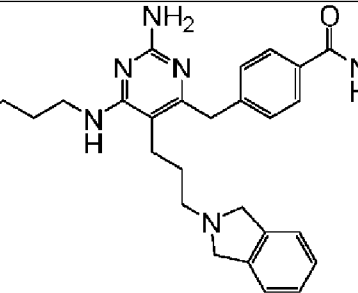
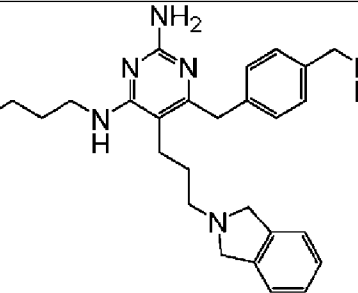
221		222	
223		224	
225		226	
227		228	
229		230	

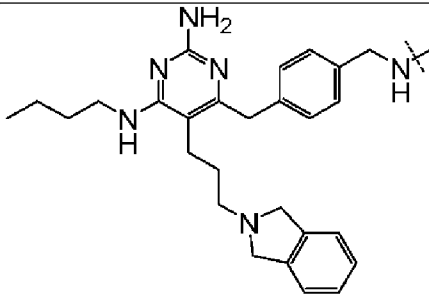
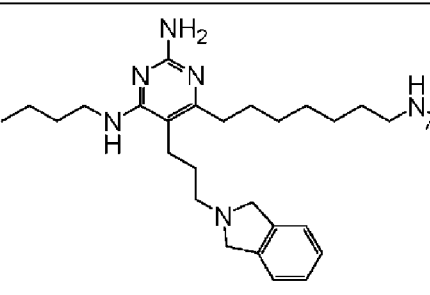
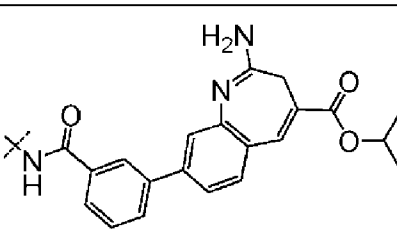
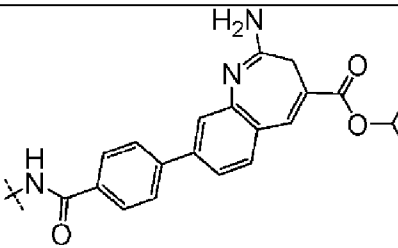
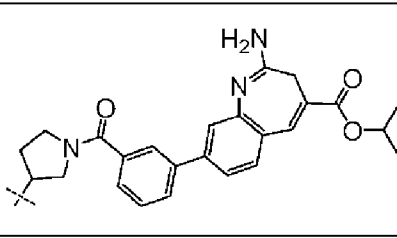
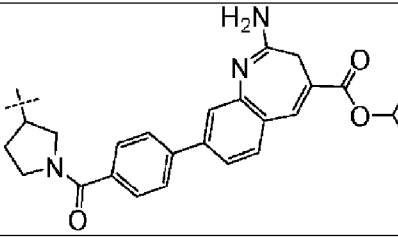
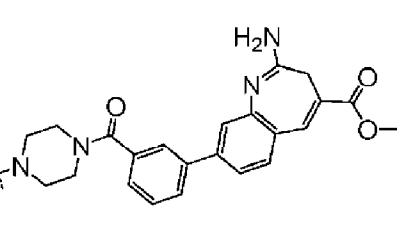
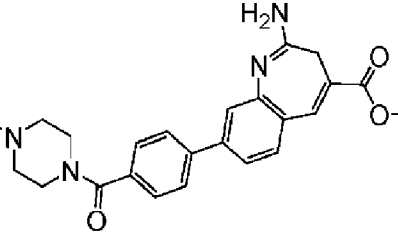
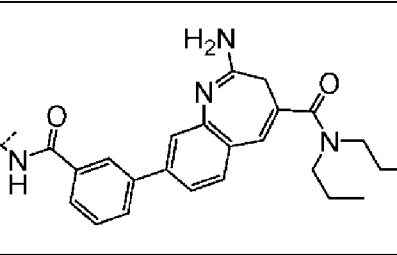
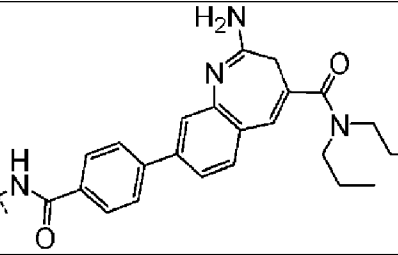
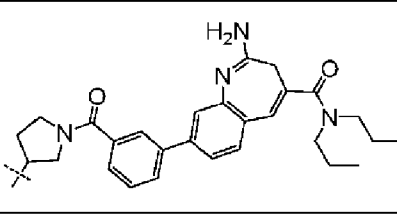
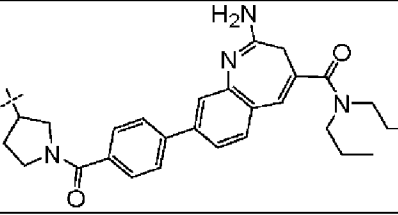
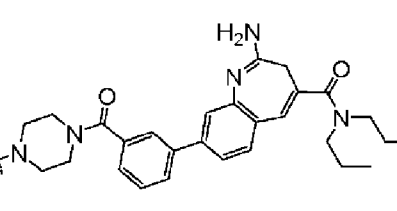
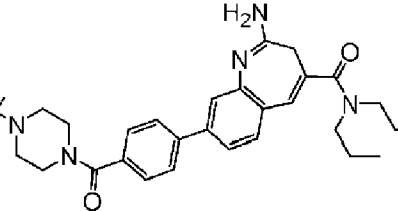
231		232	
233		234	
235		236	
237		238	
239		240	

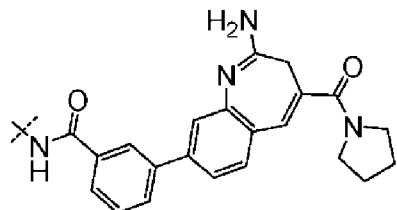
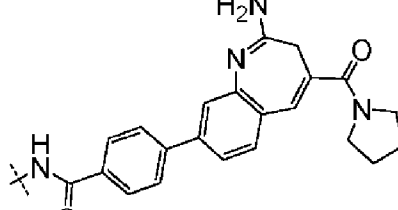
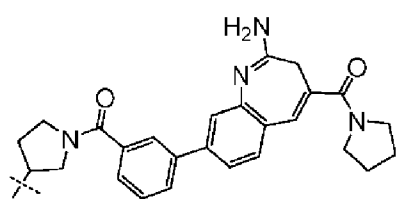
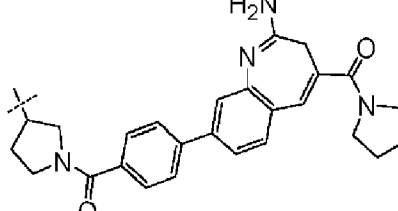
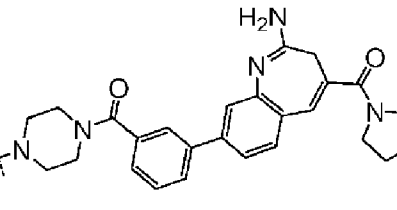
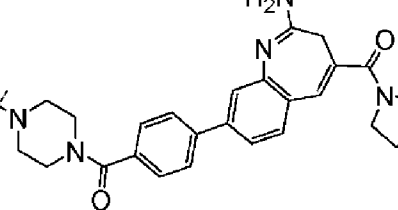
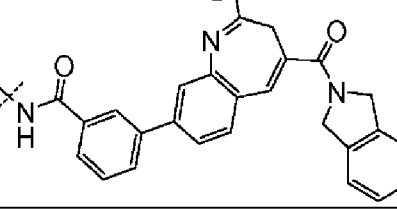
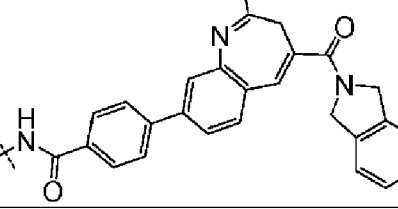
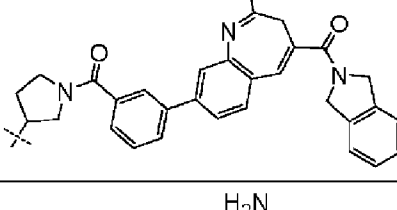
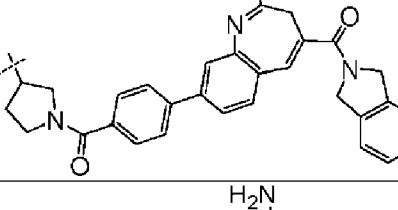
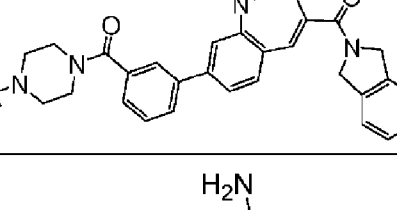
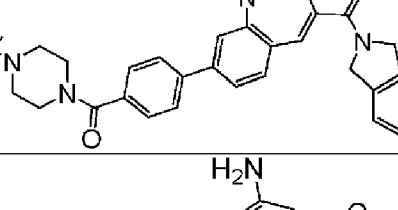
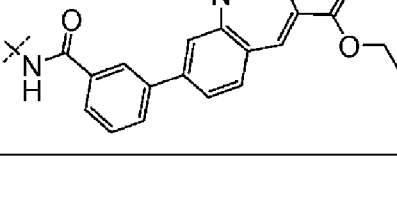
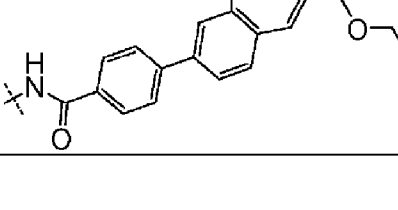
241		242	
243		244	
245		246	
247		248	
249		250	

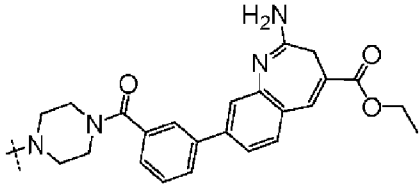
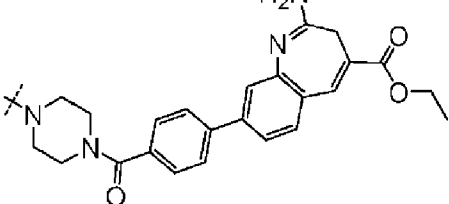
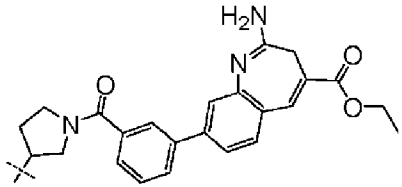
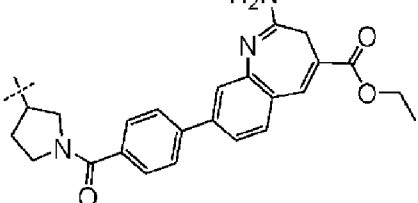
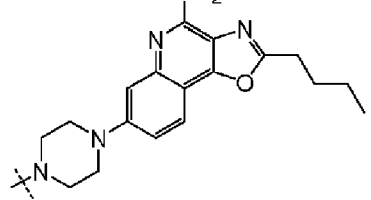
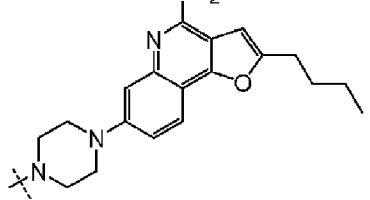
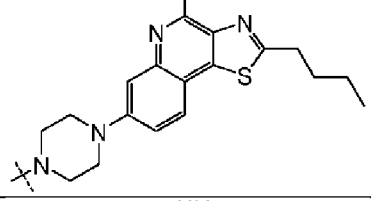
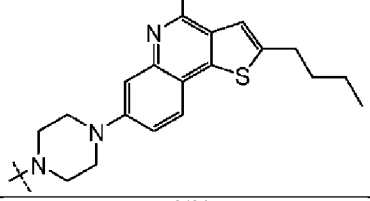
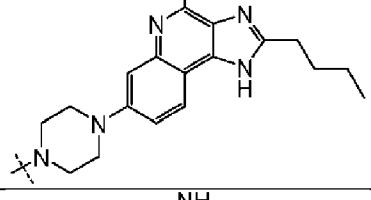
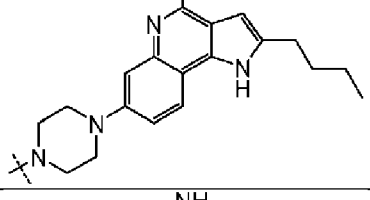
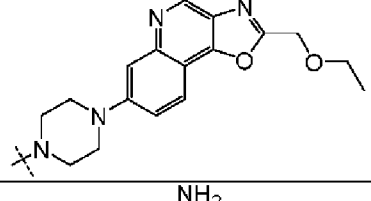
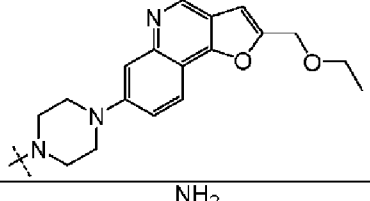
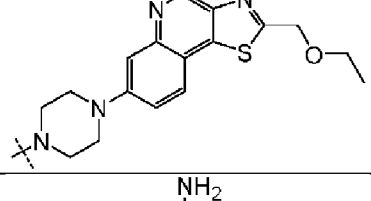
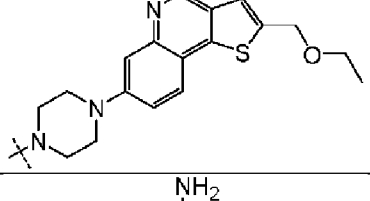
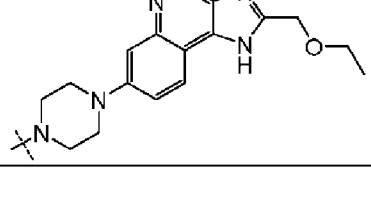
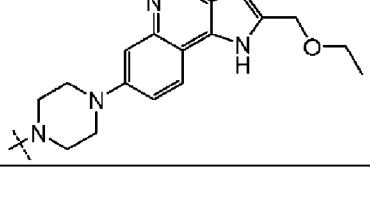
251		252	
253		254	
255		256	
257		258	
259		260	

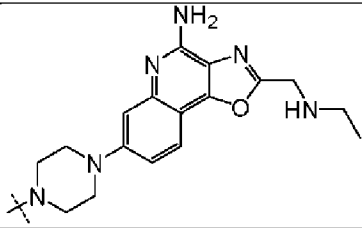
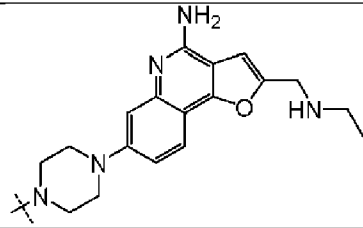
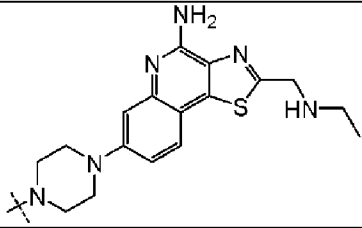
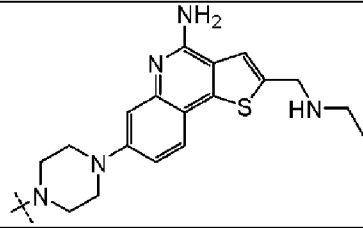
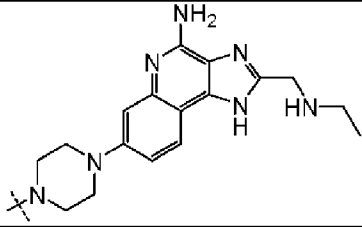
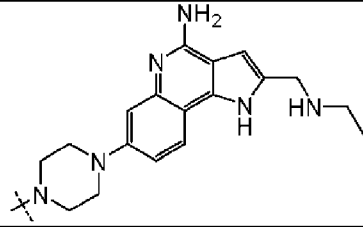
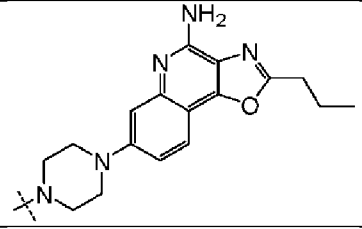
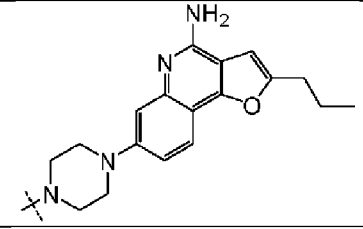
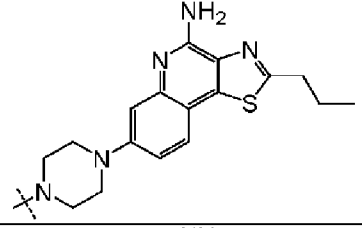
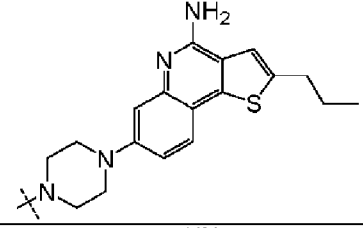
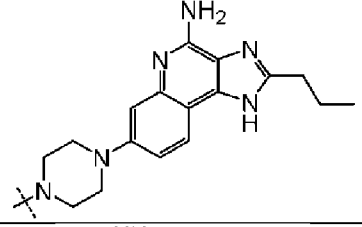
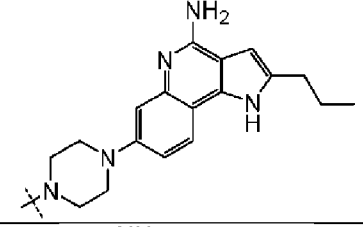
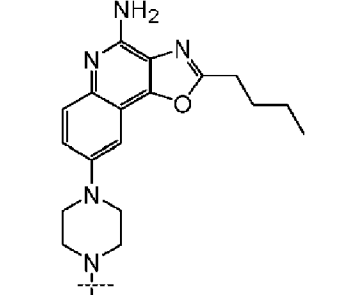
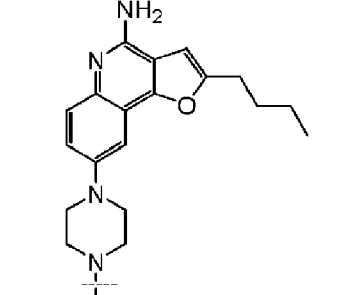
261		262	
263		264	
265		266	
267		268	
269		270	

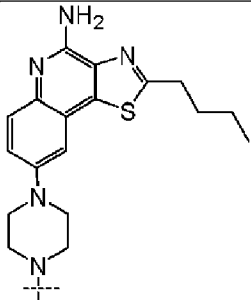
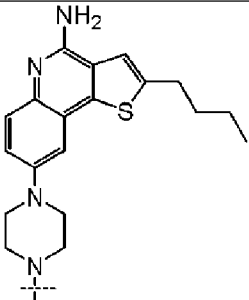
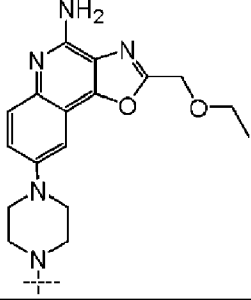
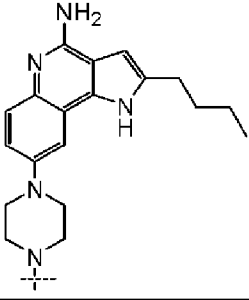
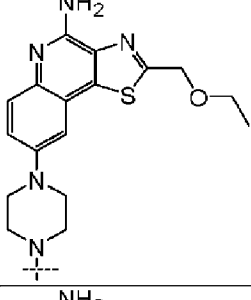
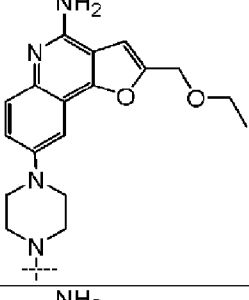
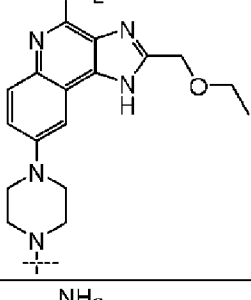
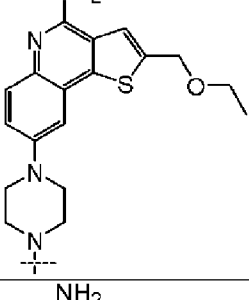
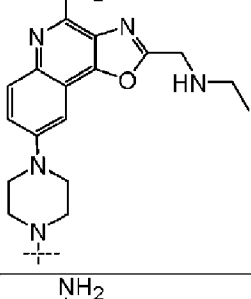
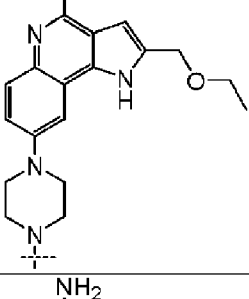
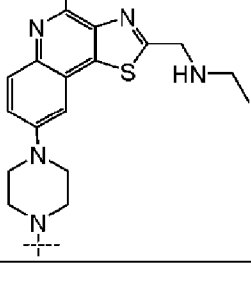
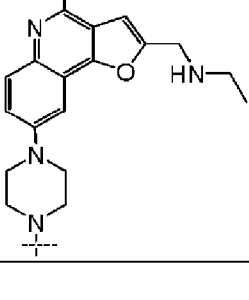
271		272	
273		274	
275		276	
277		278	
279		280	

281		282	
283		284	
285		286	
287		288	
289		290	
291		292	
293		294	

295		296	
297		298	
299		300	
301		302	
303		304	
305		306	
307		308	

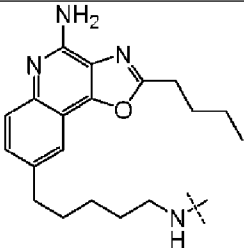
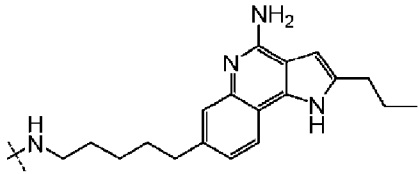
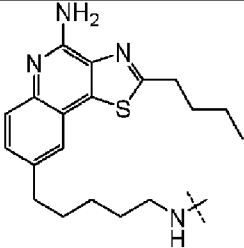
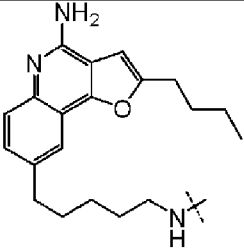
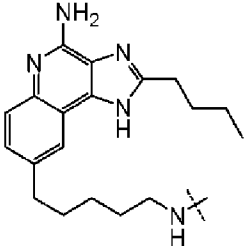
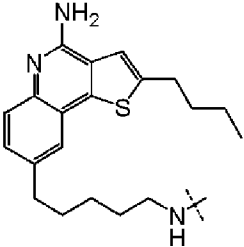
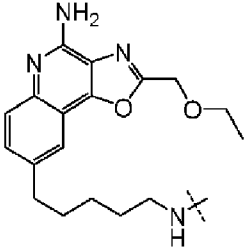
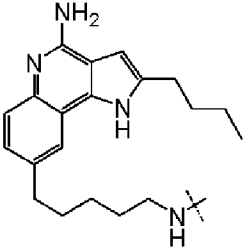
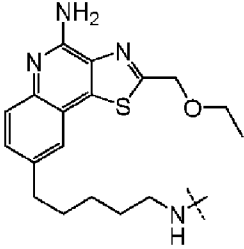
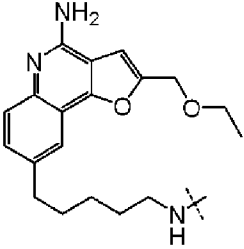
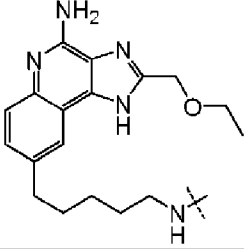
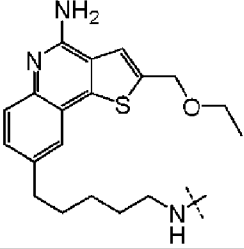
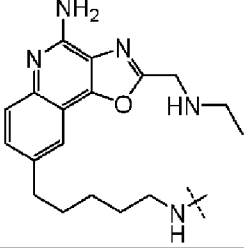
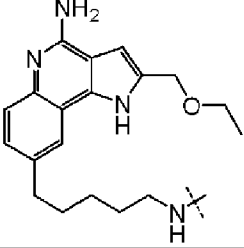
309		310	
311		312	
313		314	
315		316	
317		318	
319		320	
321		322	
323		324	

325		326	
327		328	
329		330	
331		332	
333		334	
335		336	
337		338	

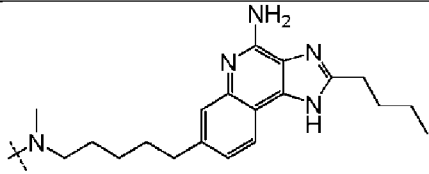
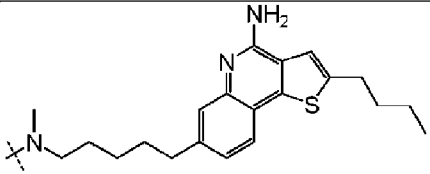
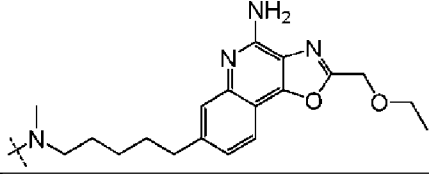
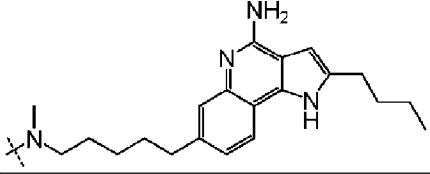
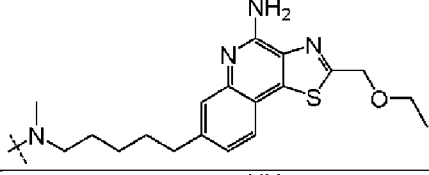
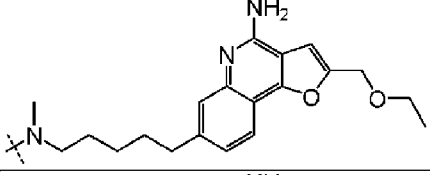
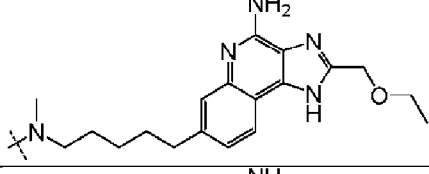
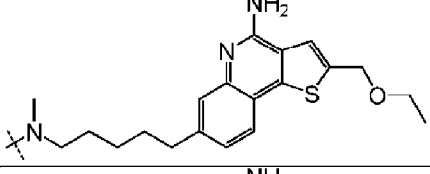
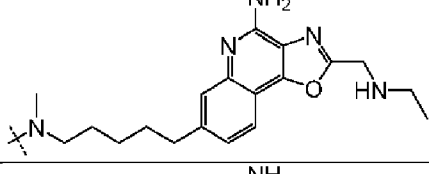
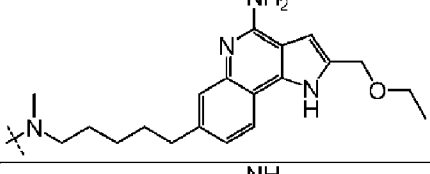
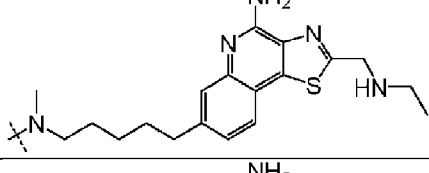
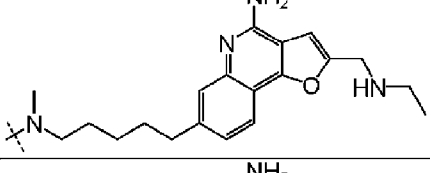
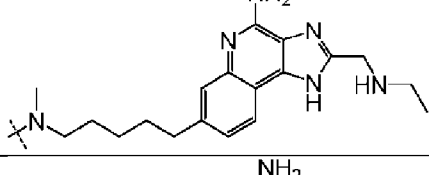
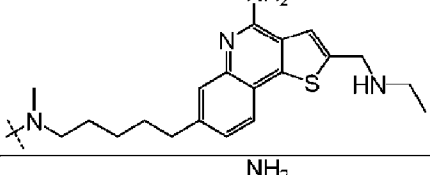
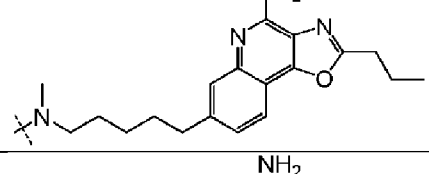
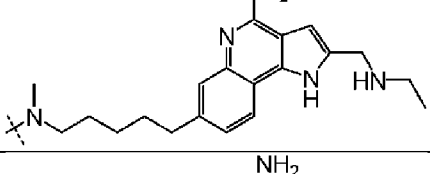
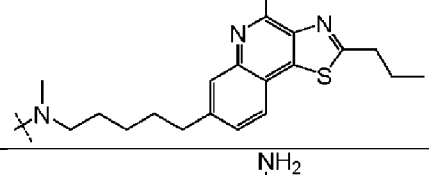
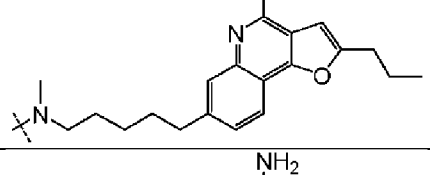
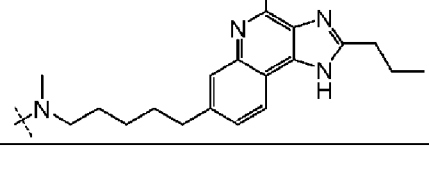
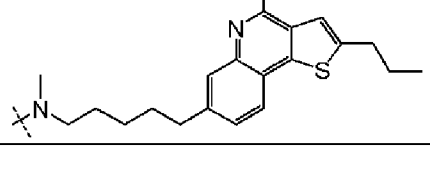
339		340	
341		342	
343		344	
345		346	
347		348	
349		350	

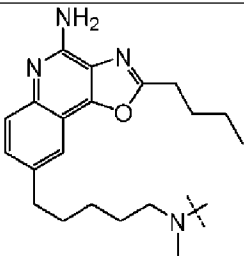
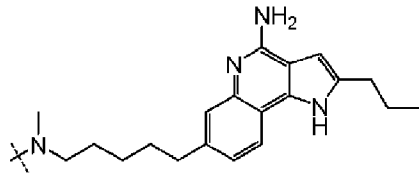
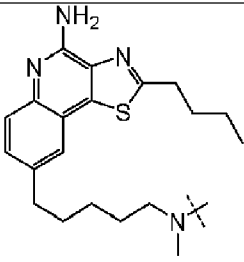
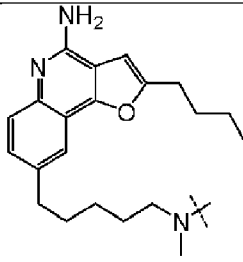
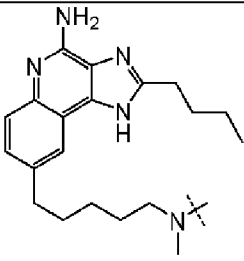
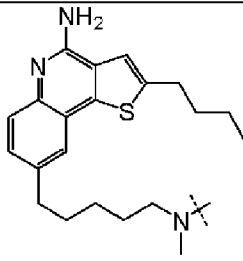
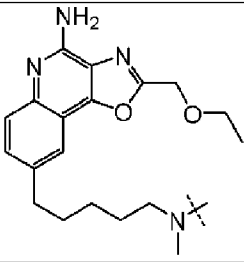
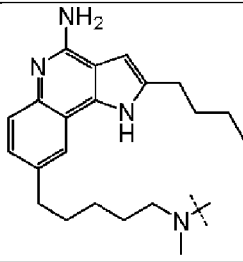
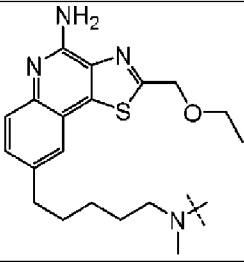
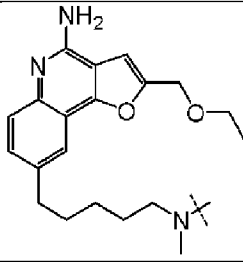
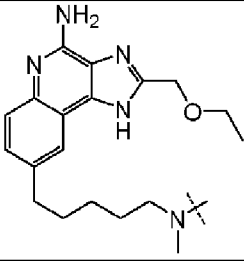
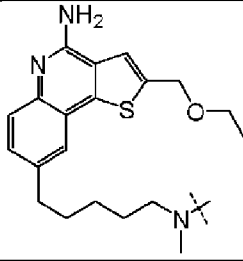
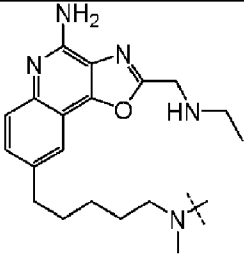
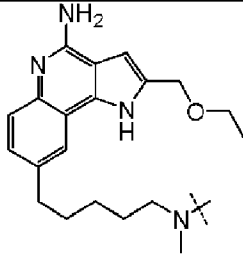
351		352	
353		354	
355		356	
357		358	
359		360	
361		362	

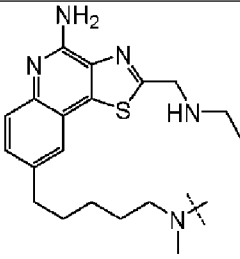
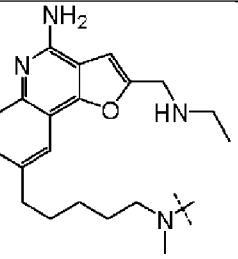
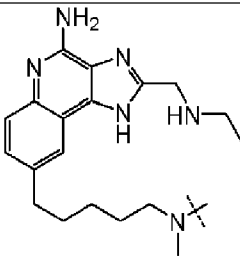
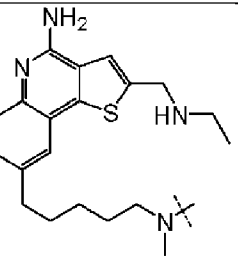
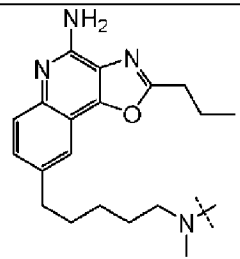
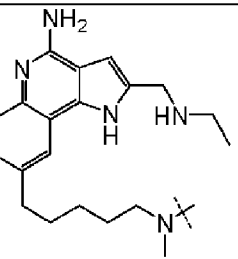
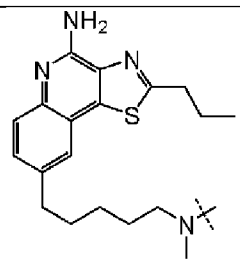
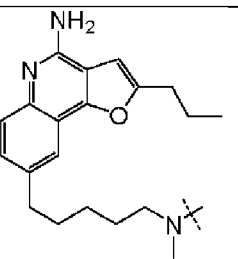
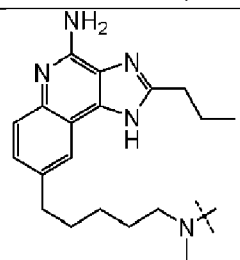
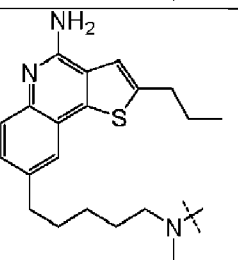
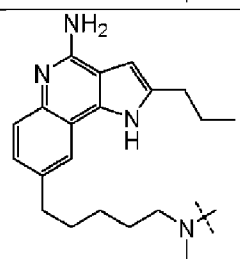
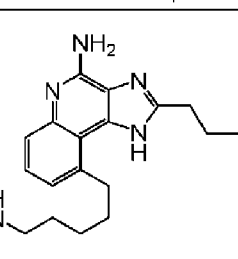
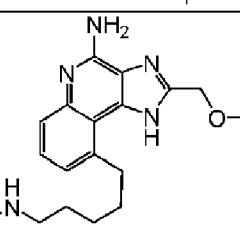
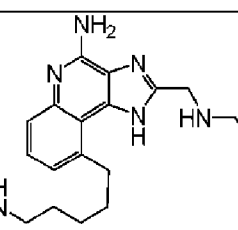
363		364	
365		366	
367		368	
369		370	
371		372	
373		374	
375		376	
377		378	
379		380	
381		382	

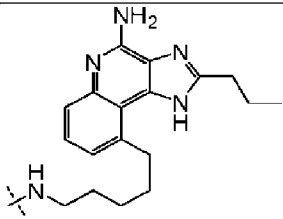
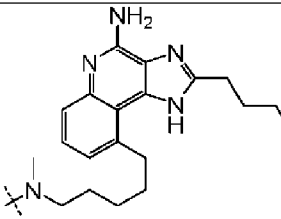
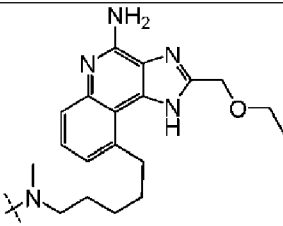
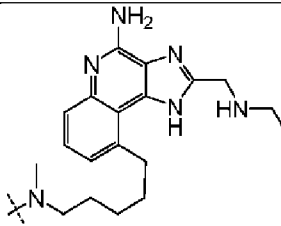
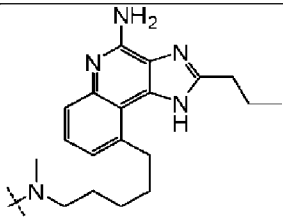
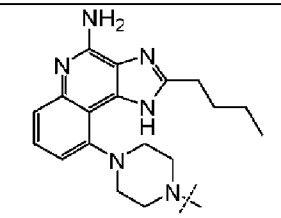
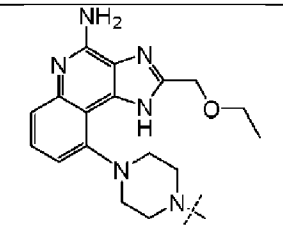
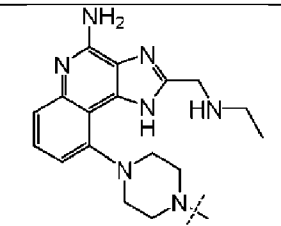
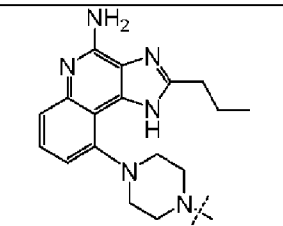
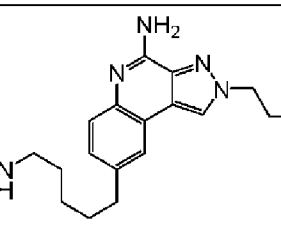
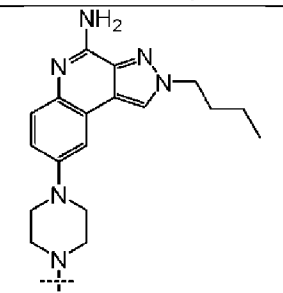
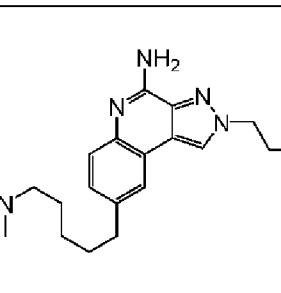
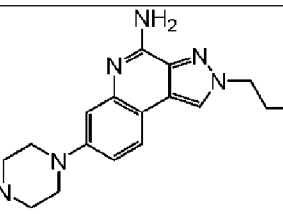
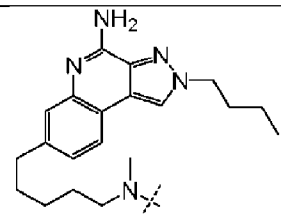
383		384	
385		386	
387		388	
389		390	
391		392	
393		394	
395		396	

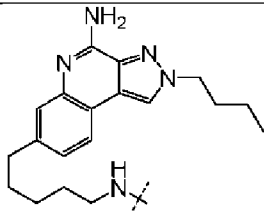
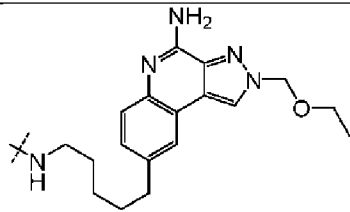
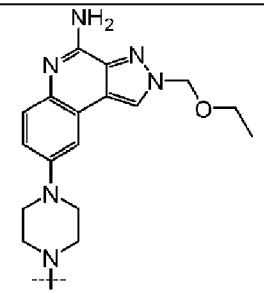
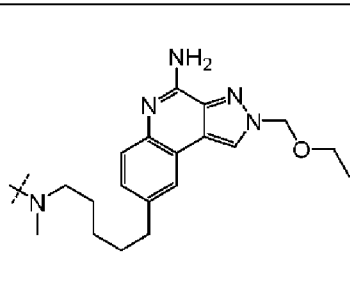
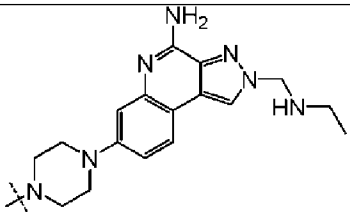
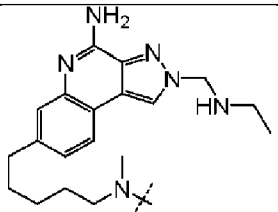
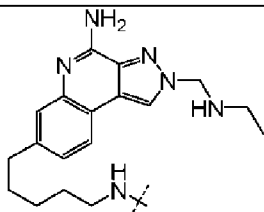
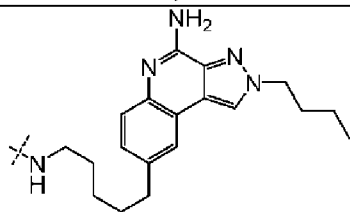
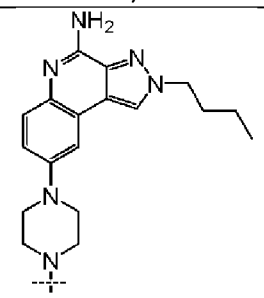
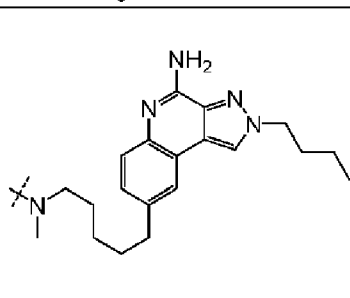
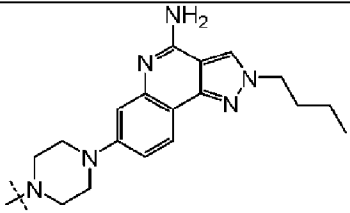
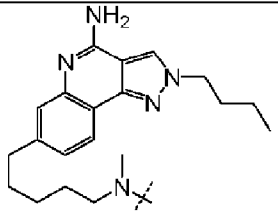
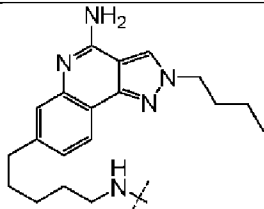
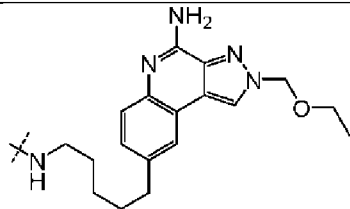
397		398	
399		400	
401		402	
403		404	
405		406	
407		408	
409		410	

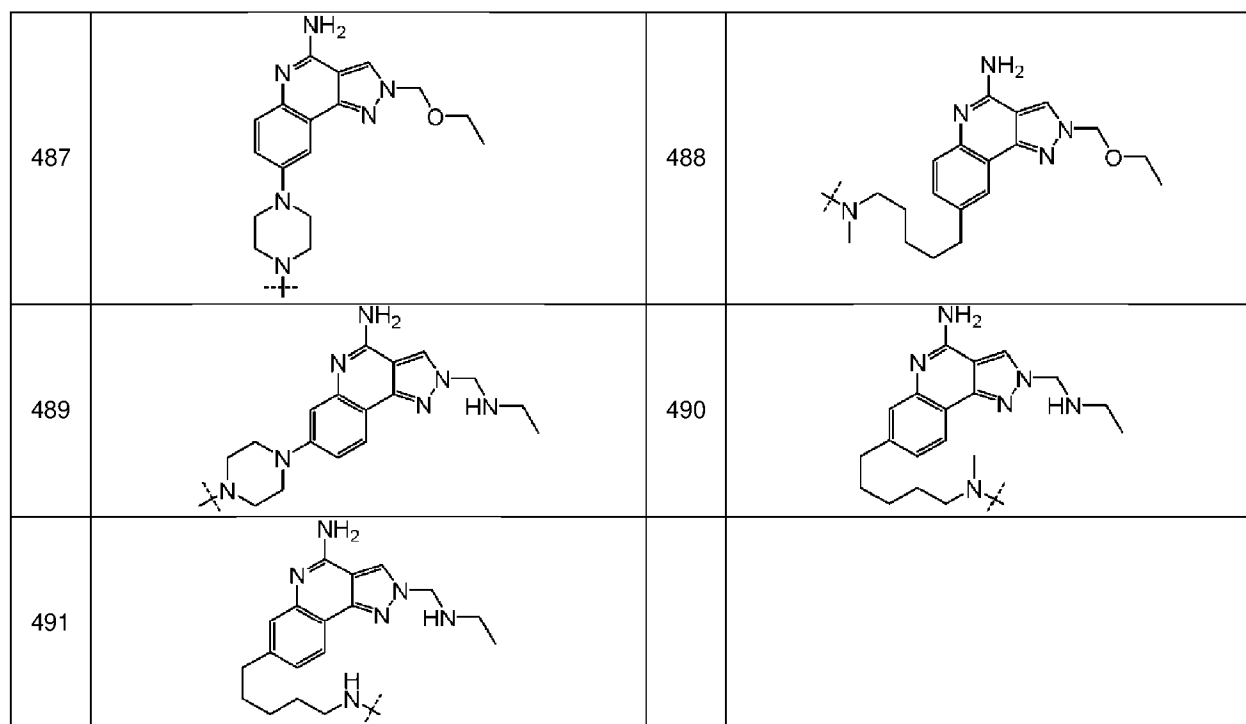
411		412	
413		414	
415		416	
417		418	
419		420	
421		422	
423		424	
425		426	
427		428	
429		430	

431		432	
433		434	
435		436	
437		438	
439		440	
441		442	
443		444	

445		446	
447		448	
449		450	
451		452	
453		454	
455		456	
457		458	

459		460	
461		462	
463		464	
465		466	
467		468	
469		470	
471		472	

473		474	
475		476	
477		478	
479		480	
481		482	
483		484	
485		486	



en donde la línea discontinua ("---") representa el punto de unión del adyuvante al espaciador.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un adyuvante como se define por los restos adyuvantes descritos en el presente documento, en donde la línea discontinua ("---") representa un punto de unión del resto adyuvante a un hidrógeno. Sin desear estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que si un resto adyuvante tiene actividad como parte de un inmunocombinado descrito en el presente documento, el resto adyuvante también será activo como un adyuvante. Alternativamente, el resto adyuvante puede no ser activo como parte de un inmunocombinado descrito en el presente documento, pero será activo como un adyuvante. Por consiguiente, los adyuvantes pueden usarse como un agente terapéutico independiente, o en terapias de combinación. Por ejemplo, los adyuvantes pueden usarse en terapias dirigidas a un receptor de tipo toll (p. ej., TLR7 y/o TLR8).

En algunas realizaciones, un inmunocombinado de la invención que comprende un resto adyuvante, en donde el resto adyuvante contiene un núcleo de adyuvante unido a un conector en la ubicación R_c , tiene una actividad adyuvante de al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 15 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 25 veces, al menos aproximadamente 30 veces, al menos aproximadamente 35 veces, al menos aproximadamente 40 veces, al menos aproximadamente 45 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 60 veces, al menos aproximadamente 70 veces, al menos aproximadamente 80 veces, al menos aproximadamente 90 veces, o al menos aproximadamente 100 veces mayor que la actividad adyuvante del mismo inmunocombinado salvo por el núcleo de adyuvante unido al conector en el grupo amino colgante del resto de nitrógeno 2-amino en condiciones por lo demás idénticas. Como se usa en el presente documento, "actividad adyuvante" es una medida cuantitativa de la capacidad del resto adyuvante (es decir, que comprende el núcleo de adyuvante y el asa sintética) del inmunocombinado para unirse a su receptor.

La actividad adyuvante se determina usando células HEK293 que se cotransfectan con TLR7 o TLR8 humano o TLR7 murino y un gen indicador de fosfatasa alcalina embrionaria secretada inducible bajo el control del promotor mínimo de IFN- β fusionado a los sitios de unión de NF- κ B y AP-1. Las células se incuban posteriormente con diluciones seriadas de 2 veces de cada uno de los adyuvantes indicados durante 12 horas a 37 °C en presencia de un sustrato de fosfatasa alcalina. La actividad se midió por espectrofotometría (DO 650 nm).

En algunas realizaciones, un inmunocombinado de la invención que comprende un resto adyuvante, en donde el resto adyuvante contiene un núcleo de adyuvante unido a un conector en la ubicación R_c , tiene una actividad adyuvante de al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 15 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 25 veces, al menos

aproximadamente 30 veces, al menos aproximadamente 35 veces, al menos aproximadamente 40 veces, al menos aproximadamente 45 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 60 veces, al menos aproximadamente 70 veces, al menos aproximadamente 80 veces, al menos aproximadamente 90 veces, o al menos aproximadamente 100 veces mayor que la actividad adyuvante del mismo inmunocombinado salvo por el núcleo de adyuvante unido al conector en la ubicación R_H bajo condiciones por lo demás idénticas.

En algunas realizaciones, un inmunocombinado de la invención que comprende un resto adyuvante, en donde el resto adyuvante contiene un núcleo de adyuvante unido a un conector en la ubicación R_C, tiene una actividad adyuvante de al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90% o al menos aproximadamente 95% de la actividad adyuvante del resto adyuvante en ausencia de un anticuerpo y un conector en condiciones por lo demás idénticas.

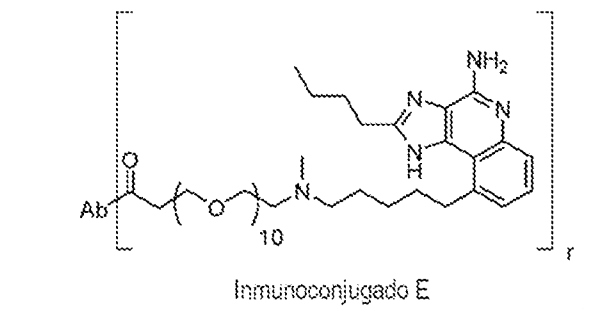
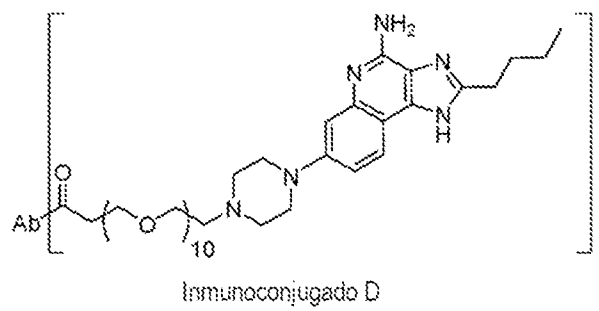
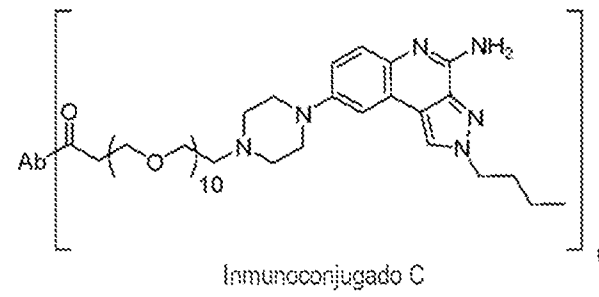
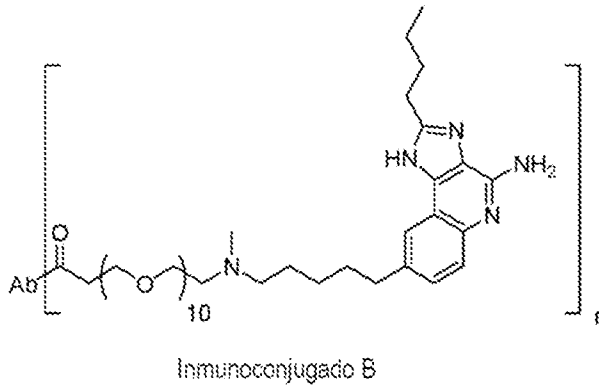
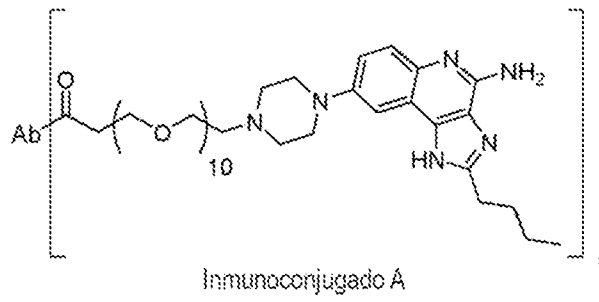
En algunas realizaciones, un inmunocombinado de la invención que comprende un resto adyuvante, en donde el resto adyuvante contiene un núcleo de adyuvante unido a un conector en la ubicación R_C, tiene una actividad de inmunocombinado de al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 15 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 25 veces, al menos aproximadamente 30 veces, al menos aproximadamente 35 veces, al menos aproximadamente 40 veces, al menos aproximadamente 45 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 60 veces, al menos aproximadamente 70 veces, al menos aproximadamente 80 veces, al menos aproximadamente 90 veces, o al menos aproximadamente 100 veces mayor que la actividad de inmunocombinado del mismo inmunocombinado salvo por el núcleo de adyuvante unido al conector en el grupo amino colgante del resto de nitrógeno 2-amino en condiciones por lo demás idénticas. Como se usa en el presente documento, "actividad de inmunocombinado" es una medida cuantitativa de la capacidad del inmunocombinado para producir una respuesta inmunitaria innata.

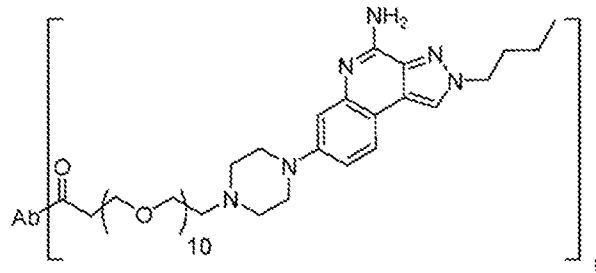
La actividad del inmunocombinado se determina utilizando células presentadoras de antígeno (APC) humanas que se seleccionan negativamente de células mononucleares de sangre periférica humana obtenidas de donantes de sangre sanos (Stanford Blood Center) mediante centrifugación en gradiente de densidad utilizando un cóctel de enriquecimiento de monocitos humanos RosetteSep (Stem Cell Technologies) que contiene anticuerpos monoclonales contra CD14, CD16, CD40, CD86, CD123 y HLA-DR. Las APC inmaduras se purifican posteriormente hasta una pureza >97% mediante selección negativa usando un kit de enriquecimiento de monocitos humanos EasySep sin agotamiento de CD16 que contiene anticuerpos monoclonales contra CD14, CD16, CD40, CD86, CD123 y HLA-DR. Se incuban 2×10^5 APC con o sin 6.5×10^5 células tumorales marcadas con CFSE autólogas o alogénicas en placas de 96 pocillos (Corning) que contienen medio IMDM (Gibco) complementado con suero bovino fetal al 10%, penicilina 100 U/ml, estreptomina 100 µg/ml, L-glutamina 2 mM, piruvato sódico, aminoácidos no esenciales, 2-ME 50 µM y, cuando se indique, diversas concentraciones de anticuerpo. Las células y los líquidos sobrenadantes exentos de células se analizan después de 18 horas mediante citometría de flujo.

En algunas realizaciones, un inmunocombinado de la invención que comprende un resto adyuvante, en donde el resto adyuvante contiene un núcleo de adyuvante unido a un conector en la ubicación R_C, tiene una actividad de inmunocombinado que es al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 15 veces, al menos aproximadamente 20 veces, al menos aproximadamente 25 veces, al menos aproximadamente 30 veces, al menos aproximadamente 35 veces, al menos aproximadamente 40 veces, al menos aproximadamente 45 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 60 veces, al menos aproximadamente 70 veces, al menos aproximadamente 80 veces, al menos aproximadamente 90 veces, o al menos aproximadamente 100 veces mayor que la actividad de inmunocombinado del mismo inmunocombinado salvo por el núcleo de adyuvante unido al conector en la localización R_H bajo condiciones por lo demás idénticas.

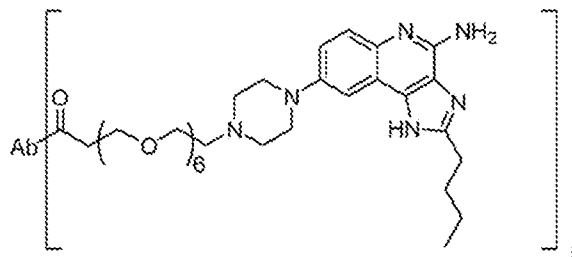
En algunas realizaciones, un inmunocombinado de la invención que comprende un resto adyuvante, en donde el resto adyuvante contiene un núcleo de adyuvante unido a un conector en la ubicación R_C, tiene una actividad de inmunocombinado de al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 100%, al menos aproximadamente 125%, al menos aproximadamente 150%, al menos aproximadamente 175%, al menos aproximadamente 200%, al menos aproximadamente 250%, o al menos aproximadamente 300% la actividad de inmunocombinado de una mezcla que comprende el resto adyuvante y el anticuerpo en ausencia de unión en condiciones por lo demás idénticas.

En algunos ejemplos, la descripción proporciona un inmunocombinado de fórmula:

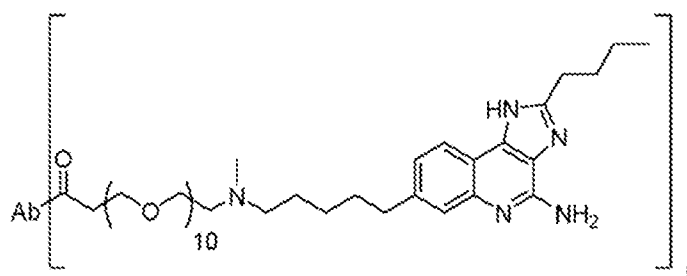




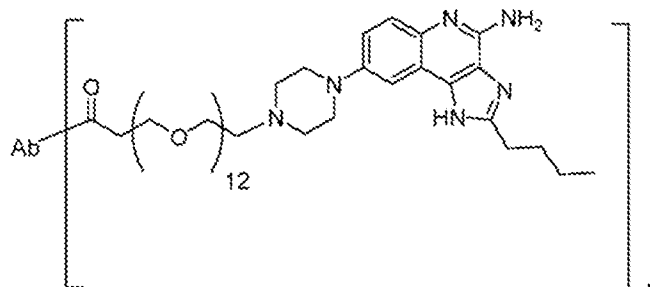
Inmunoconjugado F



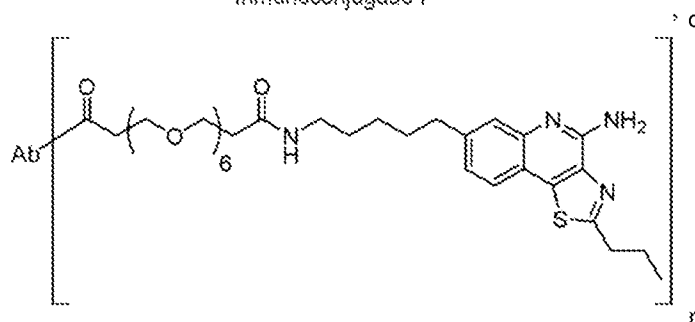
Inmunoconjugado G



Inmunoconjugado H



Inmunoconjugado I



Inmunoconjugado J

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el subíndice r es un número entero de 1 a 10 y "Ab" es una construcción de anticuerpo descrita en el presente documento. En ciertas realizaciones, el subíndice r es un número entero de 1 a 4 (es decir, 1, 2, 3 o 4).

Formulación y administración de inmunoconjugados

En un aspecto relacionado, la invención proporciona una composición que comprende una pluralidad de inmunoconjugados como se define en las reivindicaciones adjuntas. En algunas realizaciones, el número medio de restos adyuvantes por inmunoconjugado varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 8. El número medio de restos adyuvantes por inmunoconjugado puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 8, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 6, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 4. El número medio de restos adyuvantes por inmunoconjugado puede ser de aproximadamente 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2, 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3, 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 4.0 o 4.2. En algunas realizaciones, el número medio de restos adyuvantes por inmunoconjugado es de aproximadamente 4. En algunas realizaciones, el número medio de restos adyuvantes por inmunoconjugado es de aproximadamente 2. En algunos casos, el anticuerpo está unido covalentemente a un único resto adyuvante. En algunos casos, el anticuerpo está unido covalentemente a 2 o más restos adyuvantes (p. ej., 3 o más, 4 o más, o 5 o más restos adyuvantes) a través de un conector. En algunos casos, el anticuerpo está unido covalentemente a 1-8 restos adyuvantes (p. ej., 1-5, 1-3, 2-8, 2-5, 2-3 o 3-8 restos adyuvantes) a través de un conector. En algunos casos, el anticuerpo está unido covalentemente a 2-8 restos adyuvantes (p. ej., 2-5, 2-3 o 3-8 restos adyuvantes). En algunos casos en los que el anticuerpo está unido covalentemente a más de un resto adyuvante, los restos adyuvantes unidos pueden ser iguales o diferentes. Por ejemplo, en algunos casos, dos o más de los restos adyuvantes pueden ser iguales (p. ej., dos moléculas diferentes del mismo resto adyuvante pueden estar unidas al anticuerpo en un sitio diferente en el anticuerpo). En algunos casos, el anticuerpo está unido covalentemente a 2 o más restos adyuvantes diferentes (p. ej., 3 o más, 4 o más, o 5 o más restos adyuvantes diferentes). Por ejemplo, cuando se genera un inmunoconjugado de la invención, uno o más anticuerpos pueden combinarse con una mezcla que incluye dos o más (p. ej., 3 o más, 4 o más, o 5 o más) compuestos de adyuvante-conector diferentes de manera que cadenas laterales de aminoácidos en el uno o más anticuerpos reaccionan con los compuestos de adyuvante-conector, dando como resultado de este modo uno o más inmunoconjugados que están unidos cada uno covalentemente a dos o más restos adyuvantes diferentes.

En algunas realizaciones, la composición comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, los inmunoconjugados de la invención pueden formularse para administración parenteral, tal como administración intravenosa (IV) o administración en una cavidad corporal o luz de un órgano. Alternativamente, los inmunoconjugados pueden inyectarse por vía intratumoral. Las formulaciones para inyección comprenderán comúnmente una solución del inmunoconjugado disuelto en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están agua y solución de Ringer, un cloruro sódico isotónico. Además, pueden emplearse convencionalmente aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo blando incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, pueden usarse igualmente ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables. Estas soluciones son estériles y generalmente exentas de materia indeseable. Estas formulaciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas. Las formulaciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas tales como agentes reguladores del pH y de tamponamiento, agentes reguladores de la toxicidad, p. ej., acetato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, lactato de sodio y similares. La concentración del inmunoconjugado en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionará principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal, y similares, según el modo particular de administración seleccionado y las necesidades del paciente. En ciertas realizaciones, la concentración de un inmunoconjugado en una formulación en solución para inyección variará de aproximadamente 0.1% (p/p) a aproximadamente 10% (p/p).

En otro aspecto, la invención proporciona un inmunoconjugado de la invención o una composición de la invención para usar en el tratamiento del cáncer. El uso en el tratamiento del cáncer incluye, comprende, administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del inmunoconjugado (p. ej., como la composición como se define en las reivindicaciones adjuntas) a un sujeto que lo necesita. Por ejemplo, el uso en el tratamiento del cáncer puede incluir administrar el inmunoconjugado para proporcionar una dosis de aproximadamente 100 ng/kg a aproximadamente 50 mg/kg al sujeto. La dosis de inmunoconjugado puede variar de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 5 mg/kg, o de aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 1 mg/kg. La dosis de inmunoconjugado puede ser de aproximadamente 100, 200, 300, 400 o 500 µg/kg. La dosis de inmunoconjugado puede ser de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg. La dosis de inmunoconjugado puede encontrarse también fuera de estos intervalos, dependiendo del conjugado particular así como del tipo y gravedad del cáncer que se está tratando. La frecuencia de administración puede variar de una dosis única a múltiples dosis por semana, o más frecuentemente. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado se administra de aproximadamente una vez al mes a aproximadamente cinco veces a la semana. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado se administra una vez a la semana.

En otro aspecto, la invención proporciona un inmunoconjugado de la invención o una composición de la invención para usar en la prevención del cáncer. El uso en la prevención del cáncer incluye, comprende, administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del inmunoconjugado (p. ej., como la composición como se define en las reivindicaciones adjuntas) a un sujeto. En ciertas realizaciones, el sujeto es susceptible a que un cierto cáncer sea prevenido. Por ejemplo, los usos en la prevención del cáncer pueden incluir administrar el inmunoconjugado para proporcionar una dosis de aproximadamente 100 ng/kg a aproximadamente 50 mg/kg al sujeto. La dosis de inmunoconjugado puede variar de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente

5 mg/kg, o de aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 1 mg/kg. La dosis de inmunoconjugado puede ser de aproximadamente 100, 200, 300, 400 o 500 µg/kg. La dosis de inmunoconjugado puede ser de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg. La dosis de inmunoconjugado puede encontrarse también fuera de estos intervalos, dependiendo del conjugado particular así como del tipo y gravedad del cáncer que se está tratando. La frecuencia de administración puede variar desde una dosis única a múltiples dosis por semana, o más frecuentemente. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado se administra de aproximadamente una vez al mes a aproximadamente cinco veces a la semana. En algunas realizaciones, el inmunoconjugado se administra una vez a la semana.

Algunas realizaciones de la invención proporcionan un inmunoconjugado de la invención o una composición de la invención para usar en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es un cáncer de cabeza y cuello. El cáncer de cabeza y cuello (así como el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello) se refiere a una variedad de cánceres caracterizados por carcinomas de células escamosas de la cavidad oral, faringe y laringe, glándulas salivales, senos paranasales y cavidad nasal, así como los ganglios linfáticos de la parte superior del cuello. Los cánceres de cabeza y cuello representan aproximadamente de 3 a 5 por ciento de todos los cánceres en los Estados Unidos. Estos cánceres son más comunes en hombres y en personas mayores de 50 años de edad. El tabaco (incluyendo tabaco sin humo) y el consumo de alcohol son los factores de riesgo más importantes para los cánceres de cabeza y cuello, particularmente los de la cavidad oral, orofaringe, hipofaringe y laringe. El ochenta y cinco por ciento de los cánceres de cabeza y cuello están relacionados con el uso del tabaco. En los usos de la invención, los inmunoconjugados se pueden usar para dirigirse a una serie de células malignas. Por ejemplo, los inmunoconjugados se pueden usar para dirigirse a células epiteliales escamosas del labio, cavidad oral, faringe, laringe, cavidad nasal o senos paranasales. Los inmunoconjugados se pueden usar para dirigirse a células de carcinoma mucoepidermoide, células de carcinoma quístico adenoide, células de adenocarcinoma, células cancerosas de células pequeñas no diferenciadas, células de estresioneuroblastoma, células de linfoma de Hodgkin y células de linfoma no Hodgkin. En algunas realizaciones, los usos para tratar el cáncer de cabeza y cuello incluyen administrar un inmunoconjugado que contiene un anticuerpo que es capaz de unirse a EGFR (p. ej., cetuximab, panitumumab, matuzumab y zalutumumab), PD-1 (p. ej., pembrolizumab) y/o MUC1.

Algunas realizaciones de la invención proporcionan un inmunoconjugado de la invención o una composición de la invención para usar en el tratamiento del cáncer, en donde el cáncer es cáncer de mama. El cáncer de mama puede originarse a partir de diferentes zonas en la mama, y se han caracterizado varios tipos diferentes de cáncer de mama. Por ejemplo, los inmunoconjugados de la invención pueden utilizarse para el tratamiento de carcinoma ductal *in situ*; carcinoma ductal invasivo (p. ej., carcinoma tubular; carcinoma medular; carcinoma mucinoso; carcinoma papilar; o carcinoma cribiforme de mama); carcinoma lobular *in situ*; carcinoma lobular invasivo; cáncer de mama inflamatorio; y otras formas de cáncer de mama. En algunas realizaciones, los usos para tratar el cáncer de mama incluyen administrar un inmunoconjugado que contiene un anticuerpo que es capaz de unirse a HER2 (p. ej., trastuzumab, margetuximab), glicoproteína NMB (p. ej., glembatumumab) y/o MUC1.

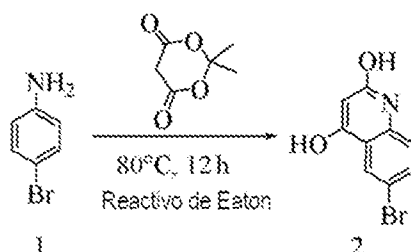
En algunas realizaciones, el cáncer es susceptible a una respuesta antiinflamatoria inducida por TLR7 y/o TLR8.

Los aspectos, incluyendo las realizaciones, de la presente materia descrita en el presente documento pueden ser beneficiosos solos o en combinación, con uno o más aspectos o realizaciones diferentes.

Ejemplos

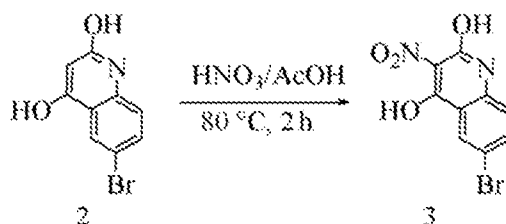
Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención pero, por supuesto, no deben interpretarse como limitantes de su alcance de ninguna manera.

Ejemplo 1: Síntesis del compuesto 2



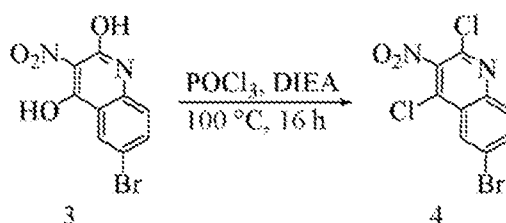
Una mezcla de 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (41.89 g, 290.66 mmol, 1 eq) y 4-bromoanilina (50 g, 290.66 mmol, 1 eq) se agitó (sola) a 80 °C durante 12 horas. Después, la pequeña cantidad restante de acetona se eliminó al vacío. Se añadió reactivo de Eaton (415.15 g, 1.74 mol, 273.12 ml, 6 eq) a la mezcla a 80 °C durante 12 h. Se añadió agua (1000 ml) a esta mezcla mientras se agitaba enérgicamente. El precipitado se filtró, se lavó con H₂O, y se secó al aire para proporcionar un sólido. El sólido se recristalizó en etanol para proporcionar 6-bromoquinolina-2,4-diol (26 g, 108.31 mmol, 37.26% de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (dimetilsulfóxido (DMSO)-d₆, 400 MHz) δ 11.53 (s, 1H), 11.33 (s, 1H), 7.85 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.75 (dd, J = 8.0 Hz, 4.0 Hz, 1H), 7.18-7.24 (m, 1H), 5.75 (s, 1H).

Ejemplo 2: Síntesis del compuesto 3



5 A una solución de ácido nítrico HNO₃ (13.65 g, 216.62 mmol, 9.75 ml, 2 eq) en AcOH (500 ml) se añadió 6-bromoquinolina-2,4-diol (26 g, 108.31 mmol, 1 eq) lentamente a 15 °C. La mezcla se agitó a 80 °C durante 3 horas. La mezcla se enfrió y se inactivó por adición de agua (1000 ml). El producto se separó por filtración y se lavó con agua (100 ml x 3), se secó para dar el producto deseado. El producto bruto 6-bromo-3-nitro-quinolina-2,4-diol (30 g, 105.24 mmol, 97.17% de rendimiento) se obtuvo en forma de un sólido amarillo y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 11.92 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H).

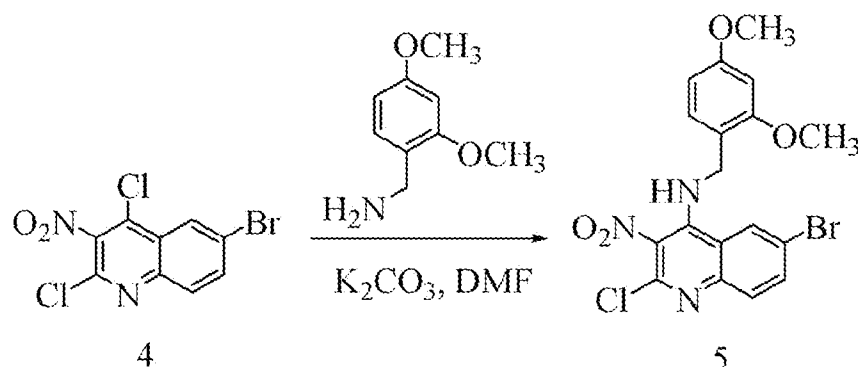
Ejemplo 3: Síntesis del compuesto 4



10 A una mezcla de 6-bromo-3-nitro-quinolina-2,4-diol (30 g, 105.24 mmol, 1 eq) en POCl₃ (484.12 g, 3.16 mol, 293.41 ml, 30 eq) se añadió N,N-diisopropiletilamina (40.81 g, 315.73 mmol, 55.00 ml, 3 eq) lentamente a 15 °C. La mezcla se agitó a 100 °C durante 16 h. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se vertió en agua helada (2000 ml), se filtró y se lavó con H₂O (500 ml x 3), y se secó para proporcionar 6-bromo-2,4-dicloro-3-nitroquinolina (30 g, 93.18 mmol, 88.54% de rendimiento) en forma de un sólido amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8.48 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 8.8, 2.0 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H).

15

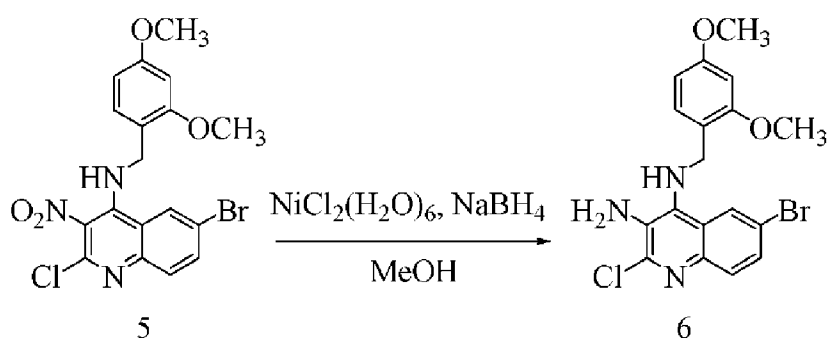
Ejemplo 4: Síntesis del compuesto 5



20 A una solución de 6-bromo-2,4-dicloro-3-nitroquinolina (5.6 g, 17.4 mmol, 1 eq) y K₂CO₃ sólido (3.6 g, 26 mmol, 1.5 eq) en DMF (100 ml) a temperatura ambiente se añadió 2,4-dimetoxibencilamina pura (3.5 g, 20.1 mmol, 1.2 eq). La mezcla se agitó durante 15 minutos, se añadió agua (300 ml) y la mezcla se agitó durante 5 minutos adicionales. El sólido resultante se filtró y después se disolvió en acetato de etilo (100 ml). La solución se lavó con agua (100 ml), salmuera (100 ml), se separó, se secó (Na₂SO₄), después se filtró y se concentró al vacío. El sólido marrón se trituró con hexanos/éter dietílico 1:1 (150 ml) y se filtró para obtener 6-bromo-2-cloro-4-(2,4-dimetoxibencil)amino-3-nitroquinolina (6.9 g, 15.3 mmol, 88%) como un sólido amarillo. El compuesto se usó sin purificación adicional.

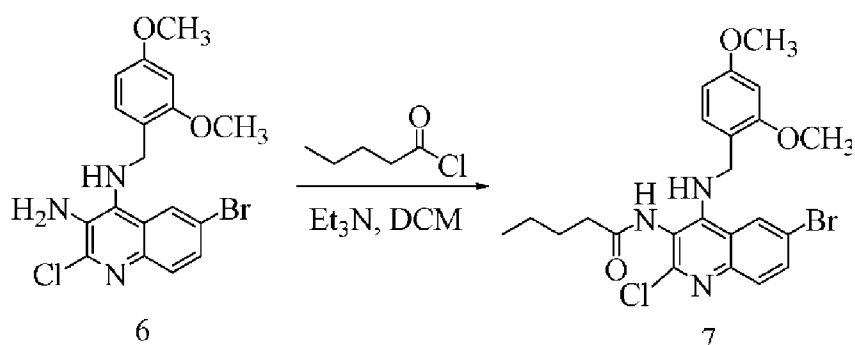
25

Ejemplo 5: Síntesis del compuesto 6



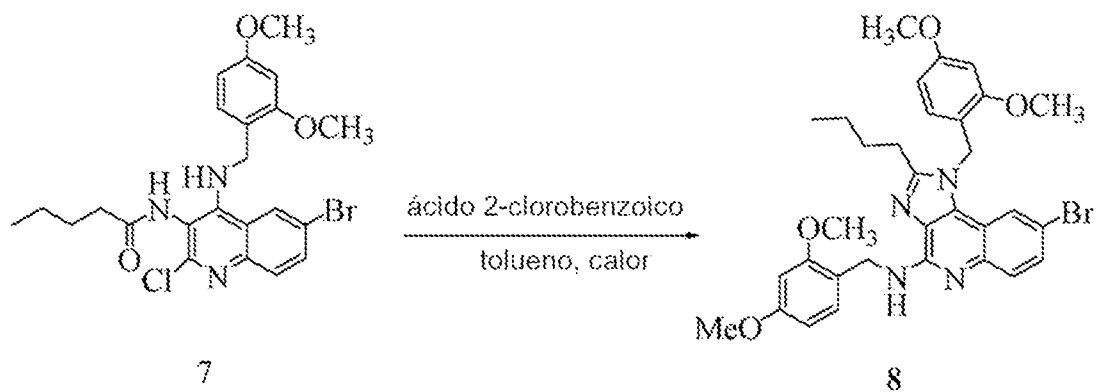
A la 6-bromo-2-cloro-4-(2,4-dimetoxibencil)amino-3-nitroquinolina (6.9 g, 15.3 mmol, 88%) en metanol (200 ml) a 0 °C se añadió NiCl₂·6H₂O (0.36 g, 1.5 mmol, 0.1 eq). Se añadió borohidruro de sodio (gránulos, 1.42 g, 38 mmol, 2.5 eq) y la reacción se agitó durante 1 h a 0 °C, después se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante otros 15 minutos. Se añadió ácido acético glacial (5 ml) hasta que se obtuvo un pH de ~5. El disolvente se evaporó al vacío y el sólido bruto se disolvió de nuevo en acetato de etilo (150 ml) y después se filtró a través de un lecho de tierra de diatomeas para eliminar un material insoluble negro. El acetato de etilo se eliminó a vacío. El sólido marrón oscuro se trituró con éter (75 ml) y después se filtró para obtener 3-amino-6-bromo-2-cloro-4-(2,4-dimetoxibencil)aminoquinolina (5.81 g, 13.7 mmol, 90%) en forma de un sólido marrón claro. El compuesto se usó sin purificación adicional.

10 Ejemplo 6: Síntesis del compuesto 7



A una solución de 3-amino-6-bromo-2-cloro-4-(2,4-dimetoxibencil)aminoquinolina (5.75 g, 13.6 mmol, 1 eq) en diclorometano (100 ml) que contenía trietilamina (2.1 g, 2.8 ml, 20 mmol, 1.5 eq) agitando a temperatura ambiente se le añadió cloruro de valeroilo solo (2.0 ml, 2.0 g, 16 mmol, 1.2 eq). La mezcla se lavó con agua (150 ml), salmuera (150 ml), se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El sólido se trituró con éter, se filtró y se secó al vacío. Se obtuvo N-(6-bromo-2-cloro-4-(2,4-dimetoxibencil)aminoquinolin-3-yl)pentanamida en forma de un sólido marrón (5.8 g, 11.4 mmol, 84%). El compuesto se usó sin purificación adicional.

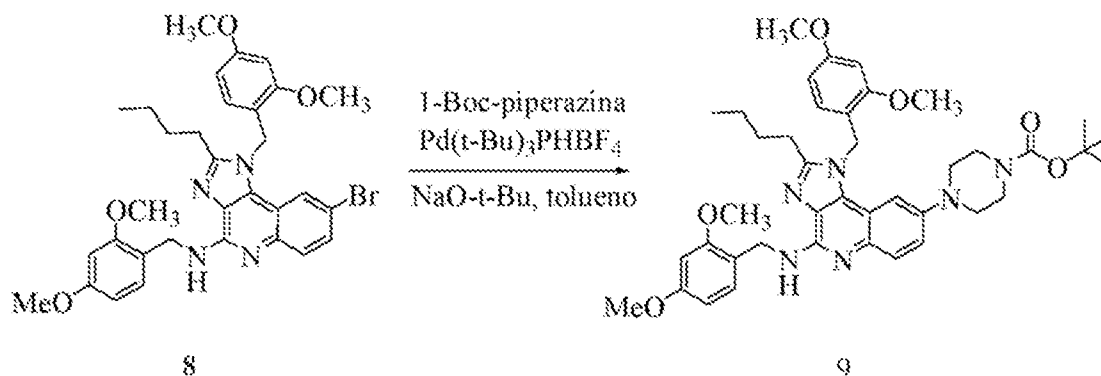
Ejemplo 7: Síntesis del compuesto 8



En un vaso de precipitados de 100 ml, una mezcla de N-(6-bromo-2-cloro-4-(2,4-dimetoxibencil)aminoquinolin-3-yl)pentanamida (5.8 g, 11.4 mmol, 1 eq) y 2-clorobenzoico (0.90 g, 5.7 mmol, 0.5 eq) se hirvió en 50 ml de tolueno durante 2 horas. Se añadió tolueno a 50 ml cada vez que el volumen alcanzaba 25 ml. Se añadió 2,4-dimetoxibencilamina (9.5 g, 57 mmol, 5 eq) y la reacción se mantuvo a 120 °C durante 2 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió agua (80 ml) y después ácido acético (3.5 ml). El líquido sobrenadante se decantó y el producto bruto se lavó con agua (80 ml). El sólido húmedo se trituró con metanol (100 ml) para proporcionar 8-

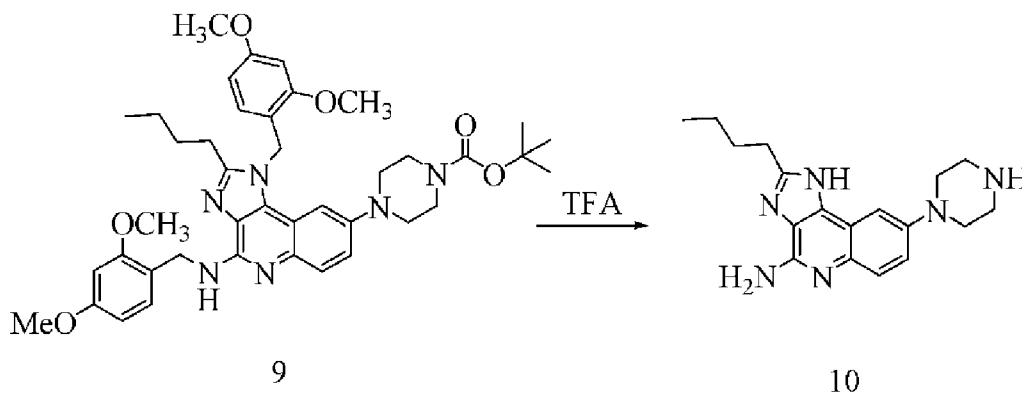
bromo-2-butil-N,1-bis(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (4.80 g, 7.7 mmol, 68%) en forma de un sólido de color blanquecino. El compuesto se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 8: Síntesis del compuesto 9



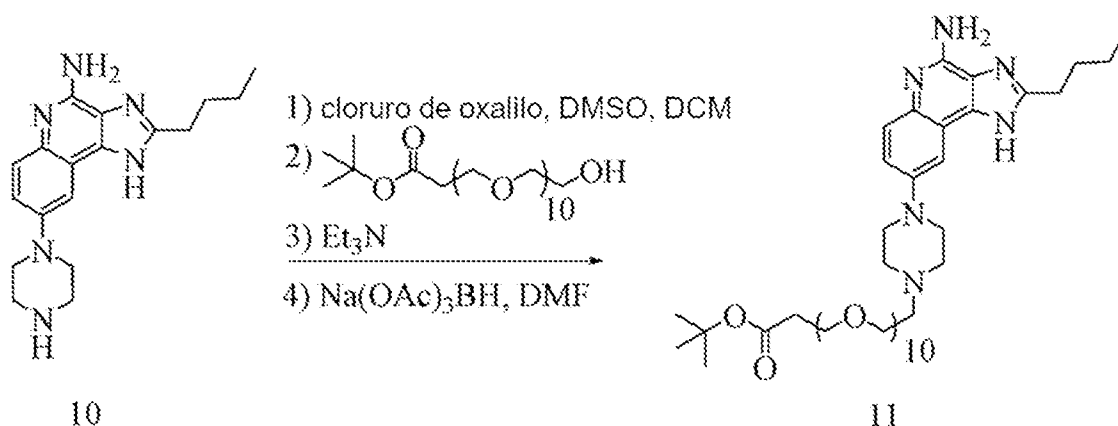
- 5 Una mezcla de 8-bromo-2-butil-N,1-bis(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (0.31 g, 0.5 mmol, 1 eq) y piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0.19 g, 1 mmol, 2 eq) se combinaron en tolueno (2 ml) y después se desgasificaron con argón. Se añadieron Pd₂dba₃ (45 mg, 0.05 mmol, 0.1 eq), tetrafluoroborato de tri-terc-butilfosfina (29 mg, 0.10 mmol, 0.2 eq) y terc-butóxido de sodio (144 mg, 1.5 mmol, 3 eq). La mezcla se calentó en un vial tapado a 110 °C durante 30 minutos. La mezcla se enfrió y después se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y agua (50 ml).
- 10 La capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml), se secó con sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El producto bruto se purificó sobre gel de sílice (20 g) eluido con acetato de etilo/hexanos al 50% para proporcionar 4-(2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((2,4-dimetoxibencil)amino)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0.28 g, 0.39 mmol, 78%) en forma de un sólido de color blanquecino. CL/EM [M+H] 725.40 (calculado); CL/EM [M+H] 725.67 (observado).

15 Ejemplo 9: Síntesis del Compuesto 10



- Se disolvió 4-(2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((2,4-dimetoxibencil)amino)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0.28 g, 0.39 mmol, 1 eq) en TFA (3 ml) y se calentó a reflujo durante 5 min. El TFA se eliminó al vacío y el producto bruto se disolvió en acetonitrilo, se filtró y después se concentró para obtener la sal de TFA de 2-butil-8-(piperazin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (0.16 g, 0.37 mmol, 95%) en forma de un sólido de color blanquecino. CL/EM [M+H] 325.21 (calculado); CL/EM [M+H] 325.51 (observado).
- 20

Ejemplo 10: Síntesis del compuesto 11

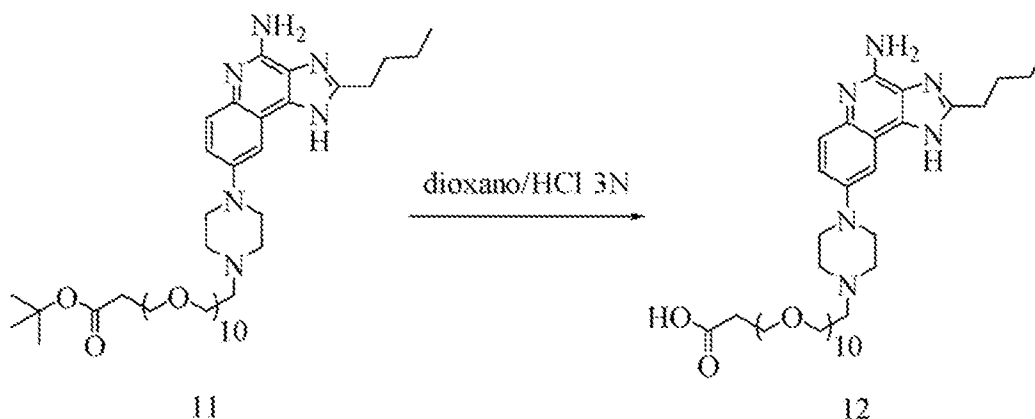


5 A una solución de cloruro de oxalilo (127 mg, 86 μ l, 1 mmol, 2 eq) en DCM (1 ml) a 80 °C se le añadió gota a gota una solución de DMSO (156 mg, 142 μ l, 2 mmol, 4 eq) en DCM (1 ml). La mezcla se agitó durante 15 min a 80 °C. A esta mezcla se le añadió una solución de hidroxil-PEG₁₀-éster t-butílico (602 mg, 0.5 mmol, 1 eq) en DCM (1 ml). Después de agitar durante 15 min, se añadió Et₃N (303 mg, 418 μ l) y la mezcla se agitó a 80 °C durante 15 min, después se retiró del baño frío y se dejó calentar a 20 °C durante 30 min. A una suspensión de la sal de TFA de 2-butil-8-(piperazin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina y triacetoxiborohidruro de sodio (212 mg, 1 mmol, 2 eq) en DMF (3 ml) se le añadió la mezcla previa lentamente a 20 °C. La mezcla combinada se agitó a 20 °C durante 45 min. El disolvente se eliminó a presión reducida y al resto se añadieron 3 ml de Na₂CO₃ al 10% y se agitó enérgicamente durante 15 min.

10 Se añadió agua (20 ml) y el producto bruto se extrajo en DCM (25 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El material bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida usando una elución en gradiente de MeOH/DCM al 2-15% + Et₃N al 1% para producir 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de *terc*-butilo con un rendimiento de 56%. CL/EM [M+H] 893.55 (calculado); CL/EM [M+H] 893.79 (observado).

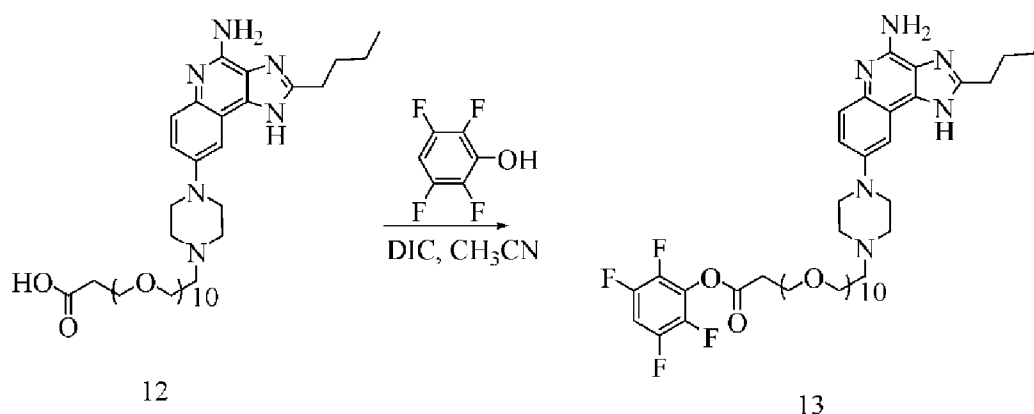
15

Ejemplo 11: Síntesis del compuesto 12



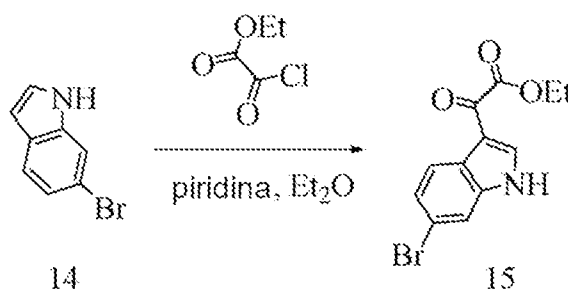
Se disolvió 1-(4-(4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de terc-butilo en una mezcla 1:1 de dioxano y HCl 3 N (5 ml) y después se calentó a 60 °C durante 90 min. El disolvente se eliminó y el residuo se destiló azeotrópicamente cuatro veces con acetonitrilo (5 ml). La sal de HCl del ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oico resultante se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 12: Síntesis del compuesto 13



A la sal de HCl del ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oico (0.13 mmol, 1 eq) se le añadió una mezcla de 2,3,5,6-tetrafluorofenol (66 mg, 0.4 mmol, 3 eq) y diisopropilcarbodiimida (51 mg, 62 μ l, 0.4 mmol, 3 eq) disuelta en acetonitrilo (3 ml) y la mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h. La mezcla se diluyó con agua (12 ml) y se purificó por cromatografía de fase inversa usando un eluyente con gradiente de acetonitrilo/agua al 30-80% + TFA al 0.1% a lo largo de 10 min. Las fracciones combinadas se concentraron a presión reducida y la película vítrea se destiló azeotrópicamente con acetonitrilo cuatro veces (20 ml) para producir 1-(4-(4-amino-2-butil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo con un rendimiento de 54%. CL/EM [M+H] 985.49 (calculado); CL/EM [M+H] 985.71 (observado).

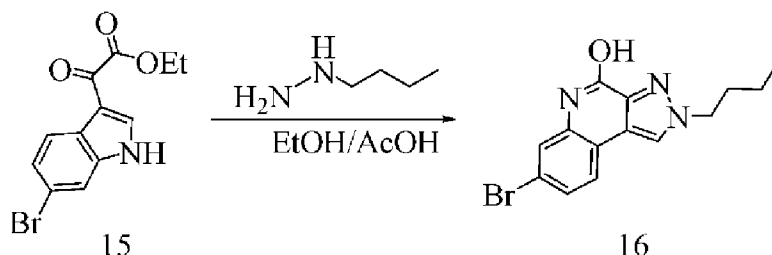
Ejemplo 13: Síntesis del compuesto 15



A una mezcla de 6-bromo-1*H*-indol (5.00 g, 25.50 mmol, 1 eq) y piridina (2.62 g, 33.16 mmol, 2.68 ml, 1.3 eq) en Et₂O (80 ml) se le añadió 2-cloro-2-oxo-acetato de etilo (4.18 g, 30.61 mmol, 3.43 ml, 1.2 eq) lentamente a 0 °C en atmósfera

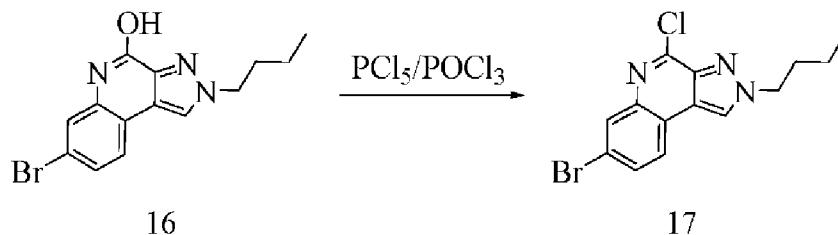
de N₂. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas. Precipitó un sólido amarillo. La mezcla se filtró y la torta se lavó con H₂O. El producto bruto se trituró con H₂O a 20 °C durante 20 min para proporcionar 2-(6-bromo-1H-indol-3-il)-2-oxoacetato de etilo (5.4 g, 18.24 mmol, 71.5% de rendimiento) en forma de un sólido amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 12.46 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.36 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.33 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

Ejemplo 14: Síntesis del compuesto 16



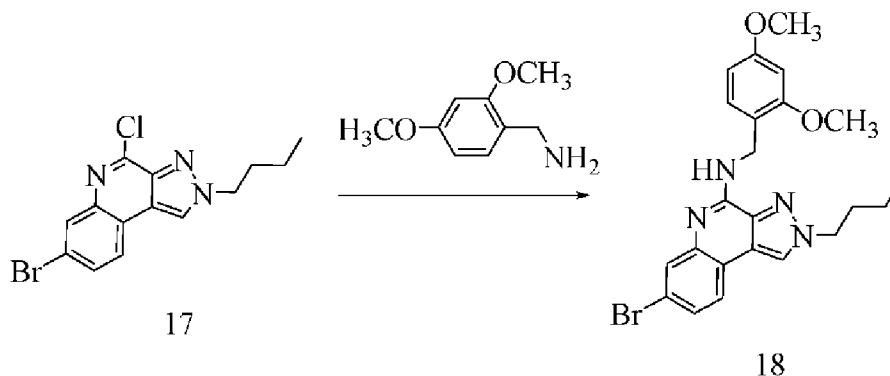
A una mezcla de 2-(6-bromo-1H-indol-3-il)-2-oxoacetato de etilo (5.4 g, 18.24 mmol, 1 eq) y butilhidrazina (3.41 g, 27.35 mmol, 1.5 eq, HCl) en EtOH (60 ml) se le añadió AcOH (10.95 g, 182.36 mmol, 10.43 ml, 10 eq) a 25 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 90 °C durante 16 horas. La CLEM mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de la columna: 250 mm, diámetro: 100 mm, gel de sílice de malla 100-200, éter de petróleo/acetato de etilo = 5/1, 1/2) para proporcionar 7-bromo-2-butil-pirazolo[3,4-c]quinolin-4-ol (3 g, 9.37 mmol, rendimiento de 51.38%) en forma de un sólido marrón. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 11.40 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 4.37 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.91-1.84 (m, 2H), 1.32-1.25 (m, 2H), 0.91 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

Ejemplo 15: Síntesis del compuesto 17



A una mezcla de 7-bromo-2-butil-4-cloro-pirazolo[3,4-c]quinolin-4-ol (2.8 g, 8.74 mmol, 1 eq) en POCl₃ (13.41 g, 87.45 mmol, 8.13 ml, 10 eq) se añadió PCl₅ (910.52 mg, 4.37 mmol, 0.5 eq) en una porción a 25 °C. La mezcla se agitó a 100 °C durante 1 hora. La CLEM mostró que la reacción se había completado. La mezcla se concentró. El residuo se vertió en agua helada (100 ml) y se diluyó con CH₂Cl₂ (30 ml) y se lavó con solución saturada de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de la columna: 250 mm, diámetro: 100 mm, gel de sílice de malla 100-200, éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1, 3/1) para proporcionar 7-bromo-2-butil-4-cloro-pirazolo[3,4-c]quinolin-4-ol (2.6 g, 7.68 mmol, rendimiento de 87.80%) en forma de un aceite amarillo. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8.30 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 4.53 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.08-2.04 (m, 2H), 1.46-1.37 (m, 2H), 0.10 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

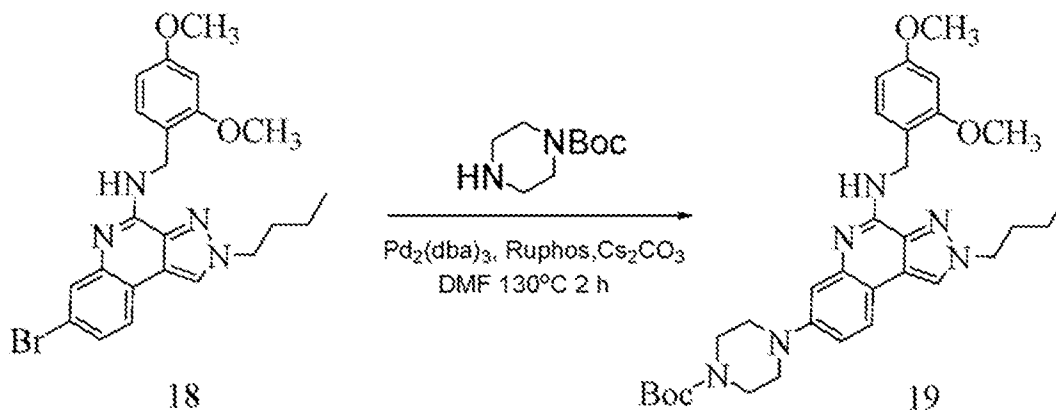
Ejemplo 16: Síntesis del compuesto 18



Una mezcla de 7-bromo-2-butil-4-cloro-pirazolo[3,4-c]quinolin-4-ol (2.6 g, 7.68 mmol, 1 eq) y 2,4-dimetoxifenil)metanamina (6.42 g, 38.39 mmol, 5.78 ml, 5 eq) se agitó a 120 °C durante 4 horas. La CLEM mostró que la reacción se había completado. La mezcla se disolvió en EtOAc/H₂O (10 ml/10 ml) y se ajustó a pH = 3 con HCl ac.

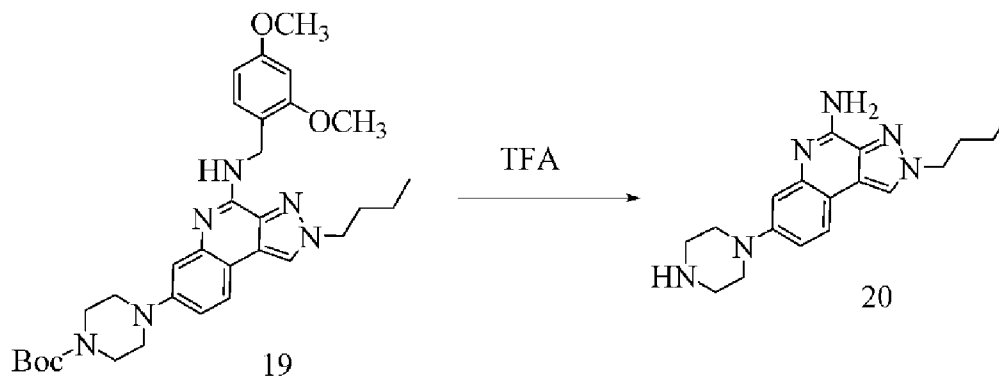
(4 M). La fase acuosa se filtró para dar 7-bromo-2-butil-N-[(2,4-dimetoxifenil)metil]pirazolo[3,4-c]quinolin-4-amina (2.9 g, 6.18 mmol, rendimiento de 80.47%) en forma de un sólido amarillo que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 9.03 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.20 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.89 (d, J = 4.2 Hz, 2H), 4.49 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.75 (m, 6H), 1.96-1.89 (m, 2H), 1.35-1.27 (m, 2H), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

Ejemplo 17: Síntesis del compuesto 19



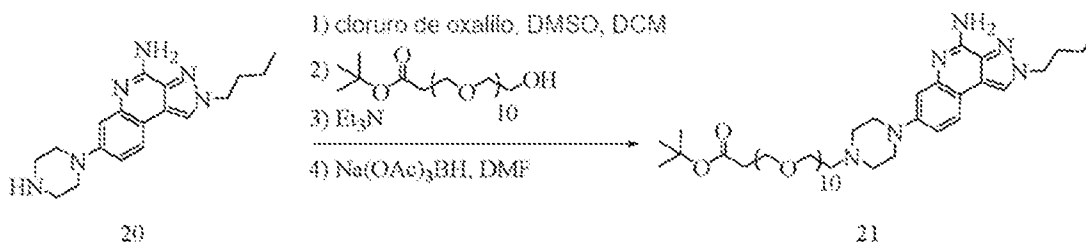
A una mezcla de 7-bromo-2-butil-N-[(2,4-dimetoxifenil)metil]pirazolo[3,4-c]quinolin-4-amina (0.45 g, 958.73 μmol, 1 eq) y piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (535.69 mg, 2.88 mmol, 3 eq) en DMF (10 ml) se le añadieron Pd₂(dba)₃ (43.90 mg, 47.94 μmol, 0.05 eq), Cs₂CO₃ (624.74 mg, 1.92 mmol, 2 eq) y RuPhos (44.74 mg, 95.87 μmol, 0.1 eq) en una porción a 25 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 140 °C durante 2 horas. La CLEM mostró que la reacción se había completado. La mezcla se enfrió a 25 °C y se vertió en agua helada (30 ml) y se agitó durante 1 minuto. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (10 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo = 10/1, 1/1) para proporcionar 4-[2-butil-4-[(2,4-dimetoxifenil)metilamino]pirazolo[3,4-c]quinolin-7-il]piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0.45 g, 783.00 μmol, rendimiento de 81.67%) en forma de un aceite amarillo. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.95 (s, 1H), 7.67 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.91 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 6.49 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 5.98 (s, 1H), 4.87 (d, J = 4.4 Hz, 2H), 4.33 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.64-3.61 (m, 4H), 3.26-3.23 (m, 4H), 1.99-1.92 (m, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.40-1.34 (m, 2H), 0.96 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

Ejemplo 18: Síntesis del compuesto 20



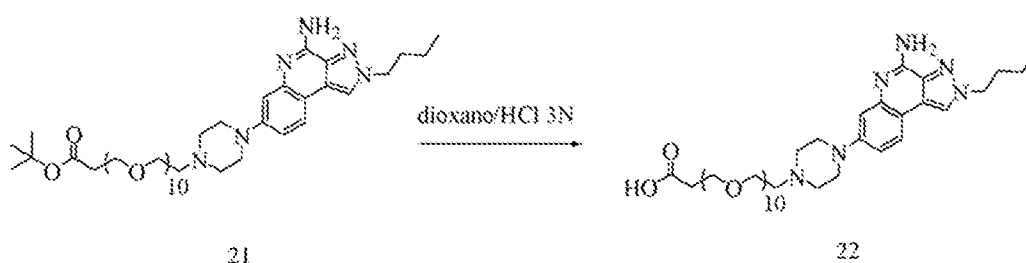
A una mezcla de 4-[2-butil-4-[(2,4-dimetoxifenil)metilamino]pirazolo[3,4-c]quinolin-7-il]piperazina-1-carboxilato de terc-butilo (0.2 g, 348.00 μmol, 1 eq) en DCM (20 ml) se le añadió TFA (1.98 g, 17.40 mmol, 1.29 ml, 50 eq) en una porción a 25 °C. La mezcla se agitó a 50 °C durante 36 horas. La CLEM y la HPLC mostraron que la reacción se había completado. La mezcla se concentró y se purificó por HPLC prep. (columna: Nano-micro KROMASIL™ (Sigma-Aldrich) C18 100*30 mm 5 μm; fase móvil: [agua (TFA al 0.1%)-ACN]; B%: 20%-55%, 10 min) para proporcionar 2-butil-7-piperazin-1-il-pirazolo[3,4-c]quinolin-4-amina (0.088 g, 200.71 μmol, rendimiento de 57.67%, TFA) en forma de un sólido blanquecino. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9.01 (s, 2H), 8.88 (s, 1H), 7.96 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.23 (dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 4.49 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.45-3.44 (m, 4H), 3.35-3.29 (m, 4H), 1.98-1.90 (m, 2H), 1.36-1.27 (m, 2H), 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H). CLEM (ESI): masa calc. para C₁₈H₂₄N₆ 324.21, m/z encontrado 325.3 [M+H]⁺.

Ejemplo 19: Síntesis del compuesto 21



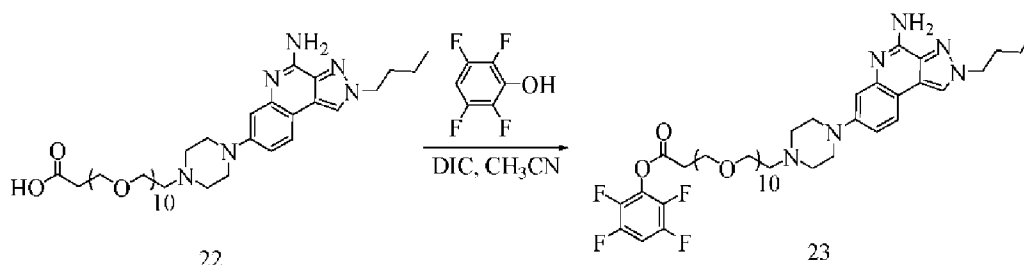
La 2-butil-7-(piperazin-1-il)-2*H*-pirazolo[3,4-*c*]quinolin-4-amina se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butil-2*H*-pirazolo[3,4-*c*]quinolin-7-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de terc-butilo con un rendimiento de 65% usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. CL/EM [M+H] 893.56 (calculado); CL/EM [M+H] 893.82 (observado).

Ejemplo 20: Síntesis del compuesto 22



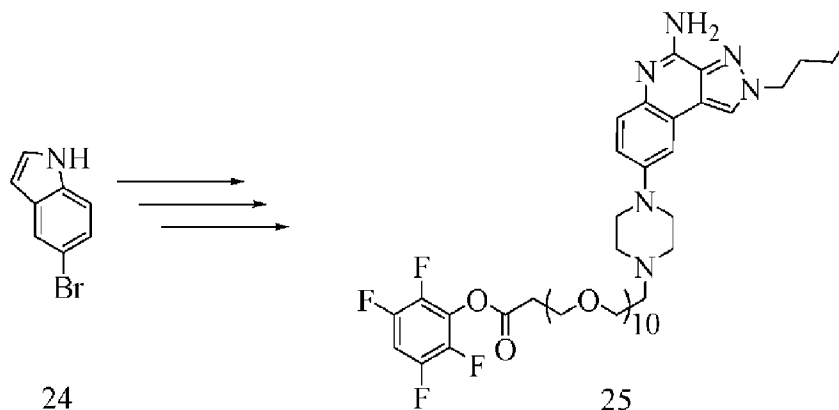
El 1-(4-(4-amino-2-butil-2*H*-pirazolo[3,4-*c*]quinolin-7-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de terc-butilo se convirtió en ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-2*H*-pirazolo[3,4-*c*]quinolin-7-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oico con un rendimiento de 92% usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 11. El compuesto se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 21: Síntesis del compuesto 23



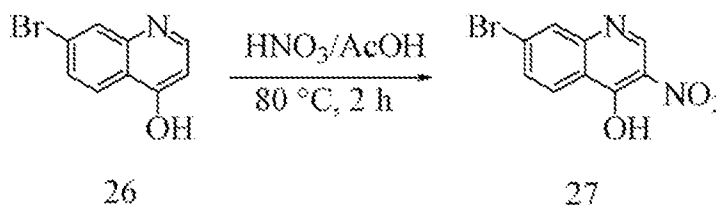
El ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-2*H*-pirazolo[3,4-*c*]quinolin-7-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oico se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butil-2*H*-pirazolo[3,4-*c*]quinolin-7-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo con un rendimiento de 46% usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 12. CL/EM [M+H] 985.49 (calculado); CL/EM [M+H] 985.73 (observado).

Ejemplo 22: Síntesis del compuesto 25



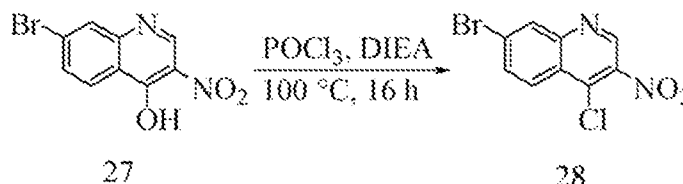
El 5-bromo-1H-indol se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butyl-2H-pirazo[3,4-c]quinolin-8-yl)piperazin-1-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo usando la ruta descrita en los Ejemplos 13-21. CL/EM [M+H] 985.49 (calculado); CL/EM [M+H] 985.73 (observado).

Ejemplo 23: Síntesis del compuesto 27



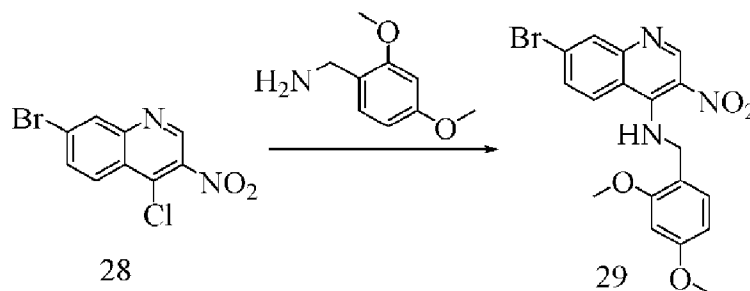
El 7-bromoquinolin-4-ol (9.66 g, 43.11 mmol, 1 eq) se convirtió en 7-bromo-3-nitroquinolin-4-ol (7.46 g, 27.7 mmol, 64%) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 2. CL/EM [M+H] 268.96/270.95 (calculado); CL/EM [M+H] 268.99/271.02 (observado).

Ejemplo 24: Síntesis del compuesto 28



El 7-bromo-3-nitroquinolin-4-ol (7.46 g, 27.7 mmol, 1 eq) se convirtió en 7-bromo-4-cloro-3-nitroquinolina (6.88 g, 23.9 mmol, 86%) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 3. CL/EM [M+H] 286.92/288.92 (calculado); CL/EM [M+H] 286.98/288.97 (observado).

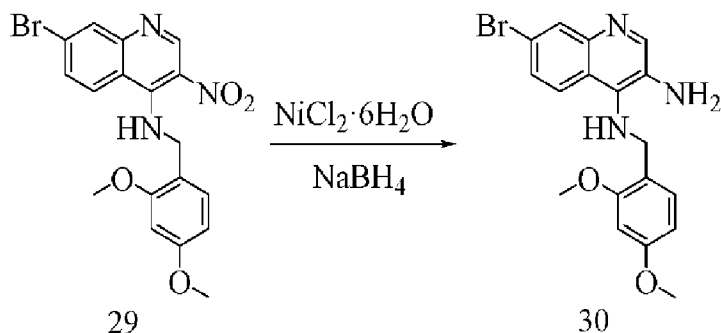
Ejemplo 25: Síntesis del compuesto 29



Se añadió 7-bromo-4-cloro-3-nitroquinolina (2.86 g, 10 mmol, 1 eq) a (2,4-dimetoxifenil)metanamina (100 mmol, 10 eq) a 20°C . La mezcla se agitó a 120°C durante 3 h. La mezcla se diluyó con agua (200 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml x 3). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (columna ultrarrápida de sílice de Teledyne Isco, 10

g, SEPAFLASH™, eluyente de gradiente de acetato de etilo/éter de petróleo de 0 a aproximadamente 50% a 100 ml/min) para proporcionar 7-bromo-N-(2,4-dimetoxibencil)-3-nitroquinolin-4-amina (4.2 g, 10.0 mmol, 100%). CL/EM [M+H] 418.04/420.04 (calculado); CL/EM [M+H] 418.19/420.16 (observado).

Ejemplo 26: Síntesis del compuesto 30

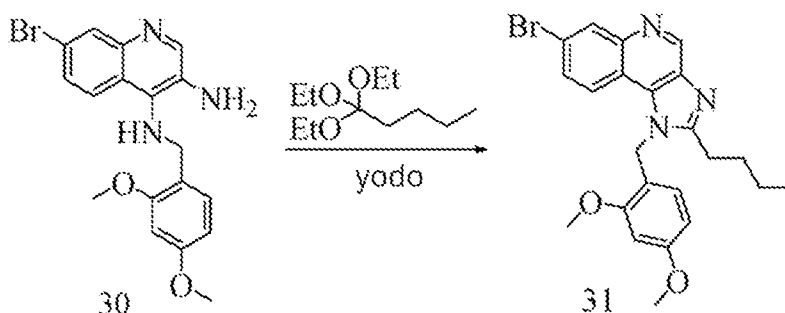


5

Se suspendió 7-bromo-N-(2,4-dimetoxibencil)-3-nitroquinolin-4-amina (4.2 g, 10.0 mmol, 1 eq) en acetonitrilo (24 ml). Se añadió agua (4 ml), seguido de cloruro de níquel (II) hexahidratado (0.48 g, 2 mmol, 0.2 eq). Se añadió borohidruro de sodio (1.52 g, 40.2 mmol, 4 eq) a la suspensión verde y la reacción exotérmica se agitó durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar 7-bromo-N-(2,4-dimetoxibencil)quinolina-3,4-diamina (2.15 g, 5.5 mmol, 55%). CL/EM [M+H] 388.07/390.06 (calculado); CL/EM [M+H] 388.22/390.21 (observado).

10

Ejemplo 27: Síntesis del compuesto 31

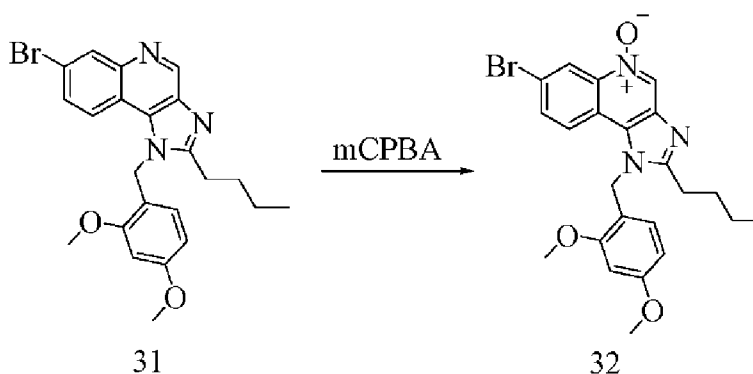


15

Se disolvió 7-bromo-N-(2,4-dimetoxibencil)quinolina-3,4-diamina (2.15 g, 5.53 mmol, 1 eq) en acetonitrilo (25 ml). A la solución en agitación se añadió ortoalato de trietilo (2.57 ml, 11.1 mmol, 2 eq) seguido de yodo (0.140 g, 0.55 mmol, 0.1 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que no se observó material de partida por CLEM. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó en diclorometano y se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar 7-bromo-2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (2.43 g, 5.3 mmol, 97%). CL/EM [M+H] 454.11/456.11 (calculado); CL/EM [M+H] 454.28/456.23 (observado).

20

Ejemplo 28: Síntesis del compuesto 32

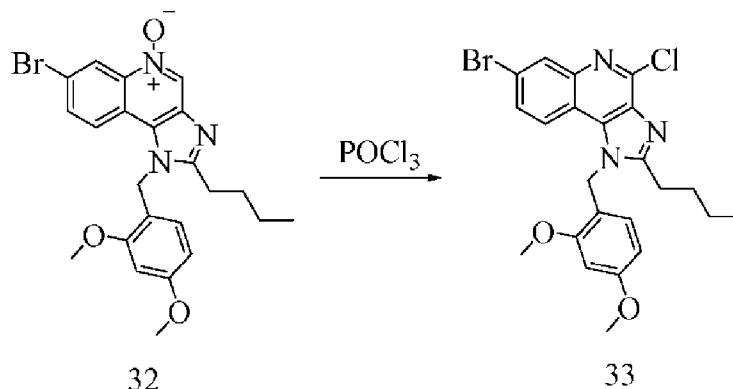


25

Se disolvió 7-bromo-2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (2.7 g, 5.94 mmol, 1 eq) en 15 ml de DCM. A la reacción en agitación se le añadió ácido 4-cloroperoxisulfónico (4.39 g, 17.83 mmol, 3 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se vigiló por CLEM. Tras el consumo del material de partida, la reacción se inactivó con carbonato sódico acuoso al 10%, se extrajo con acetato de etilo, se concentró y se purificó por cromatografía

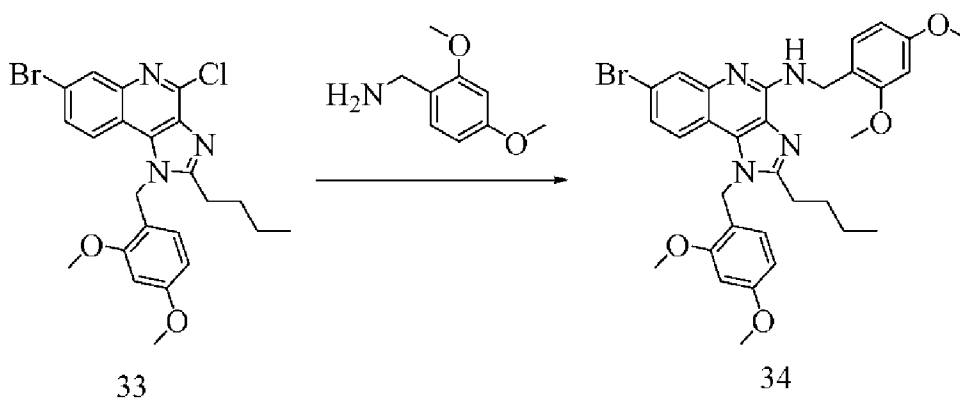
ultrarrápida para dar el 5-óxido de 7-bromo-2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (0.88 g, 1.87 mmol, 31%). CL/EM [M+H] 470.11/472.11 (calculado); CL/EM [M+H] 470.27/472.25 (observado).

Ejemplo 29: Síntesis del compuesto 33



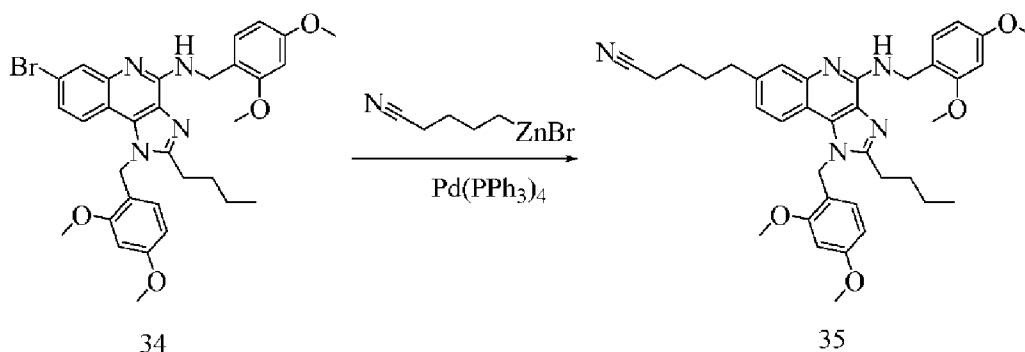
- 5 Se disolvió 5-óxido de 7-bromo-2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (0.88 g, 1.87 mmol, 1 eq) en diclorometano (20 ml) y se enfrió sobre hielo. Se añadió gota a gota cloruro de fosforilo (0.21 ml, 2.2 mmol, 1.2 eq) a la solución en agitación rápida, seguido de N,N-dimetilformamida (0.072 ml, 0.94 mmol, 0.5 eq). Después de cinco minutos, la reacción se calentó a temperatura ambiente y se vigiló por CLEM. Tras el consumo del material de partida,
- 10 la solución se lavó con una mezcla de hielo y carbonato sódico acuoso al 10%. Las capas orgánica y acuosa se separaron, y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (15 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para proporcionar 7-bromo-2-butil-4-cloro-1-(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina en forma de una espuma marrón (1.02 g, 2.09 mmol, 100%). CL/EM [M+H] 488.07/490.07 (calculado); CL/EM [M+H] 488.22/490.21 (observado).

Ejemplo 30: Síntesis del compuesto 34



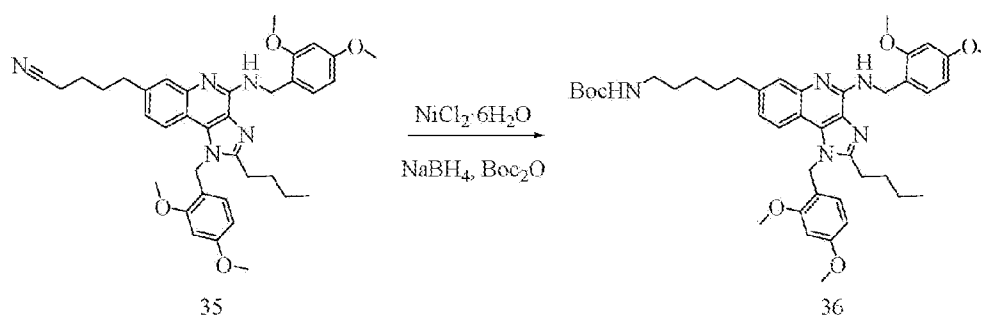
- 15 Una mezcla de 7-bromo-2-butil-4-cloro-1-(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolina (1 g, 2 mmol, 1 eq) y (2,4-dimetoxifenil)metanamina (20 mmol, 10 eq) se agitó a 120 °C durante 2 horas. A la mezcla se le añadió HCl 2 M para ajustar a pH ~4 y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía
- 20 en columna (SiO₂, éter de petróleo/acetato de etilo = 20/1 a 0:1) para obtener 7-bromo-2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-N-(2,4-dimetoxifenil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (0.694 g, 1.12 mmol, 57%). CL/EM [M+H] 619.19/621.32 (calculado); CL/EM [M+H] 619.37/621.32 (observado).

Ejemplo 31: Síntesis del compuesto 35



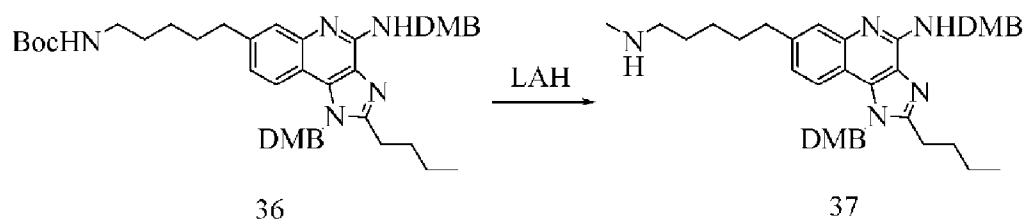
Se combinaron 7-bromo-2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-N-(2,4-dimetoxifenil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (0.154 g, 0.25 mmol, 1 eq) y Pd(PPh₃)₄ (28.7 mg, 0.0025 mmol, 0.1 eq) en atmósfera de dinitrógeno seco. Se añadió bromuro de cianobutilcinc (2.5 ml, 0.5 M en THF, 1.24 mmol, 5 eq) en atmósfera de dinitrógeno seco y la reacción se calentó a 75 °C. Después de 30 minutos, se añadió otra porción de bromuro de cianobutilcinc (2.5 ml, 0.5 M en THF, 1.24 mmol, 5 eq) y la reacción se dejó agitar durante 90 minutos adicionales. La solución se concentró hasta un jarabe y el material bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar una mezcla del 5-(2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((2,4-dimetoxifenil)amino)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)pentanonitrilo deseado junto con 2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-N-(2,4-dimetoxifenil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina y disolvente residual con la que se continuó como una mezcla bruta (0.288 g). CL/EM [M+H] 622.34 (calculado); CL/EM [M+H] 622.96 (observado).

Ejemplo 32: Síntesis del compuesto 36



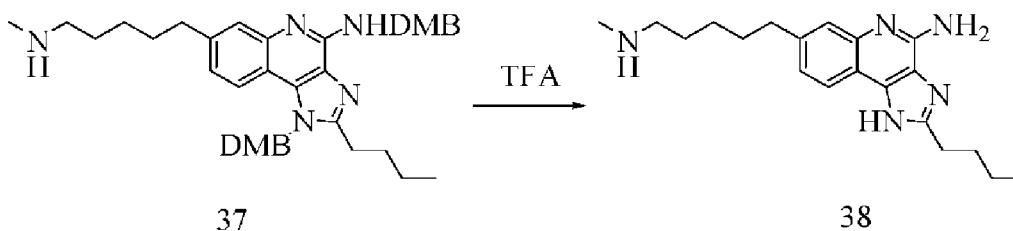
Se disolvió 5-(2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((2,4-dimetoxifenil)amino)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)pentanonitrilo (0.69 g, 1.1 mmol, 1 eq) en metanol (20 ml) y se enfrió en hielo. Se añadieron cloruro de níquel (II) hexahidrato (0.053 g, 0.22 mmol, 0.2 eq) y anhídrido de Boc (0.51 ml, 2.22 mmol, 2 eq) a la mezcla en agitación. Se añadió lentamente borohidruro de sodio (1 g, 26.4 mmol, 23.8 eq) en porciones a lo largo de 1 hora. La reacción se calentó y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se concentró. El material bruto se recogió en acetato de etilo y se lavó con bicarbonato sódico saturado. La fracción orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, se concentró y después se purificó por cromatografía ultrarrápida para proporcionar (5-(2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((2,4-dimetoxifenil)amino)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)pentil)carbamato de terc-butilo (0.265 g, 0.37 mmol, 33%). CL/EM [M+H] 726.42 (calculado); CL/EM [M+H] 726.64 (observado).

Ejemplo 33: Síntesis del compuesto 37



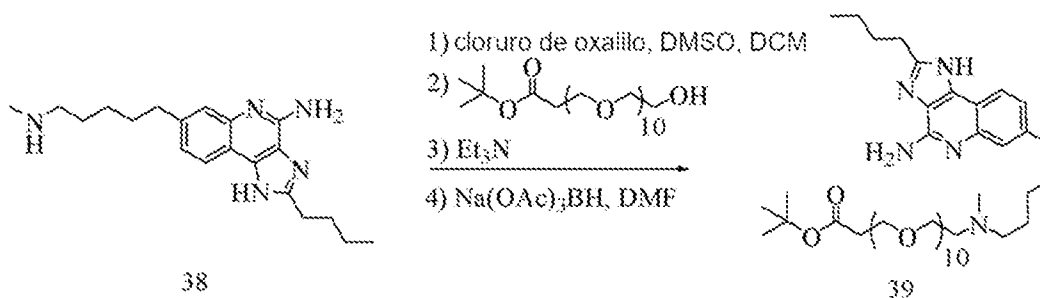
A una solución de (5-(2-butil-1-(2,4-dimetoxibencil)-4-((2,4-dimetoxifenil)amino)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)pentil)carbamato de terc-butilo (94.3 mg, 0.13 mmol, 1 eq) en THF (20 ml) se le añadió LiAlH₄ (0.65 mmol, 5 eq) en porciones a 25 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 60 °C durante 3 horas. A la mezcla se le añadió solución acuosa saturada de Na₂SO₄ (2 ml) a 0 °C y se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar 2-butil-N,1-bis(3,4-dimetilbencil)-7-(5-(metilamino)pentil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina. CL/EM [M+H] 640.39 (calculado); CL/EM [M+H] 640.55 (observado).

Ejemplo 34: Síntesis del compuesto 38



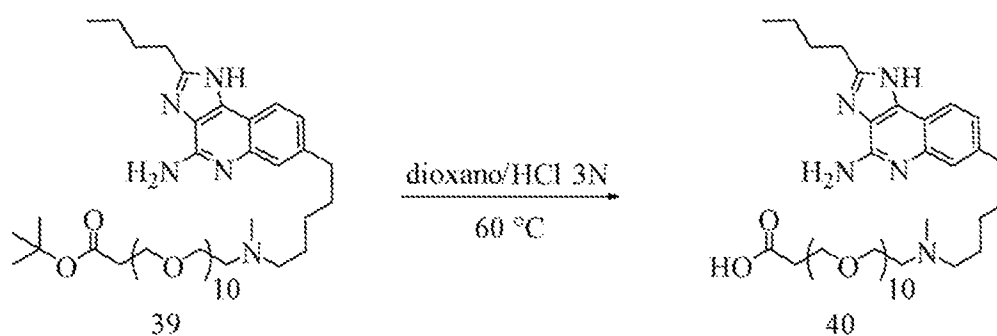
5 A una solución de 2-butil-N,1-bis(3,4-dimetilbencil)-7-(5-(metilamino)pentil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (348.57 μmol , 1 eq) en DCM (20 ml) se añadió TFA (24.56 mmol, 70.45 eq) en una porción a 25 °C. La mezcla se agitó a 40 °C durante 12 horas. La mezcla se concentró a presión reducida a 45 °C. El residuo se purificó por HPLC prep. (columna: LUNA™ C18 100 x 30 5 u (Phenomenex, Inc.); fase móvil: [agua (TFA al 0.1%)-ACN]; B%: 5%-25%, 10 min) para proporcionar 2-butil-7-(5-(metilamino)pentil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina. CL/EM [M+H] 340.25 (calculado); CL/EM [M+H] 340.36 (observado).

Ejemplo 35: Síntesis del compuesto 39



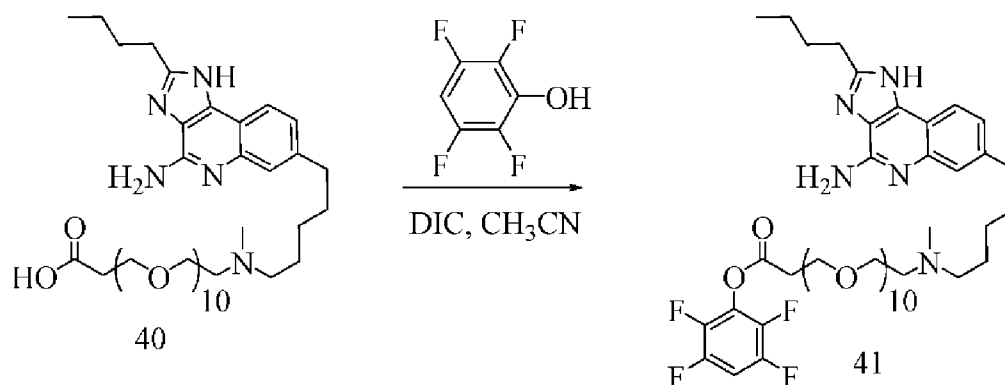
Se convirtió la 2-butil-7-(5-(metilamino)pentil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina (50 mg, 0.15 mmol, 1 eq) en 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatricontanoato de terc-butilo usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. CL/EM [M+H] 908.60 (calculado); CL/EM [M+H] 908.75 (observado).

Ejemplo 36: Síntesis del compuesto 40



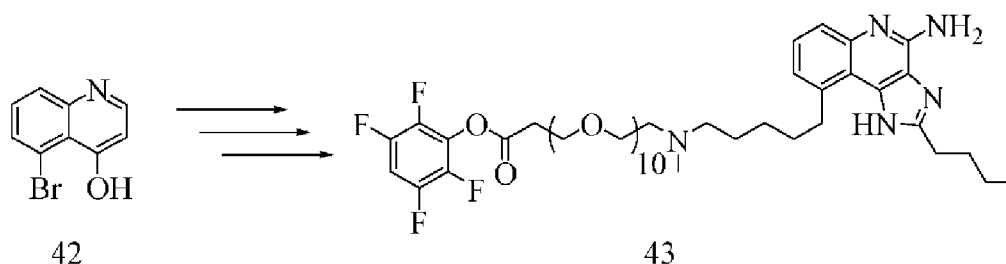
El 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatricontanoato de terc-butilo se convirtió en ácido 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatricontanoico (45 mg, 0.15 mmol, 33% a partir del compuesto 38) usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 11. CL/EM [M+H] 852.53 (calculado); CL/EM [M+H] 852.75 (observado).

Ejemplo 37: Síntesis del compuesto 41



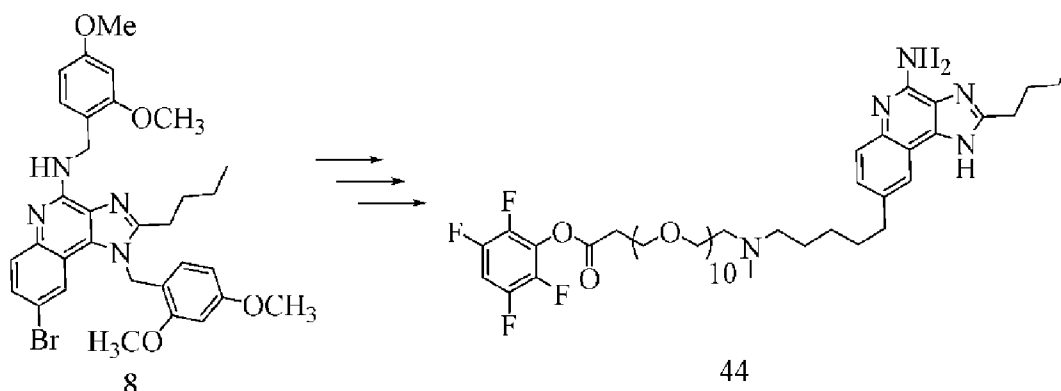
5 El ácido 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatriconanoico (45 mg, 0,053 mmol, 1 eq) se convirtió en 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatriconanoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo (28,5 mg, 0,053 mmol, 54%) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 12. CL/EM [M+H] 1000.53 (calculado); CL/EM [M+H] 1000.72 (observado).

Ejemplo 38: Síntesis del compuesto 43



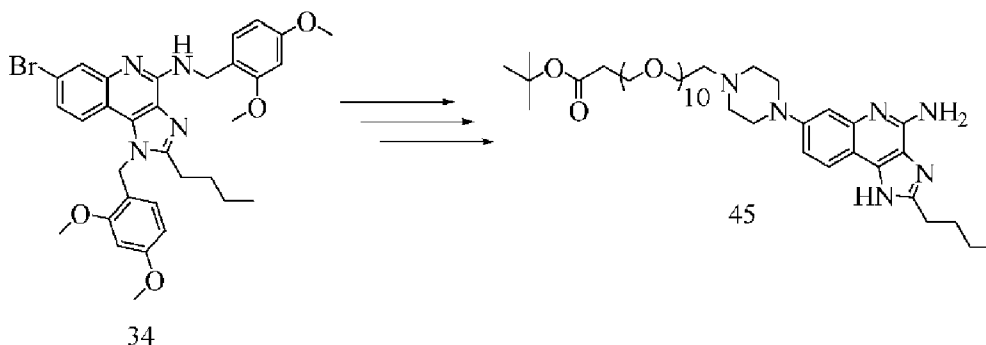
10 El 5-bromoquinolin-4-ol se convirtió en 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-9-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatriconanoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo usando la ruta descrita en los Ejemplos 23-37. CL/EM [M+H] 1000.53 (calculado); CL/EM [M+H] 1000.94 (observado).

Ejemplo 39: Síntesis del compuesto 44



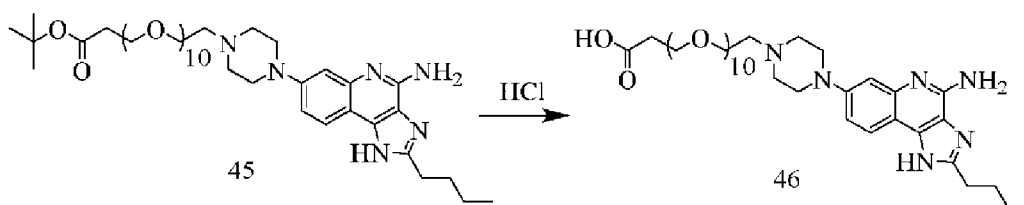
15 El compuesto 8 se convirtió en 39-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)-34-metil-4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-decaoxa-34-azanonatriconanoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo usando la ruta descrita en los Ejemplos 31-37. CL/EM [M+H] 1000.53 (calculado); CL/EM [M+H] 1000.92 (observado).

Ejemplo 40: Síntesis del compuesto 45



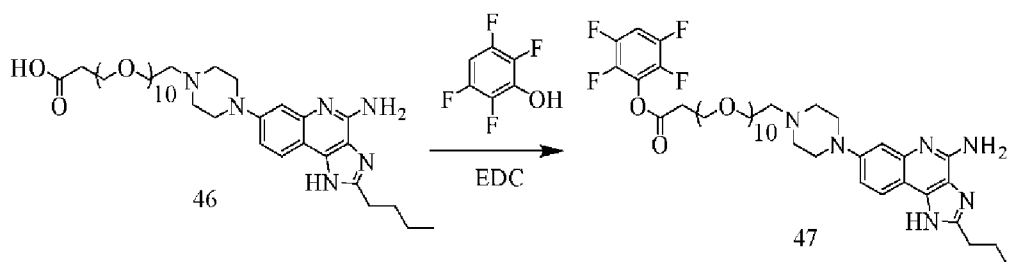
5 La 7-bromo-2-butyl-N,1-bis(2,4-dimetoxibencil)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butyl-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-yl)piperazin-1-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de terc-butilo según los procedimientos descritos en los Ejemplos 8-10. CL/EM [M+H] 893.56 (calculado); CL/EM [M+H] 893.79.

Ejemplo 41: Síntesis del compuesto 46



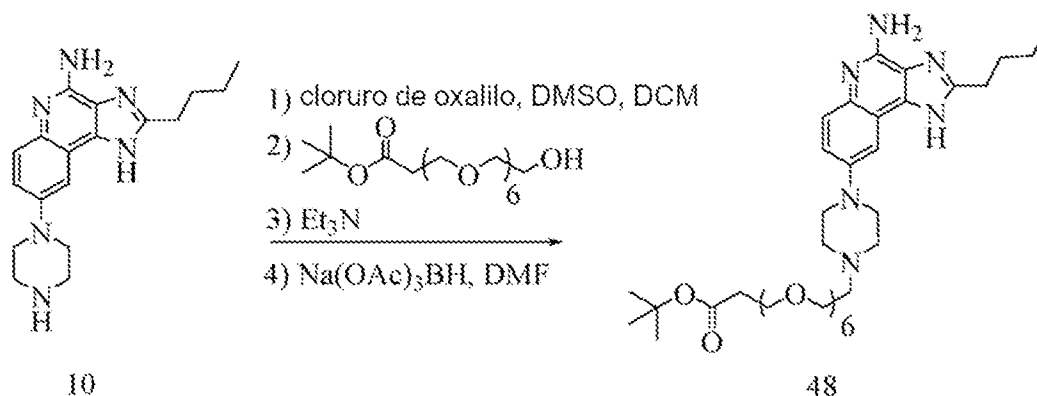
10 El 1-(4-(4-amino-2-butyl-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-yl)piperazin-1-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de terc-butilo se convirtió en ácido 1-(4-(4-amino-2-butyl-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-yl)piperazin-1-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oico según el procedimiento expuesto en el Ejemplo 11. CL/EM [M+H] 837.49 (calculado); CL/EM [M+H] 837.84 (observado).

Ejemplo 42: Síntesis del compuesto 47



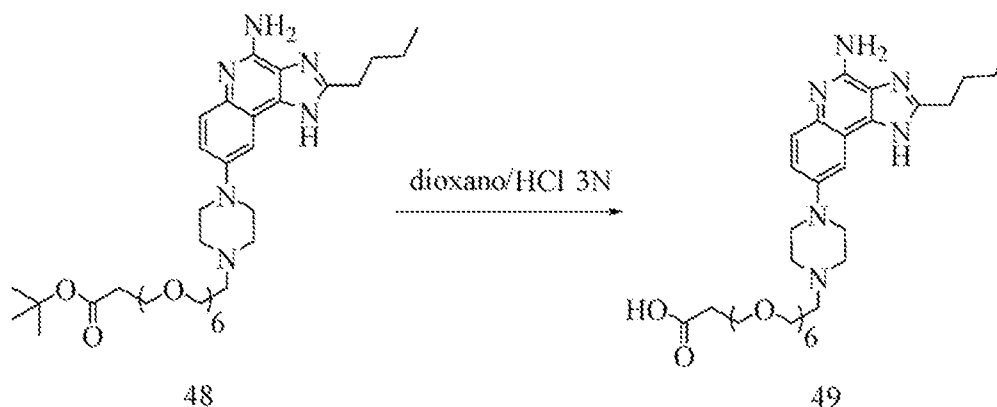
15 El ácido 1-(4-(4-amino-2-butyl-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-yl)piperazin-1-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oico se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butyl-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-7-yl)piperazin-1-yl)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30-decaoxatritriacontan-33-oato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo según el procedimiento expuesto en el Ejemplo 12. CL/EM [M+H] 985.49 (calculado); [M+H] 985.71 (observado).

Ejemplo 43: Síntesis del compuesto 48



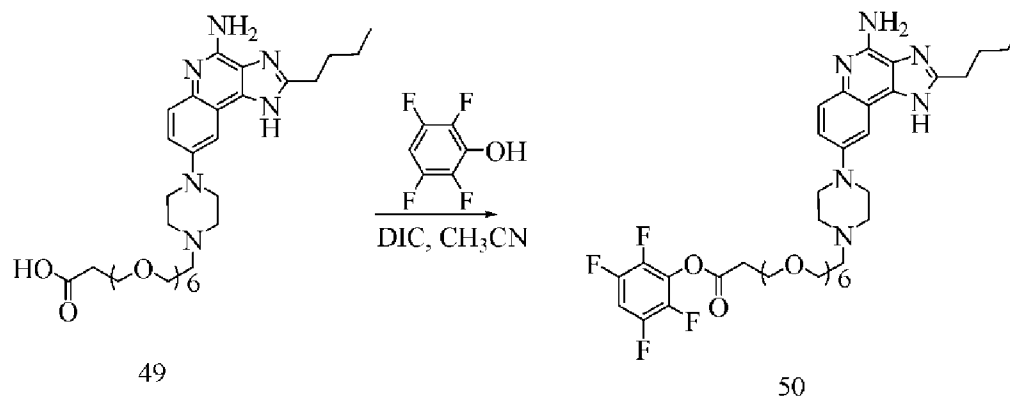
La 2-butil-8-(piperazin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oato de *tert*-butilo según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. CL/EM [M+H] 717.45 (calculado); CL/EM [M+H] 717.75 (observado).

Ejemplo 44: Síntesis del compuesto 49



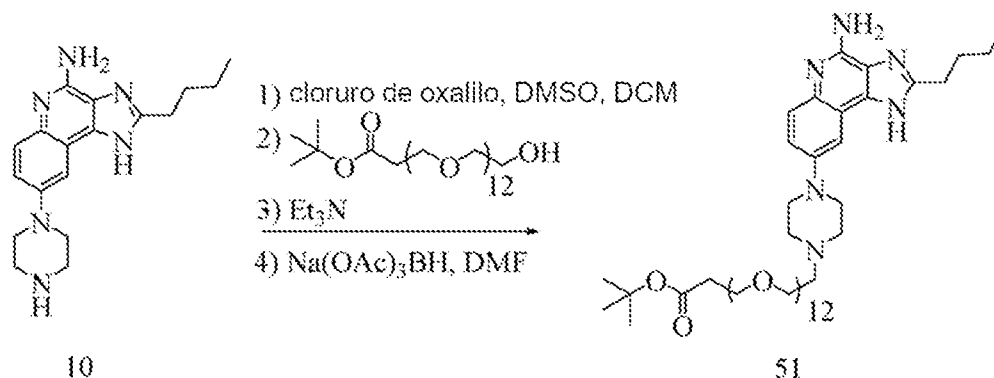
El 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oato de *tert*-butilo se convirtió en ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oico según el procedimiento descrito en el Ejemplo 11. CL/EM [M+H] 661.39 (calculado); CL/EM [M+H] 661.60 (observado).

Ejemplo 45: Síntesis del compuesto 50



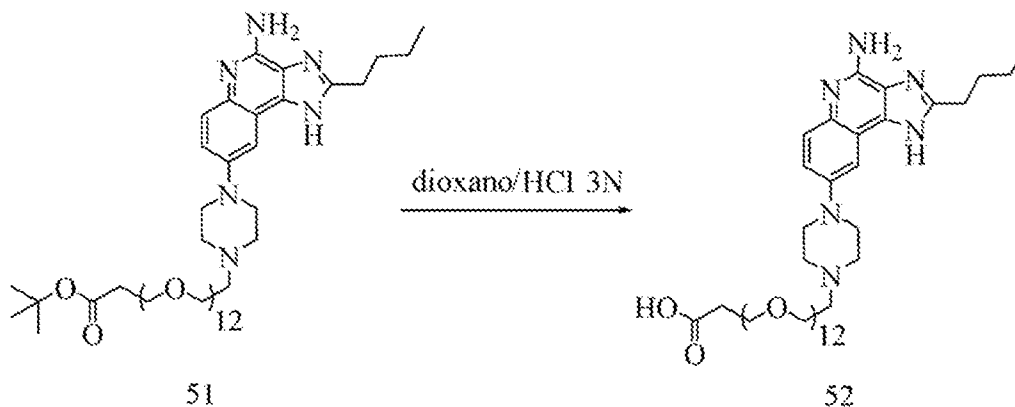
El ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oico se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo según el procedimiento descrito en el Ejemplo 12. CL/EM [M+H] 809.39 (calculado); CL/EM [M+H] 809.62 (observado).

Ejemplo 46: Síntesis del compuesto 51



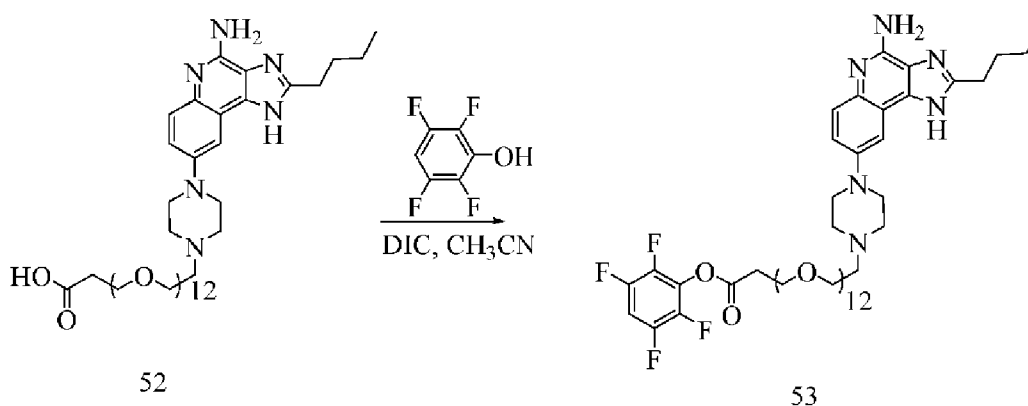
5 La 2-butil-8-(piperazin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amina se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-dodecaoxanonatriacontan-39-oato de *tert*-butilo según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. CL/EM [M+H] 981.61 (calculado); CL/EM [M+H] 981.86 (observado).

Ejemplo 47: Síntesis del compuesto 52



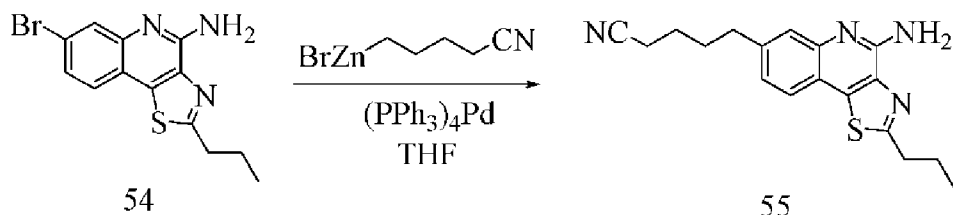
10 El 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-dodecaoxanonatriacontan-39-oato de *tert*-butilo se convirtió en ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-dodecaoxanonatriacontan-39-oico según el procedimiento descrito en el Ejemplo 11. El compuesto se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 48: Síntesis del compuesto 53



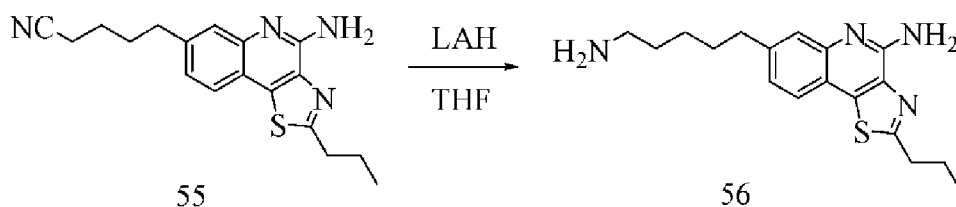
15 El ácido 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-dodecaoxanonatriacontan-39-oico se convirtió en 1-(4-(4-amino-2-butil-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-8-il)piperazin-1-il)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-dodecaoxanonatriacontan-39-oato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo según el procedimiento descrito en el Ejemplo 12. CL/EM [M+H] 1073.54 (calculado); CL/EM [M+H] 1073.81 (observado).

Ejemplo 49: Síntesis del compuesto 55



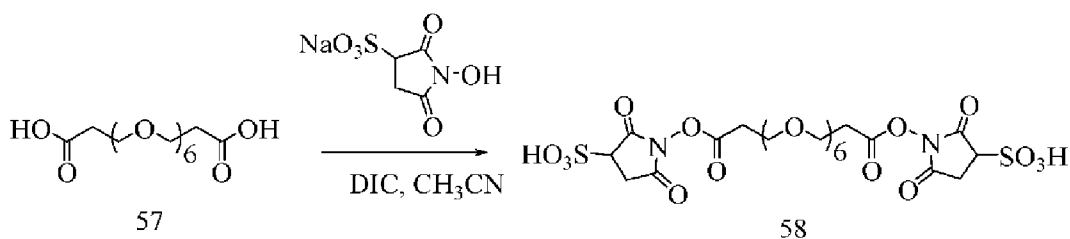
5 A la 7-bromo-2-propiltiazolo[4,5-c]quinolin-4-amina (preparada según la publicación internacional WO 2006/93514) (320 mg, 1 mmol, 1 eq) se añadió una disolución de bromuro de 4-cianobutilcinc (0.5 M en THF, 20 ml, 5 eq) en atmósfera de N₂. Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (115 mg, 0.1 mmol, 0.1 eq) y la mezcla se agitó a 60 °C o 90 minutos. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió bicarbonato sódico sólido (1.0 g, 11.9 mmol, 11.9 eq). A esta suspensión agitada se le añadió agua (0.8 ml) y la suspensión se agitó enérgicamente durante 20 minutos. La suspensión se filtró a través de un tapón de Celite y la torta sólida de filtración se lavó con diclorometano (25 ml). El filtrado se diluyó con diclorometano (60 ml) y los extractos orgánicos se lavaron con solución saturada de bicarbonato sódico (60 ml) y después con salmuera (60 ml). El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo/hexanos) para obtener 5-(4-amino-2-propiltiazolo[4,5-c]quinolin-7-il)pentanonitrilo (268 mg, 0,82 mmol, 82%) en forma de un sólido amarillo después de concentración. CL/EM: [M+H] calculado 325.14; [M+H] observado 325.26.

Ejemplo 50: Síntesis del compuesto 56



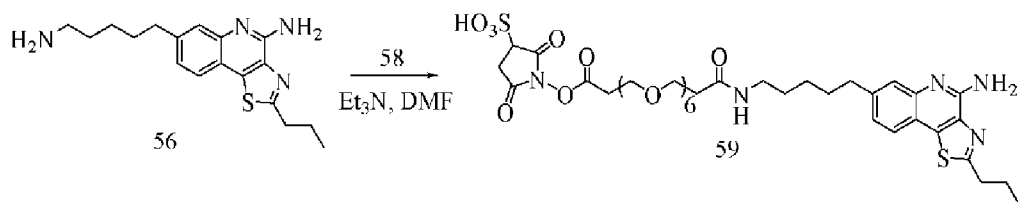
15 Al 5-(4-amino-2-propiltiazolo[4,5-c]quinolin-7-il)pentanonitrilo (260 mg, 0,79 mmol, 1 eq) en THF anhidro (9 ml) se le añadió en porciones hidruro de litio y aluminio sólido (117 mg, 3,2 mmol, 4 eq) en atmósfera de N₂. Después de que cesara el desprendimiento de gas, la mezcla se agitó a 60 °C durante 30 minutos. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió bicarbonato sódico sólido (1.0 g, 11.9 mmol, 14.8 eq). A esta suspensión agitada se le añadió agua (0.3 ml) y la suspensión se agitó enérgicamente durante 20 minutos. La suspensión se filtró a través de un tapón de Celite y la torta sólida de filtración se lavó con diclorometano (25 ml). El filtrado se diluyó con diclorometano (30 ml) y el disolvente se evaporó. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (metanol/diclorometano) para obtener 7-(5-aminopentil)-2-propiltiazolo[4,5-c]quinolin-4-amina (220 mg, 0.67 mmol, 82%) en forma de un sólido amarillo después de concentración. CL/EM: [M+H] calculado 329.17; [M+H] observado 329.31.

Ejemplo 51: Síntesis del compuesto 58



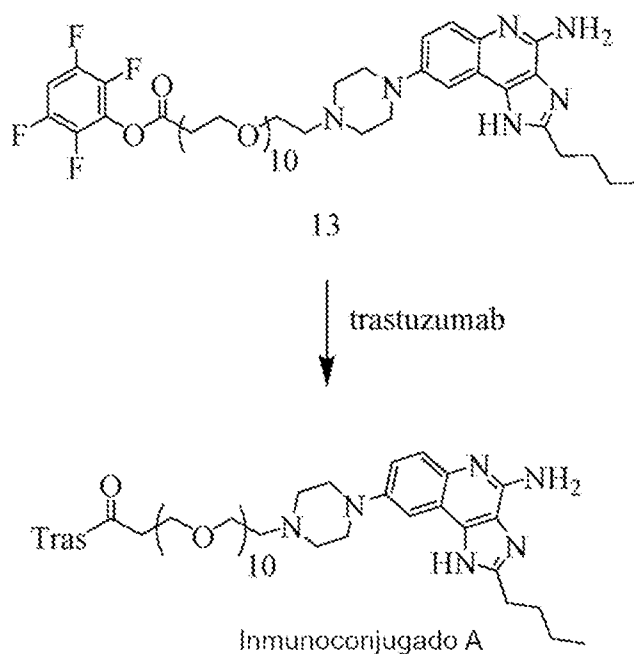
30 A una solución de ácido 4,7,10,13,16,19-hexaoxadocosanoico (286 mg, 0.75 mmol, 1.1 eq) en acetonitrilo (3 ml) se le añadió una mezcla de diisopropilcarbodiimida (283 mg, 2.25 mmol, 3.3 eq) y N-hidroxisuccinimida-3-sulfonato sódico en acetonitrilo (3 ml). La mezcla se trató con ultrasonidos durante 1 minuto y se calentó durante 10 minutos a 50 °C. El 1,1'-(4,7,10,13,16,19-hexaoxadocosanodiolbis(oxi))bis(ácido 2,5-dioxopirrolidina-3-sulfónico) bruto obtenido se usó sin purificación adicional.

Ejemplo 52: Síntesis del compuesto 59



5 El 1,1'-(4,7,10,13,16,19-hexaoxadocosanodioilbis(oxi))bis(ácido 2,5-dioxopirrolidin-3-sulfónico) en acetonitrilo (6 ml) obtenido en la reacción anterior se añadió a 7-(5-aminopentil)-2-propiltiazolo[4,5-c]quinolin-4-amina (220 mg, 0.67 mmol, 1 eq) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se filtró y se extrajo con acetato de etilo. El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó por cromatografía C18 de fase inversa (acetonitrilo/agua + TFA al 0.1%) para obtener el éster de sulfo-NHS del ácido 28-(4-amino-2-propiltiazolo[4,5-c]quinolin-7-il)-22-oxo-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-23-azaoctosanoico (146 mg, 0.17 mmol, 25%) en forma de una película amarillo pálido después de evaporación del disolvente. CL/EM: [M+H] calculado 870.32; [M+H] observado 870.53.

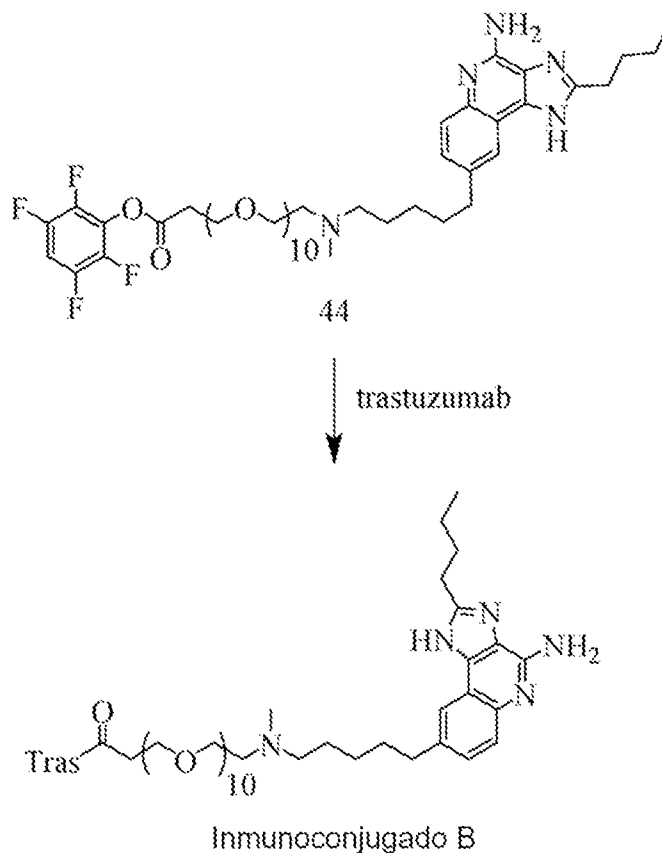
Ejemplo 53: Síntesis del inmunoconjugado A



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado A con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

15 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 7 equivalentes molares del compuesto 13. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado A se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a pH 7.2. La relación adyuvante-anticuerpo (DAR) se determinó mediante análisis por cromatografía 20 líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation, Milford, Massachusetts) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado A tenía una DAR de 2.5.

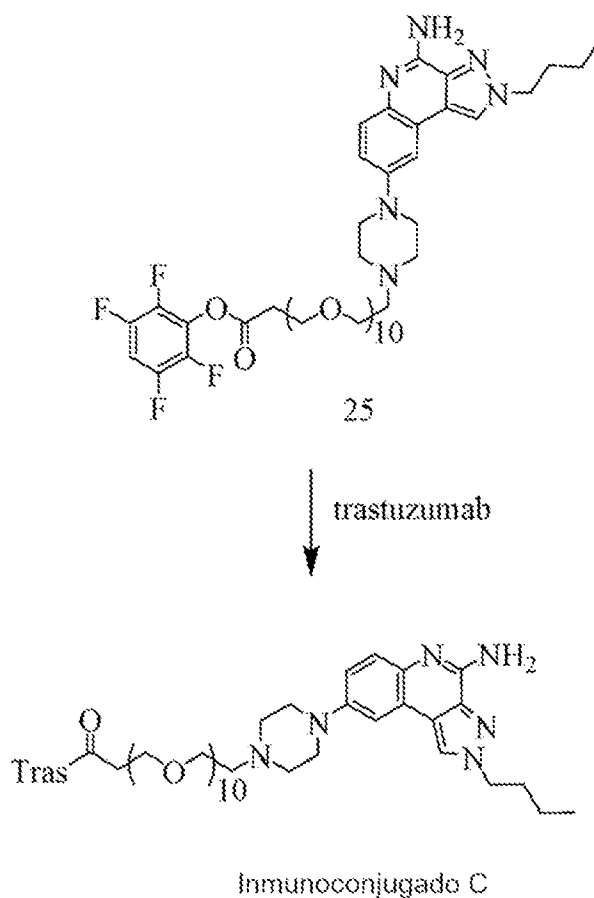
Ejemplo 54: Síntesis del inmunoconjugado B



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado B con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 7.4 equivalentes molares del compuesto 44. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado B se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó
- 10 mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado B tenía una DAR de 2.56.

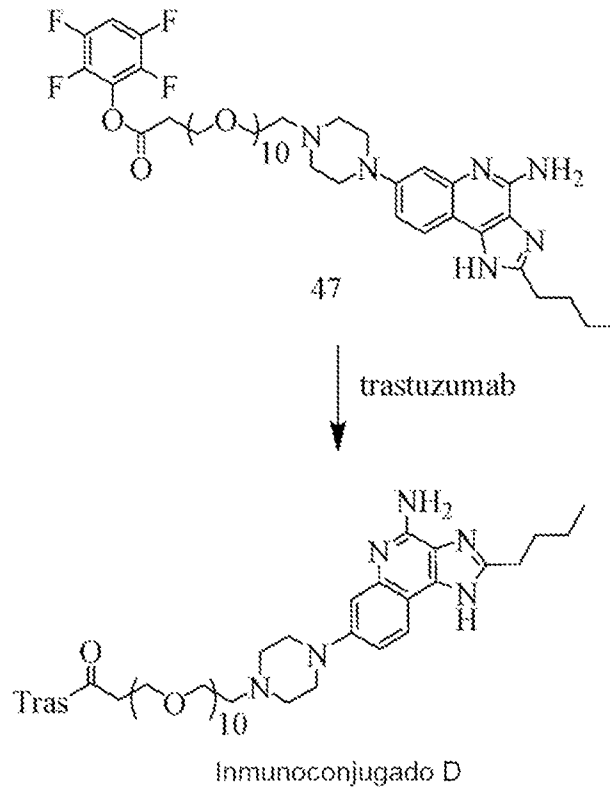
Ejemplo 55: Síntesis del inmunoconjugado C



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado C con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 7.5 equivalentes molares del compuesto 25. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado C se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado C tenía una DAR de 2.65.
- 10

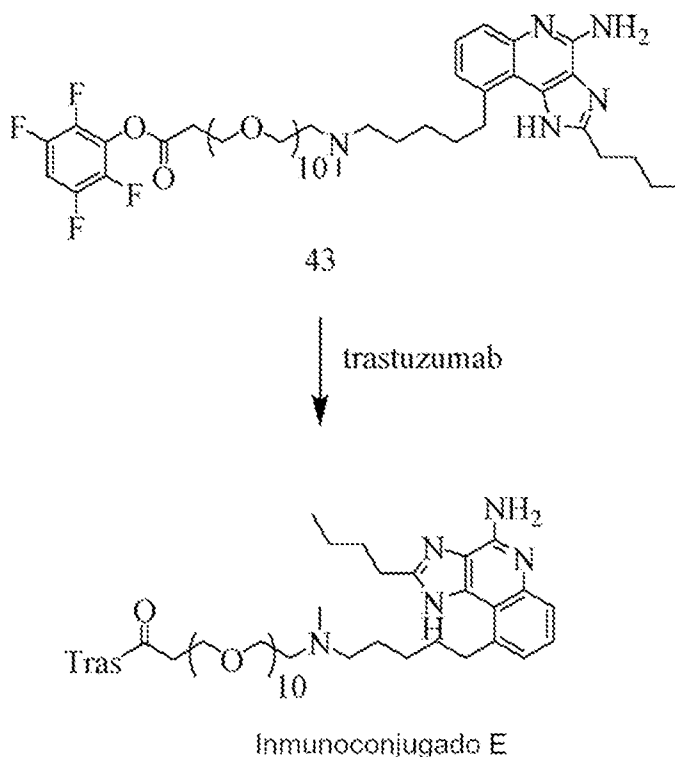
Ejemplo 56: Síntesis del inmunoconjugado D



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado D con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 8.5 equivalentes molares del compuesto 47. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado D se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó
- 10 mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado D tenía una DAR de 2.26.

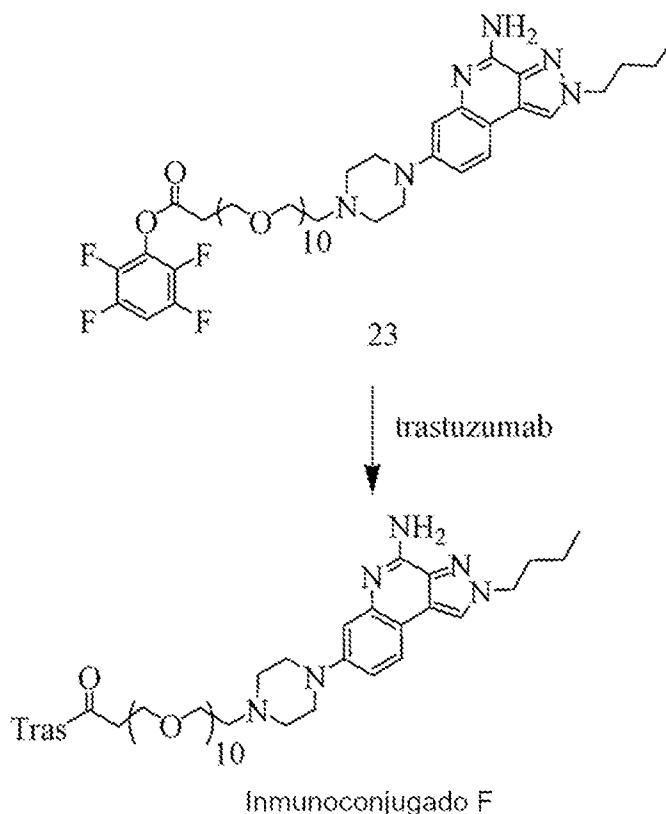
Ejemplo 57: Síntesis del inmunoconjugado E



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado E con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 8 equivalentes molares del compuesto 43. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado E se separó de los reaccionantes
- 10 mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado E tenía una DAR de 2.8.

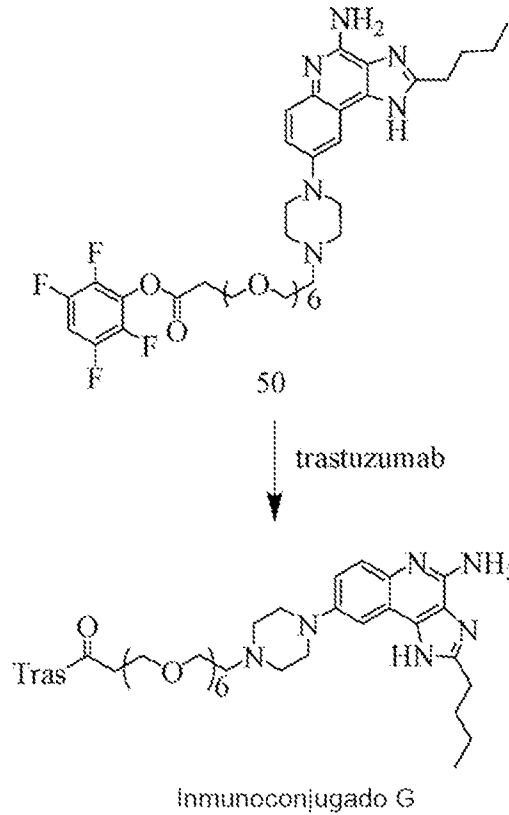
Ejemplo 58: Síntesis del inmunoconjugado F



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado F con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 7.8 equivalentes molares del compuesto 23. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado F se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó
- 10 mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado F tenía una DAR de 2.39.

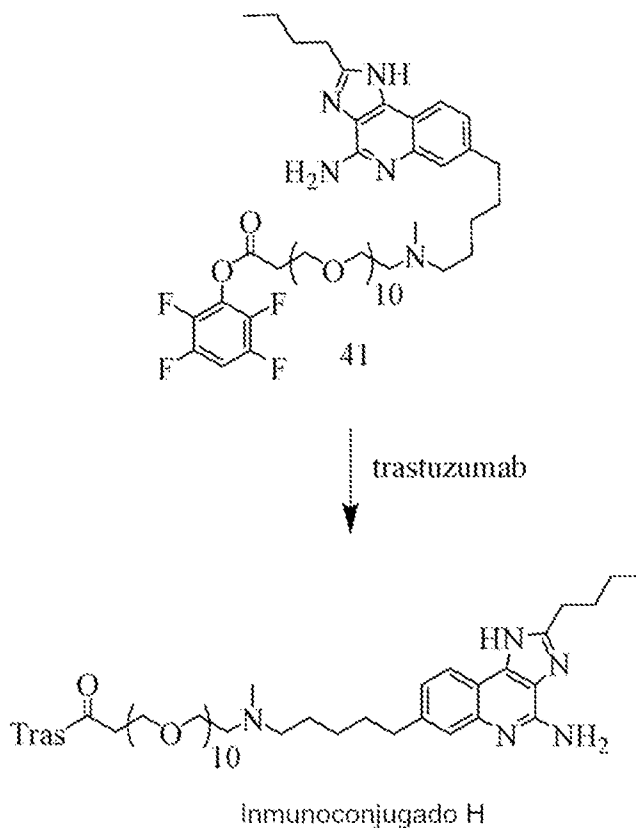
Ejemplo 59: Síntesis del inmunoconjugado G



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado G con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 8.5 equivalentes molares del compuesto 50. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado G se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó
- 10 mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado G tenía una DAR de 2.37.

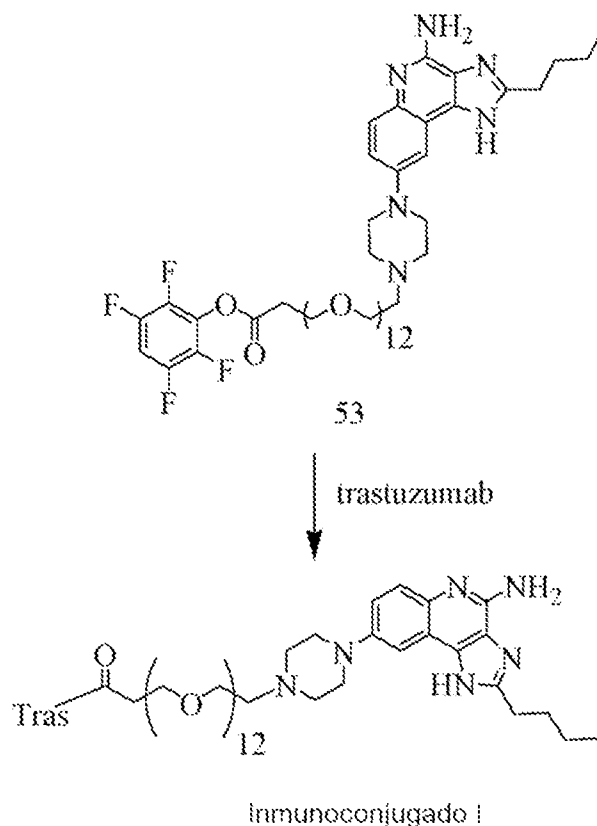
Ejemplo 60: Síntesis del inmunoconjugado H



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado H con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 6 equivalentes molares del compuesto 41. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado H se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado H tenía una DAR de 1.98.
- 10

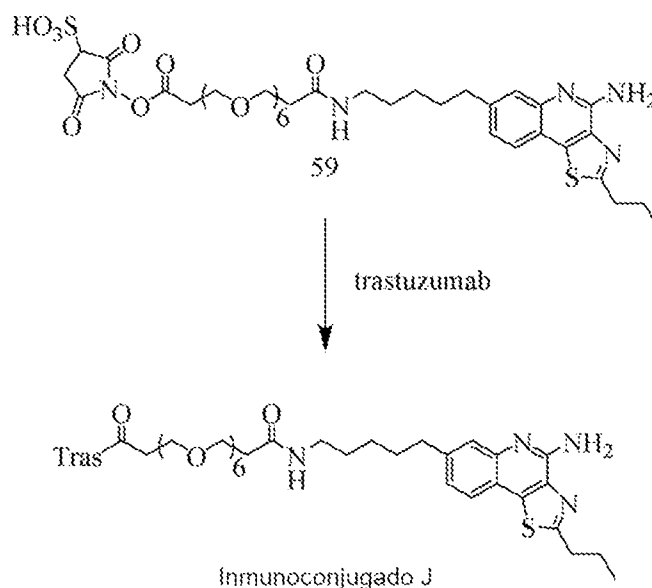
Ejemplo 61: Síntesis del inmunoconjugado I



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoconjugado I con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

- 5 Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 6 equivalentes molares del compuesto
- 10 53. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoconjugado I se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoconjugado I tenía una DAR de 2.15.

Ejemplo 62: Síntesis del inmunoconjugado J



Este ejemplo demuestra la síntesis del inmunoc conjugado J con trastuzumab como construcción de anticuerpo (Tras).

Se intercambió el tampón de trastuzumab al tampón de conjugación que contenía ácido bórico 100 mM, cloruro sódico 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético 1 mM a pH 8.3, usando columnas de desalación G-25 SEPHADEX™ (Sigma-Aldrich). Después se ajustó cada uno de los eluatos a 6 mg/ml usando el tampón y se esterilizaron por filtración. Trastuzumab a 6 mg/ml se precalentó a 30 °C y se mezcló rápidamente con 6 equivalentes molares del compuesto 59. La reacción se dejó proceder durante 16 horas a 30 °C y el inmunoc conjugado J se separó de los reaccionantes pasando por dos columnas de desalación G-25 sucesivas equilibradas en PBS a pH 7.2. La DAR se determinó mediante análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas usando una columna de fase inversa C4 en una UPLC ACQUITY™ H-class (Waters Corporation) conectada a un espectrómetro de masas XEVO™ G2-XS TOF (Waters Corporation). El inmunoc conjugado J tenía una DAR de 2.07.

Ejemplo 63. Evaluación de la actividad de inmunoc conjugado *in vitro*

Este ejemplo muestra que los inmunoc conjugados A-J son eficaces para producir la activación mieloide y, por lo tanto, son útiles para el tratamiento del cáncer.

Aislamiento de células presentadoras de antígeno humanas. Las células presentadoras de antígeno (APC) mieloides humanas se seleccionaron negativamente de sangre periférica humana obtenida de donantes de sangre sanos (Stanford Blood Center, Palo Alto, California) por centrifugación en gradiente de densidad usando un cóctel de enriquecimiento de monocitos humanos ROSETTESEP™ (Stem Cell Technologies, Vancouver, Canadá) que contiene anticuerpos monoclonales contra CD14, CD16, CD40, CD86, CD123 y HLA-DR. Las APC inmaduras se purificaron posteriormente hasta una pureza >97% mediante selección negativa usando un Kit de enriquecimiento de monocitos humanos EASYSEP™ (Stem Cell Technologies) sin agotamiento de CD16 que contiene anticuerpos monoclonales contra CD14, CD16, CD40, CD86, CD123 y HLA-DR.

Preparación de células tumorales. Se usaron tres líneas celulares tumorales: HCC1954, JIMT-1 y COLO 205. HCC1954 (Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC), Manassas, Virginia) se obtuvo de un carcinoma ductal invasivo de grado 3 de estadio IIA primario sin metástasis de ganglios linfáticos. HCC1954 es positiva para el marcador específico de células epiteliales glicoproteína epitelial 2 y para citoqueratina 19, y es negativa para la expresión del receptor de estrógenos (ER) y el receptor de progesterona (PR). HCC1954 sobreexpresa HER2 (determinado por ensayo de inmunoabsorción con enzimas ligadas (ELISA)) con un nivel relativamente "alto" de sobreexpresión. JIMT-1 (DSMZ, Braunschweig, Alemania) se obtuvo de la efusión pleural de una mujer con cáncer de mama ductal (invasivo de grado 3, estadio IIB) después de la radiación postoperatoria. JIMT-1 sobreexpresa HER2 en lo que se considera que es un nivel "medio" de sobreexpresión, pero es insensible a fármacos inhibidores de HER2 (p. ej., trastuzumab). COLO 205 (ATCC) se obtuvo de fluido ascítico de hombre con carcinoma de colon. COLO 205 expresa el antígeno carcinoembrionario (CEA), queratina, interleucina 10 (IL-10), y se considera que sobreexpresa HER2 en un nivel relativamente "bajo" de sobreexpresión.

Las células tumorales de cada línea celular se resuspendieron por separado en PBS con suero bovino fetal (FBS) al 0.1% con de 1 a 10 x 10⁶ células/ml. Las células se incubaron posteriormente con éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE) 2 μM para dar una concentración final de 1 μM. La reacción se inactivó después de 2 minutos mediante la adición

de 10 ml de medio completo con FBS al 10% y se lavó dos veces con medio completo. Las células se fijaron en paraformaldehído al 2% y se lavaron tres veces con PBS o se dejaron viables antes de su uso.

5 Cocultivos de APC-tumor. Se incubaron 2×10^5 APC con (p. ej., FIG. 2A-2I) o sin (p. ej., FIG. 3A-11C) células tumorales marcadas con CFSE en una relación de células efectoras a diana (tumorales) entre 5:1 y 10:1 en placas de 96 pocillos (Corning, Corning, NY) que contenían medio Dulbecco modificado de Iscove (IMDM) (Thermo Fisher Scientific) complementado con FBS al 10%, penicilina 100 U/ml, estreptomina 100 µg/ml, L-glutamina 2 mM, piruvato de sodio, aminoácidos no esenciales, y cuando se indique, diversas concentraciones de anticuerpo HER2 no conjugado e inmunoconjugado A (preparado según los ejemplos anteriores). Las células y los líquidos sobrenadantes exentos de células se analizaron después de 18 horas mediante citometría de flujo o ELISA.

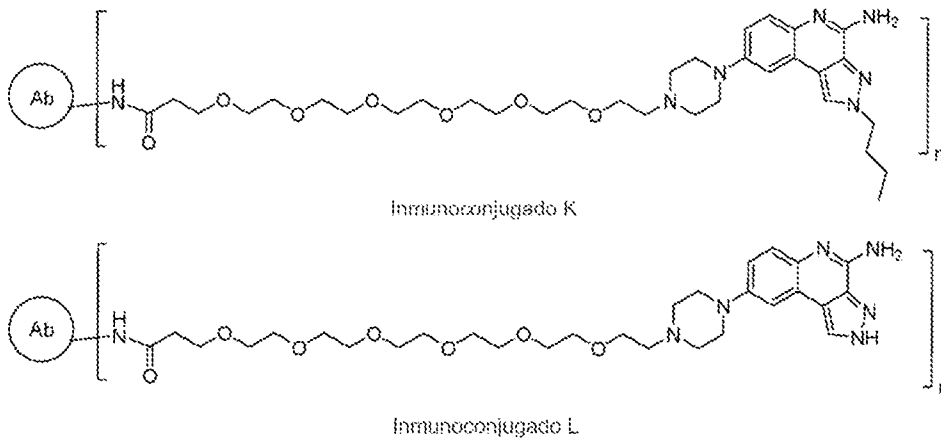
10 Los resultados de este ensayo se muestran en las figuras, por ejemplo, la FIG. 2A (CD40) y la FIG. 2B (CD86) para el Inmunoconjugado A en la línea celular HCC1954, la FIG. 2D (CD40) y la FIG. 2E (CD86) para el Inmunoconjugado A en la línea celular JIMT-1, y la FIG. 2G (CD40) y la FIG. 2H (CD86) para el Inmunoconjugado A en la línea celular COLO 205.

15 Aunque la expresión de moléculas estimuladoras de células T tales como CD40 y CD86 son necesarias para la activación eficaz de células T, las APC también influyen en la naturaleza de la respuesta inmunitaria resultante a través de la secreción de citoquinas proinflamatorias. Por lo tanto, se investigó la capacidad de los inmunoconjugados para producir la secreción de citoquinas en APC humanas después de estimulación. Los datos indican que las células estimuladas con inmunoconjugado secretaron niveles elevados de TNFα. Véase la FIG. 2C para el inmunoconjugado A cocultivado con la línea celular HCC1954, la FIG. 2F para el inmunoconjugado A cocultivado con la línea celular JIMT-1, y la FIG. 2I para el inmunoconjugado A cocultivado con la línea celular COLO 205.

20 Se proporcionan datos similares para los inmunoconjugados B-J en las Figuras 3A-11C (sin cocultivo).

Ejemplo 64. Comparación del inmunoconjugado K con el inmunoconjugado L

Este ejemplo muestra el aumento en la actividad de inmunoconjugado demostrado por un inmunoconjugado que comprende un resto adyuvante que comprende además un sustituyente hidrófobo con al menos 1 átomo de carbono.



25 Para determinar la DAR, los inmunoconjugados K y L se acidifican (diluidos 5 veces o más en agua, ácido fórmico al 0.2%) y se inyectan en una columna de fase inversa Waters BEH-C4 (número de producto 186004495) conectada a una UPLC de Waters Aquity H-class y se separan usando un gradiente lineal de acetonitrilo al 1-90%, ácido fórmico al 0.1%. Los eluatos de la columna C4 se analizan continuamente mediante ionización por electropulverización en un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo (TOF) Waters Xevo G2-XS. Para determinar la DAR para un conjugado, en primer lugar es necesario identificar la ventana de tiempo en el cromatograma de corriente iónica total (TIC) que corresponde a la ventana de elución para el conjugado de anticuerpo de la columna C4. Una vez seleccionados, los iones observados, que representan varias familias de especies de masa/carga (m/z) que eluyen conjuntamente (una familia para cada especie de proteína) dentro de la ventana de tiempo dada se deconvolucionan usando el software MassLynx v4.1 de Water en masas exactas para cada especie de DAR presente. La intensidad de los picos para cada especie de DAR se combina entonces usando la ecuación 1:

$$\text{DAR media} = \frac{(1 \times i\text{DAR}1) + (2 \times i\text{DAR}2) + (3 \times i\text{DAR}3) + (4 \times i\text{DAR}4)}{i\text{DAR}0 + i\text{DAR}1 + i\text{DAR}2 + i\text{DAR}3 + i\text{DAR}4} \text{ Ec. 1}$$

en donde iDAR es igual a la intensidad de pico observada (iones observados) para una especie de DAR dada y el número total de especies observadas es cinco (cuatro especies de DAR + anticuerpo no marcado). La ecuación puede ajustarse según se requiera para el número de especies presentes. Esta ecuación es para un conjugado de anticuerpo que se ha desglucosilado antes del análisis de CL-EM. Para el análisis de un anticuerpo glicosilado, cada especie de DAR puede representarse por múltiples picos dentro de la ventana de tiempo desconvolucionada. En este caso iDARn

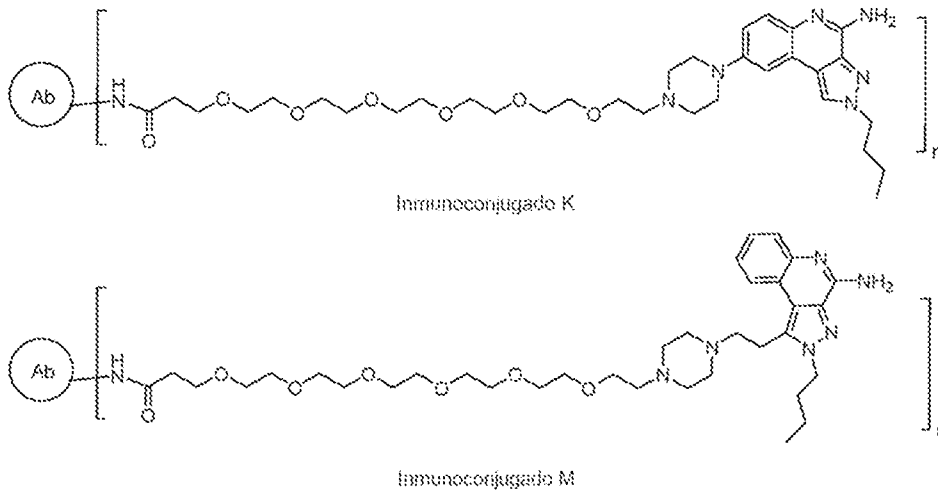
= $[n \times (iDAR_{n_{gly1}} + iDAR_{n_{gly2}} + iDAR_{n_{gly3}})]$ donde n es la especie de DAR y el número de variantes de glicosilación observadas es tres, por ejemplo.

5 El inmunoconjugado K con trastuzumab como anticuerpo y una DAR de 2 y el inmunoconjugado L con trastuzumab como anticuerpo y una DAR de 2 se analizan usando los procedimientos de actividad adyuvante y actividad de inmunoconjugado descritos en el presente documento.

El inmunoconjugado K aumentó la actividad *in vitro* en comparación con el inmunoconjugado L, como se pone de manifiesto por la activación mieloide. Por lo tanto, un resto adyuvante que comprende además un sustituyente hidrófobo con al menos 1 átomo de carbono potencia la actividad del inmunoconjugado.

Ejemplo 65. Comparación del inmunoconjugado K con el inmunoconjugado M

10 Este ejemplo muestra la importancia de la localización del punto de unión de un conector presentada por dos inmunoconjugados unidos en diferentes localizaciones relativas al resto 2-amino.



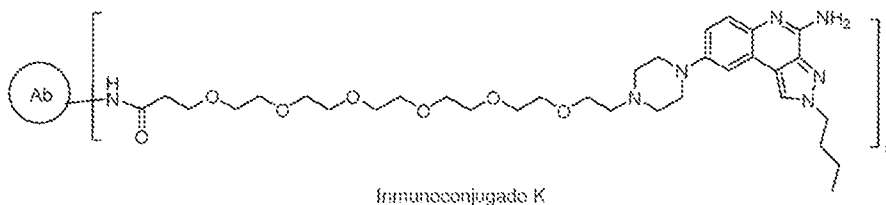
Las DAR de los inmunoconjugados K y M se determinaron según el procedimiento proporcionado en el Ejemplo 64.

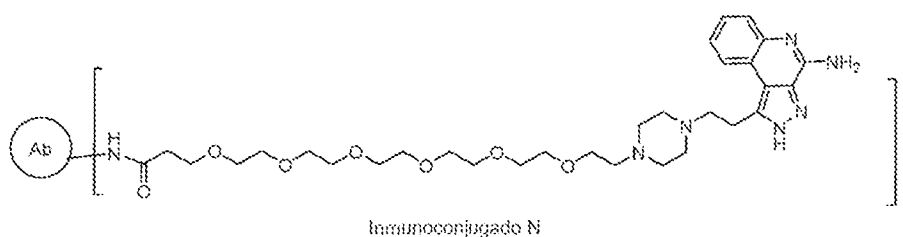
15 El inmunoconjugado K con trastuzumab como anticuerpo y una DAR de 2 y el inmunoconjugado M con trastuzumab como anticuerpo y una DAR de 2 se analizaron usando los procedimientos de actividad adyuvante y actividad de inmunoconjugado descritos en el presente documento.

20 El inmunoconjugado K aumentó la actividad *in vitro* en comparación con el inmunoconjugado M, como se pone de manifiesto por la activación mieloide. Por lo tanto, un resto adyuvante que tiene un punto de unión de un conector más alejado del resto 2-amino puede potenciar la actividad del inmunoconjugado, demostrando de ese modo la importancia del punto de unión del conector.

Ejemplo 66. Comparación del inmunoconjugado K con el inmunoconjugado N

25 Este ejemplo muestra el efecto sinérgico de un inmunoconjugado que comprende un resto adyuvante que comprende además un sustituyente hidrófobo con al menos 1 átomo de carbono y un punto preferido de unión del conector, como se pone de manifiesto por la activación mieloide.





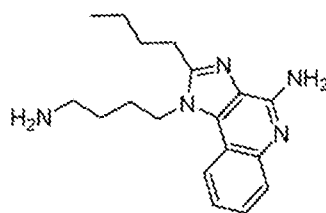
Las DAR de los immunoconjugados K y N se determinaron según el procedimiento proporcionado en el Ejemplo 64.

5 El immunoconjugado K con trastuzumab como anticuerpo y una DAR de 2 y el immunoconjugado N con trastuzumab como anticuerpo y una DAR de 2 se analizaron usando los procedimientos de actividad adyuvante y actividad de immunoconjugado descritos en el presente documento.

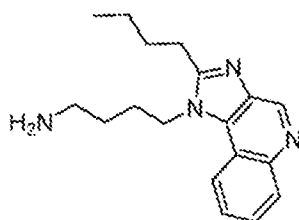
10 El immunoconjugado K aumentó la actividad *in vitro* en comparación con el immunoconjugado N, como se pone de manifiesto por la activación mieloide. El aumento en la actividad del immunoconjugado K, con respecto al immunoconjugado N, es mayor que la suma del beneficio conseguido con respecto a los immunoconjugados L y M (véanse los ejemplos 64 y 65). Por lo tanto, este ejemplo demuestra el efecto sinérgico de un immunoconjugado que comprende un resto adyuvante que comprende además un sustituyente hidrófobo con al menos 1 átomo de carbono y un punto preferido de unión del conector, tal como se pone de manifiesto por la activación mieloide.

Ejemplo 67. Comparación del adyuvante 1 con el adyuvante 2

15 Este ejemplo muestra la importancia del nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino para mantener la actividad de un adyuvante, como se pone de manifiesto mediante células indicadoras HEK293 que expresan TLR7 humano o TLR8 humano.



Adyuvante 1



Adyuvante 2

Las actividades de los adyuvantes 1 y 2 se midieron usando un ensayo indicador HEK293 en donde se mide la actividad de NF-KB. Los detalles del ensayo son los siguientes.

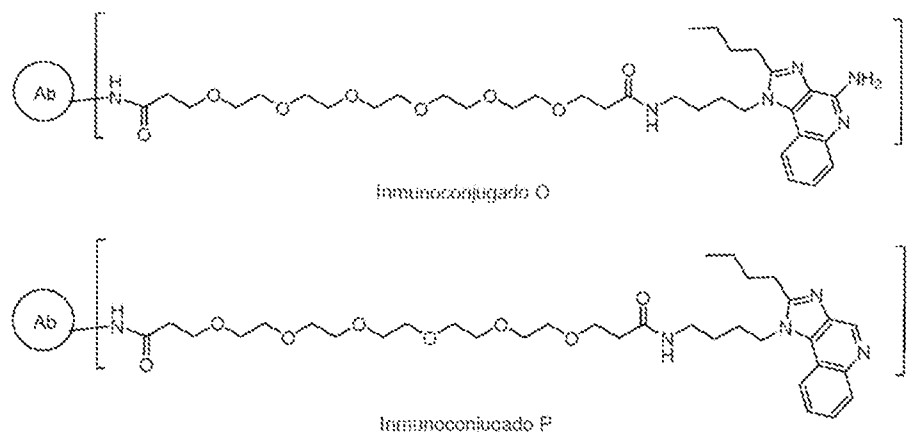
20 Las células indicadoras HEK293 que expresan TLR7 humano o TLR8 humano se adquirieron de Invivogen (San Diego, CA) y se siguieron los protocolos del proveedor para la propagación celular y la experimentación. Las células se cultivaron hasta una confluencia de 80-85% en 5% de CO₂ en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con suero bovino fetal al 10% (FBS), zeocina y blasticidina. Las células se sembraron después en placas planas de 96 pocillos a 4x10⁴ células/pocillo con sustrato que contiene medio de detección HEK y adyuvante 1
25 o adyuvante 2 en las cantidades especificadas en la FIG. 12. La actividad se midió usando un lector de placas a 620-655 nm. Los resultados se exponen en la FIG. 12.

La FIG. 12 muestra que el adyuvante 2 era completamente inactivo tanto en las células indicadoras TLR7 como TLR8 en comparación con el adyuvante 1. Este resultado demuestra que el nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino es necesario para mantener la actividad de un adyuvante para TLR7 y/o TLR8.

30 Ejemplo 68. Comparación del immunoconjugado O con el immunoconjugado P

Este ejemplo muestra la importancia del nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino para mantener la actividad de un immunoconjugado, como se pone de manifiesto por la actividad del immunoconjugado y la diferenciación de

células dendríticas.



Las DAR de los inmunocójugados O y P se determinaron según el procedimiento proporcionado en el Ejemplo 64.

- 5 El inmunocójugado O con rituximab como anticuerpo y una DAR de 1.9 y el inmunocójugado P con rituximab como anticuerpo y una DAR de 2.2 se analizaron usando los procedimientos de actividad adyuvante y actividad de inmunocójugado descritos en el presente documento, y los resultados se exponen en las FIGs. 13 y 14.

10 La FIG. 13 muestra que la supresión de la actividad de TLR (véase el Ejemplo 67) en el inmunocójugado P daba como resultado una detención completa en la activación, medida por la regulación por incremento de moléculas coestimuladoras CD40 y CD86. La FIG. 13 muestra además que la regulación por incremento de las moléculas coestimuladoras CD40 y CD86 por el inmunocójugado P era comparable al control de anticuerpo y significativamente reducida en comparación con el inmunocójugado O. Estos resultados demuestran que el nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino es necesario para mantener la actividad del inmunocójugado medida por la regulación por incremento de las moléculas coestimuladoras CD40 y CD86.

15 La FIG. 14 muestra que la supresión de la actividad de TLR (véase el Ejemplo 67) en el inmunocójugado P daba como resultado una detención completa en la diferenciación de células dendríticas, medida por la expresión de CD14, CD16 y CD123. Cuando se trataron con inmunocójugado O, CD14 y CD16, ambos marcadores encontrados en monocitos eran regulados por disminución. Por el contrario, CD123, un marcador expresado en células dendríticas derivadas de mieloides inflamatorias, era regulado por incremento después del tratamiento con el inmunocójugado O. Sin embargo, cuando se trató con el inmunocójugado P, los resultados eran comparables al control de anticuerpo, no produciendo diferenciación de células dendríticas, medida por la expresión de CD14, CD16 y CD123. Estos resultados demuestran que el nitrógeno colgante del resto nitrógeno 2-amino es necesario para inducir la diferenciación de células dendríticas medida por la expresión de CD14, CD16 y CD123.

25 El uso de los términos "un" y "una" y "el" y "la" y "al menos uno" y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse que cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso del término "al menos uno" seguido de una lista de uno o más elementos (p. ej., "al menos uno de A y B") debe interpretarse que significa un elemento seleccionado de los elementos mencionados (A o B) o cualquier combinación de dos o más de los elementos mencionados (A y B), a menos que se indique lo contrario en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto. Los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye" y "que contiene" deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significan "que incluye, pero no se limita a") a menos que se indique lo contrario. La mención de intervalos de valores en el presente documento está destinada simplemente a servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en el presente documento, y cada valor separado se incorpora en la memoria descriptiva como si se mencionara individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente de otro modo. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o lenguaje ejemplar (p. ej., "tal como") proporcionados en el presente documento, pretende meramente iluminar mejor la invención y no supone una limitación en el alcance de la invención a menos que se reivindique lo contrario. Ningún lenguaje en la memoria descriptiva debe interpretarse como indicativo de que cualquier elemento no reivindicado es esencial para la práctica de la invención.

45 En el presente documento se describen realizaciones preferidas de esta invención, incluyendo el mejor modo conocido por los autores de la invención para llevar a cabo la invención. Variaciones de esas realizaciones preferidas pueden resultar evidentes para los expertos en la técnica tras leer la descripción anterior. Los autores de la invención esperan que los expertos empleen dichas variaciones según sea apropiado, y los autores de la invención pretenden que la invención se ponga en práctica de manera diferente a la descrita específicamente en el presente documento.

REIVINDICACIONES

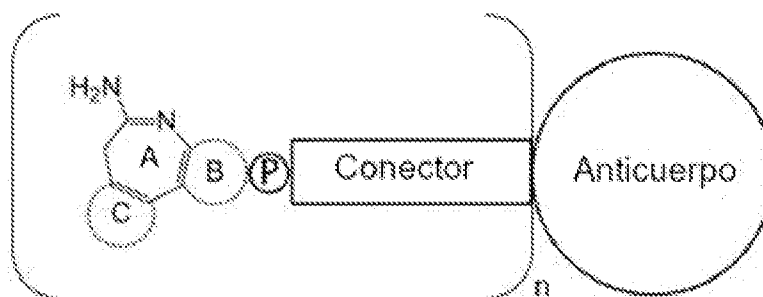
1. Un inmunoconjugado que comprende:

(a) una construcción de anticuerpo que comprende (i) un dominio de unión a antígeno y (ii) un dominio Fc y

5 (b) 1-8 núcleos de adyuvantes, en donde cada núcleo de adyuvante está unido covalentemente a la construcción de anticuerpo a través de un conector, en donde cada núcleo de adyuvante comprende un resto de nitrógeno 2-amino con un átomo de nitrógeno colgante y un punto de unión del conector al núcleo de adyuvante, y en donde la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del conector es mayor de 5 Å,

en donde

el inmunoconjugado es de fórmula:



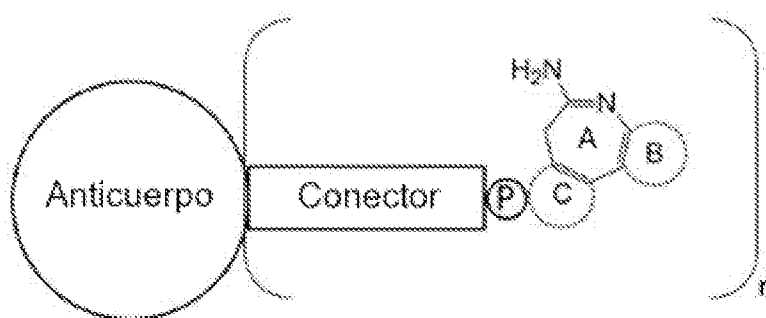
10

Inmunoconjugado D2,

en donde el núcleo de adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, en donde A y B están presentes y C está opcionalmente presente, y B y C indican anillos de 5, 6 o 7 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, y que comprenden opcionalmente heteroátomos además del resto de nitrógeno 2-amino, y el núcleo del adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido, P representa el punto de unión del conector al anillo B, y n es un número entero de 1 a 8, o

15

el inmunoconjugado es de fórmula:



20

Inmunoconjugado D4,

en donde el núcleo de adyuvante está representado por anillos condensados A, B y C, en donde A y C están presentes y B está opcionalmente presente, y B y C indican anillos de 5, 6 o 7 miembros, que comprenden opcionalmente dobles enlaces, y que comprenden opcionalmente heteroátomos además del resto de nitrógeno 2-amino, y el núcleo de adyuvante está opcionalmente sustituido de manera que el patrón de sustitución alrededor del núcleo de adyuvante no está particularmente limitado, siempre que el resto de nitrógeno 2-amino permanezca no sustituido, P representa el punto de unión del conector al anillo C, y n es un número entero de 1 a 8.

25

2. El inmunoconjugado de la reivindicación 1, en donde la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del conector es mayor que 5.5 Å, y preferiblemente la distancia entre el átomo de nitrógeno colgante y el punto de unión del conector es mayor que 6 Å.

30

3. El inmunoconjugado de la reivindicación 1 o 2, en donde cuando se une a un dominio de unión de un TLR8 que comprende un resto de ácido aspártico, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de 5 Å de un oxígeno carbonílico de una cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico.

4. El inmunoconjugado de la reivindicación 3, en donde el resto de ácido aspártico es Asp543.
5. El inmunoconjugado de la reivindicación 3 o 4, en donde el átomo de nitrógeno colgante del resto nitrógeno 2-amino está a menos de 3 Å del oxígeno carbonílico de la cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico.
6. El inmunoconjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde cuando se une a un dominio de unión de un TLR7 que comprende un resto de ácido aspártico, el átomo de nitrógeno colgante del resto de nitrógeno 2-amino está a menos de 5 Å de un oxígeno carbonílico de una cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico.
7. El inmunoconjugado de la reivindicación 6, en donde el resto de ácido aspártico es Asp555.
8. El inmunoconjugado de la reivindicación 6 o 7, en donde el átomo de nitrógeno colgante del resto nitrógeno 2-amino está a menos de 3 Å del oxígeno carbonílico de la cadena lateral ácida del resto de ácido aspártico.
9. El inmunoconjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde cuando se une al dominio de unión de un TLR8 que comprende un resto de arginina y serina, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 10 Å de un átomo de oxígeno de una cadena lateral del resto de serina y/o el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 10 Å de un átomo de nitrógeno de una cadena lateral del resto de arginina, y preferiblemente el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 7 Å del átomo de oxígeno de la cadena lateral del resto de serina y el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 7 Å del átomo de nitrógeno de la cadena lateral del resto de arginina.
10. El inmunoconjugado de la reivindicación 9, en donde el resto de serina es Ser352 y el resto de arginina es Arg429.
11. El inmunoconjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde cuando se une al dominio de unión de un TLR7 que comprende un resto de lisina y valina, el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 10 Å de un átomo de carbono metino de una cadena lateral del resto de valina y/o el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 10 Å de un átomo de nitrógeno de una cadena lateral del resto de lisina, y preferiblemente el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 7 Å del átomo de carbono metino de la cadena lateral del resto de valina y el punto de unión del conector al núcleo de adyuvante está a de 3 Å a 7 Å del átomo de nitrógeno de la cadena lateral del resto de lisina.
12. El inmunoconjugado de la reivindicación 11, en donde el resto de valina es Val355 y el resto de lisina es Lys432.
13. El inmunoconjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el dominio de unión a antígeno se une a un antígeno seleccionado del grupo que consiste en HER2, EGFR, PD-L1, CEA CDH1, CD 19, CD20, CD29, CD30, CD40, CD47, EpCAM, SLAMF7, PDGFRa, gp75, MSLN, CA6, CA9, CDH6, CTAG1B/NY-ESO-1, LAMP1, LeY, MAGEA3/A6, P-cadherina, BCMA, CD38, HLA-DR, ROR1, WT1, GFRA1, FR-alfa, L1-CAM, LRRC15, MUC1, MUC16, PSMA, SLC34A2, TROP2, GPC3, CCR8 y VEGF, y preferiblemente HER2, EGFR, PD-L1 y CEA.
14. El inmunoconjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la construcción de anticuerpo es un anticuerpo, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en olaratumab, obinutuzumab, trastuzumab, cetuximab, rituximab, pertuzumab, bevacizumab, daratumumab, etanercept, pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab, ipilimumab, panitumumab, zalutumumab, nimotuzumab, matuzumab y elotuzumab.
15. Una composición que comprende una pluralidad de inmunoconjugados según una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, que comprende opcionalmente además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
16. Un inmunoconjugado según una cualquiera de las reivindicaciones 1-14 o una composición según la reivindicación 15 para usar en el tratamiento del cáncer.

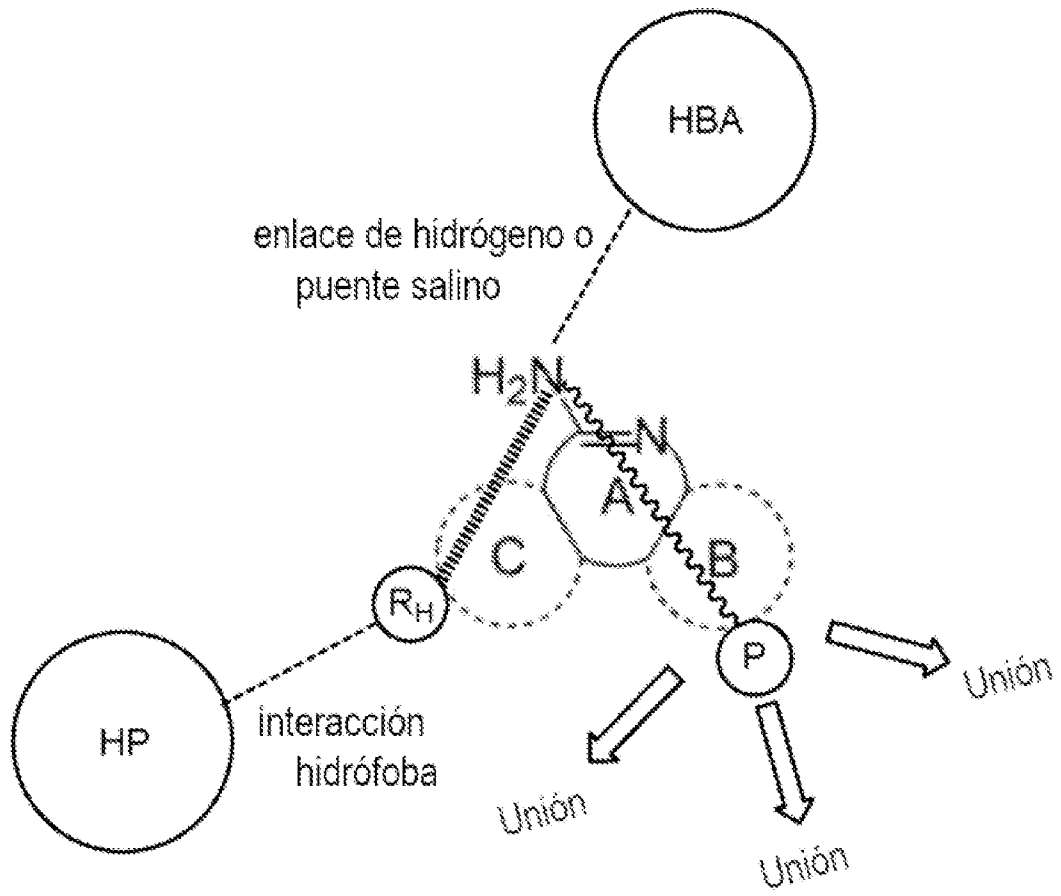


FIG. 1

HCC1954

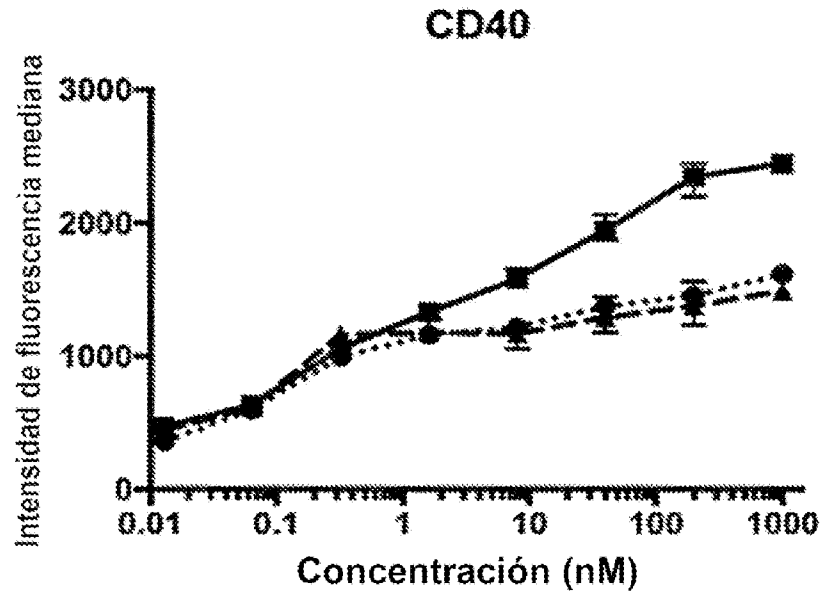


FIG. 2A

HCC1954

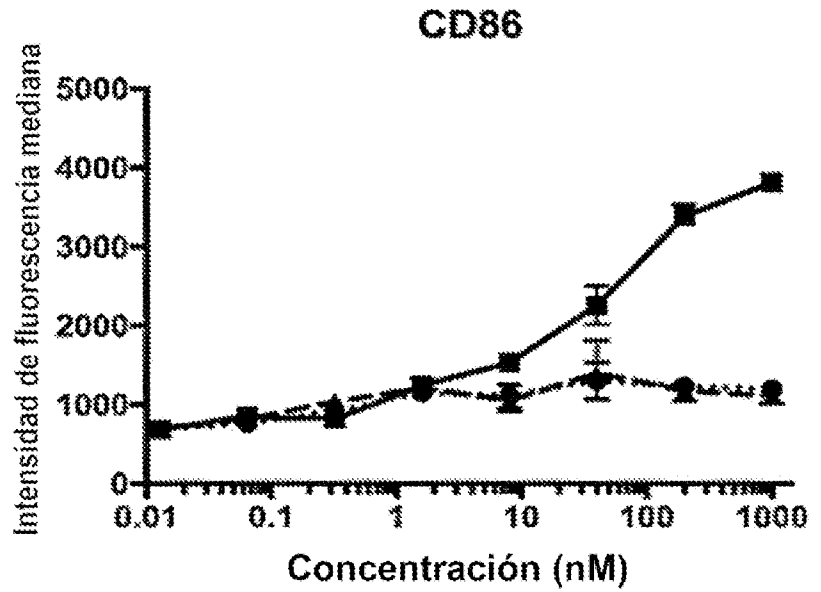


FIG. 2B

HCC1954

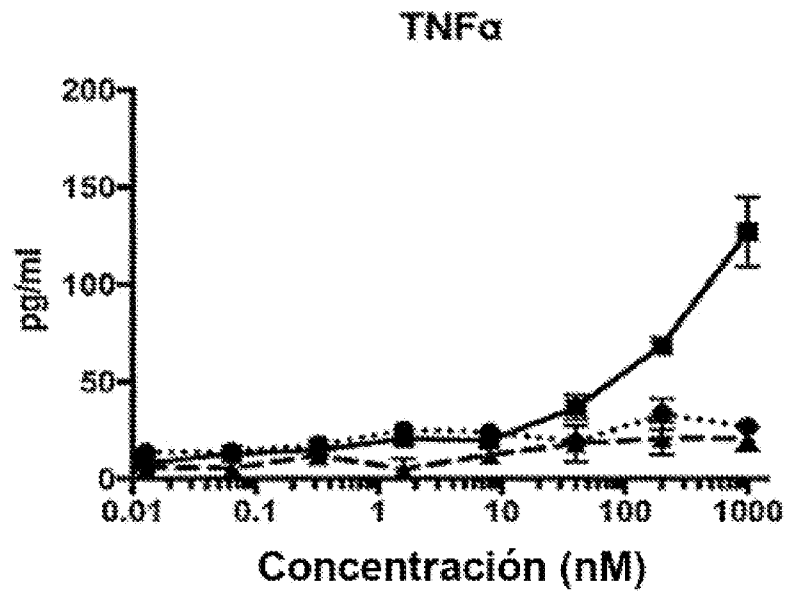


FIG. 2C

JIMT-1

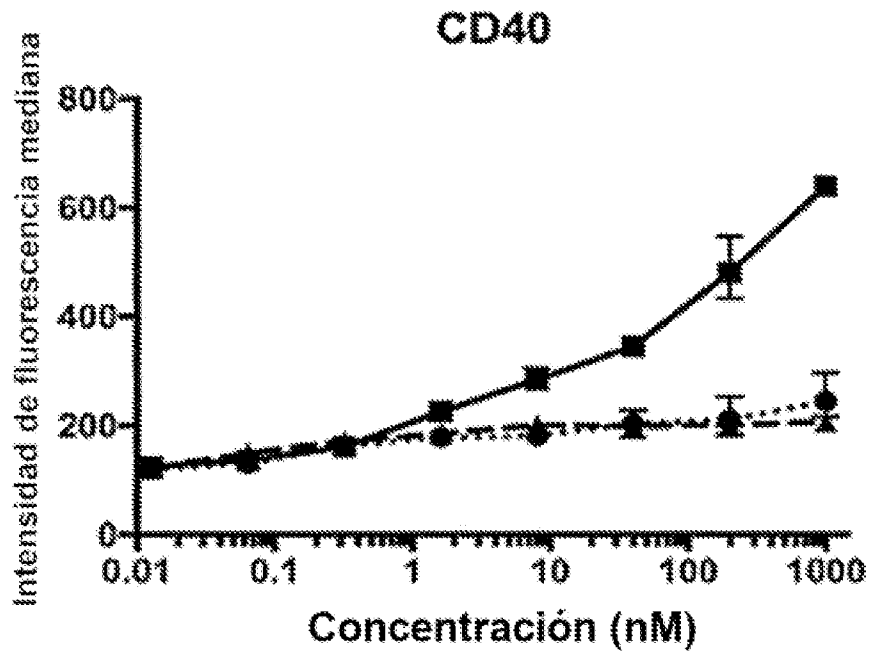


FIG. 2D

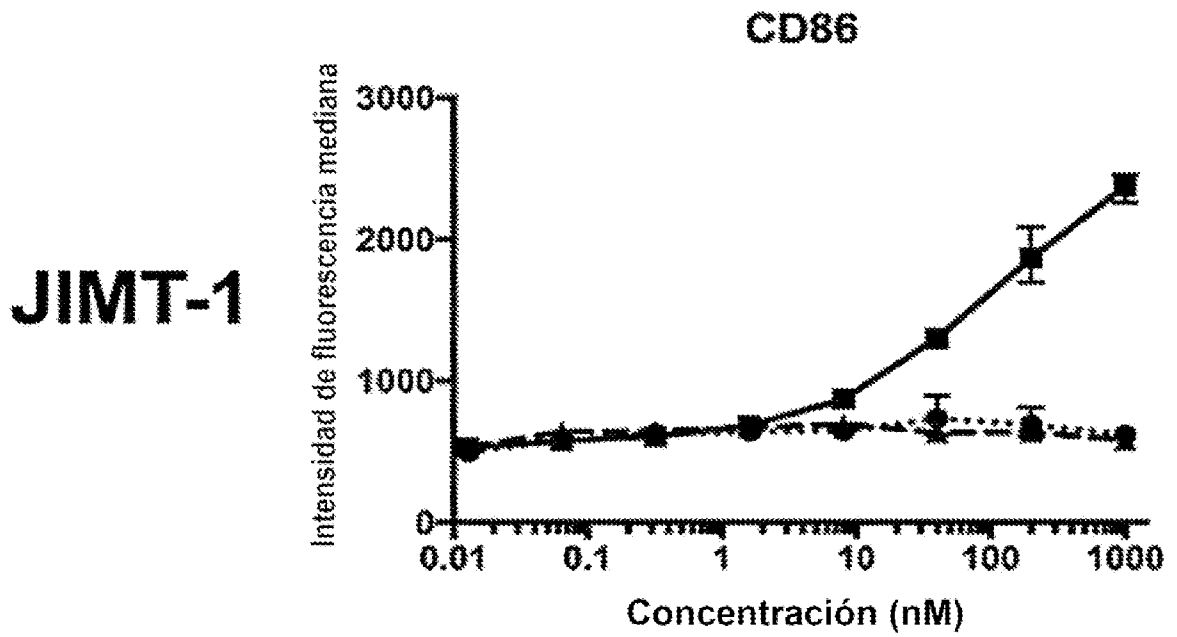


FIG. 2E

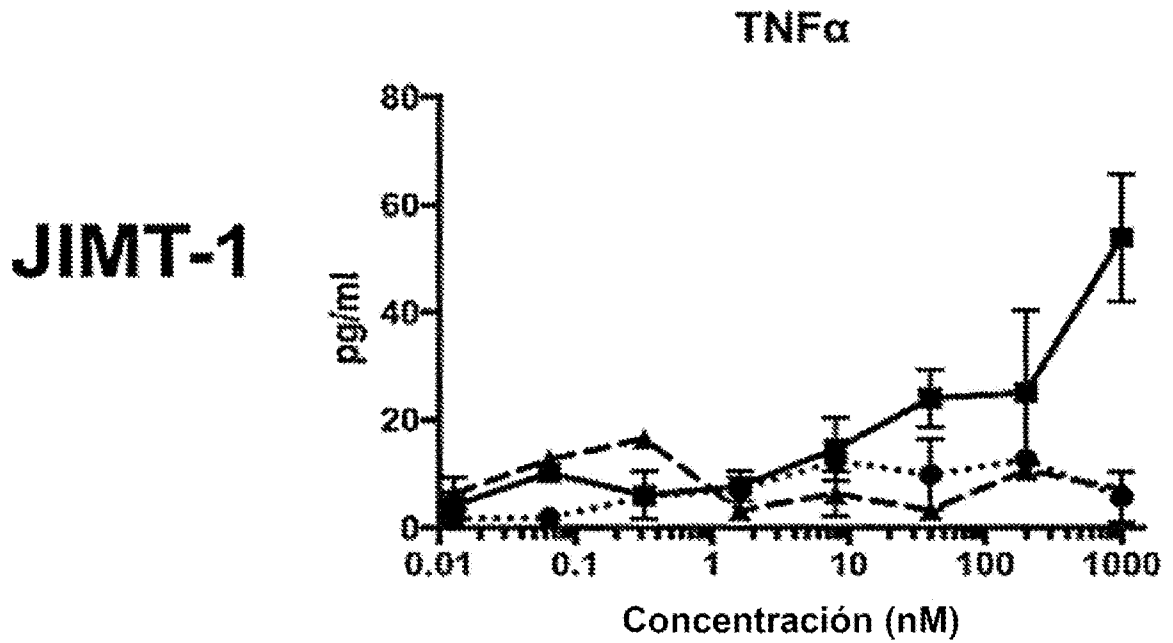


FIG. 2F

COLO 205

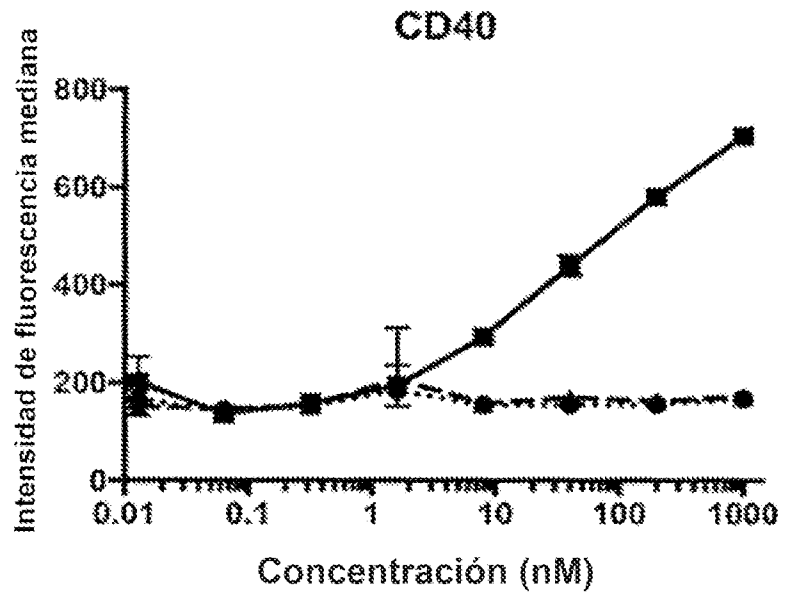


FIG. 2G

COLO 205

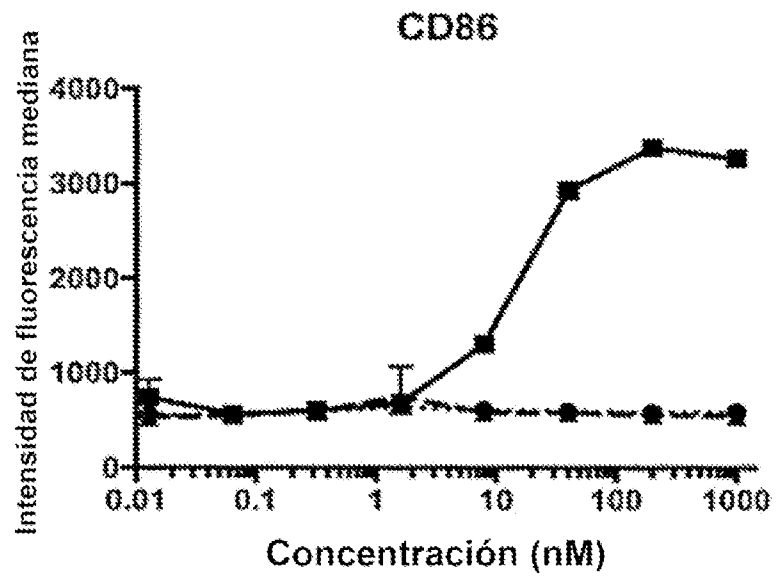


FIG. 2H

COLO 205

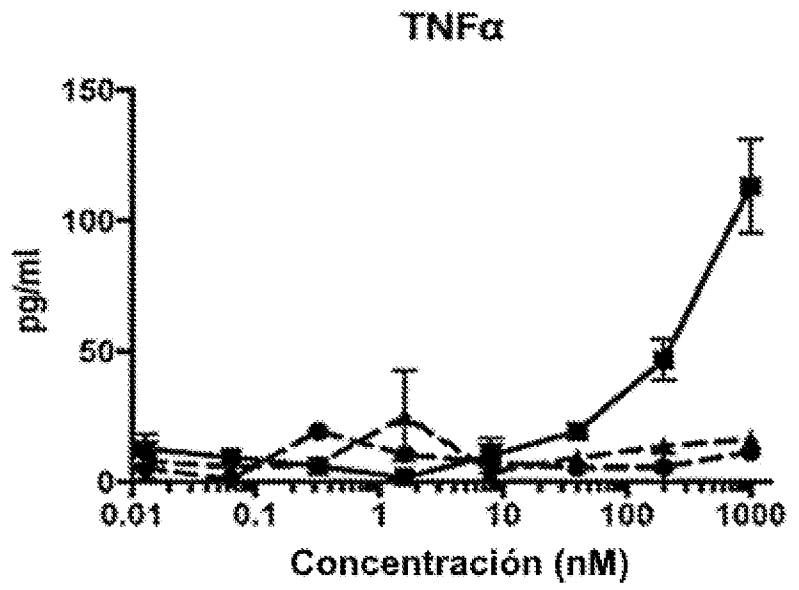


FIG. 21

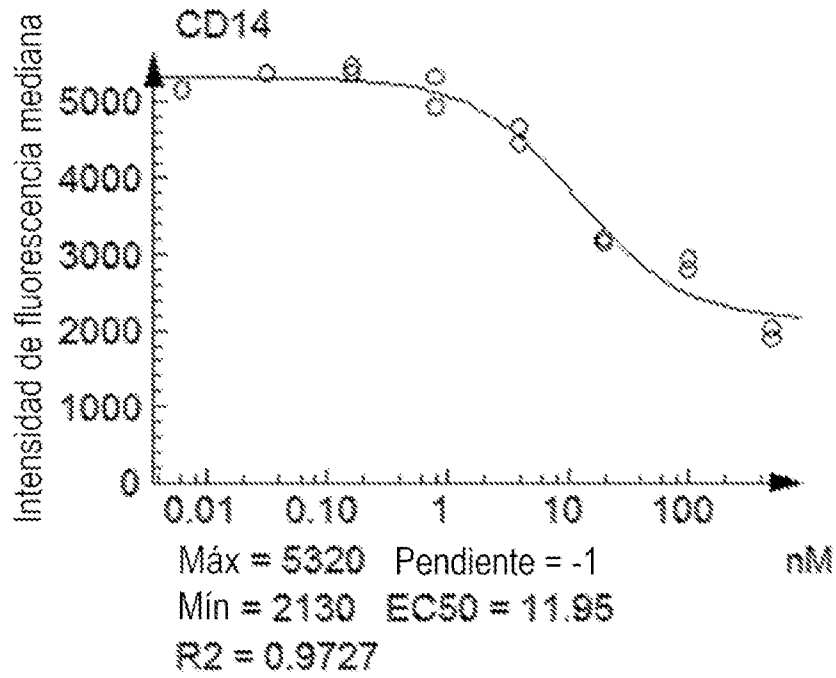


FIG. 3A

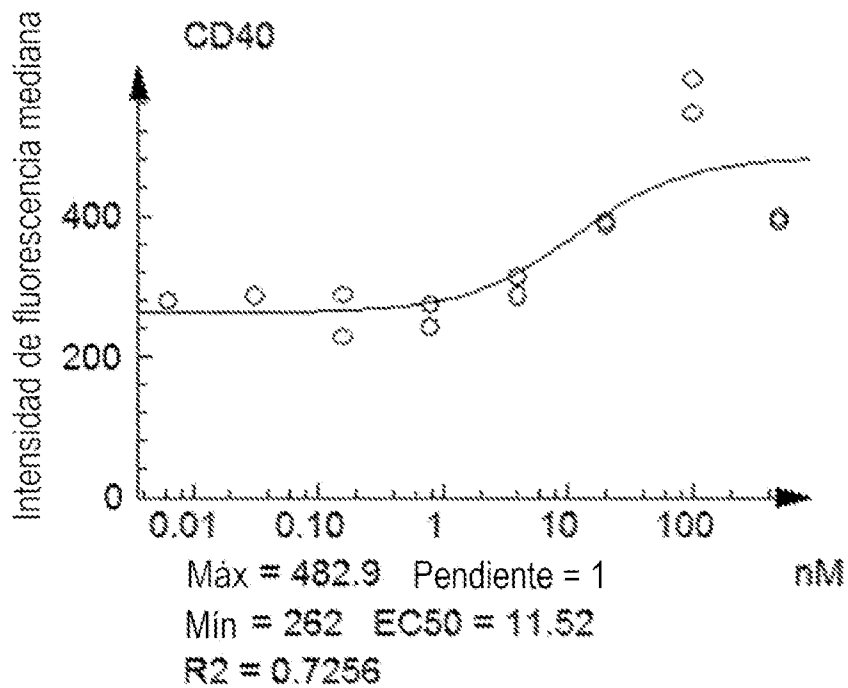


FIG. 3B

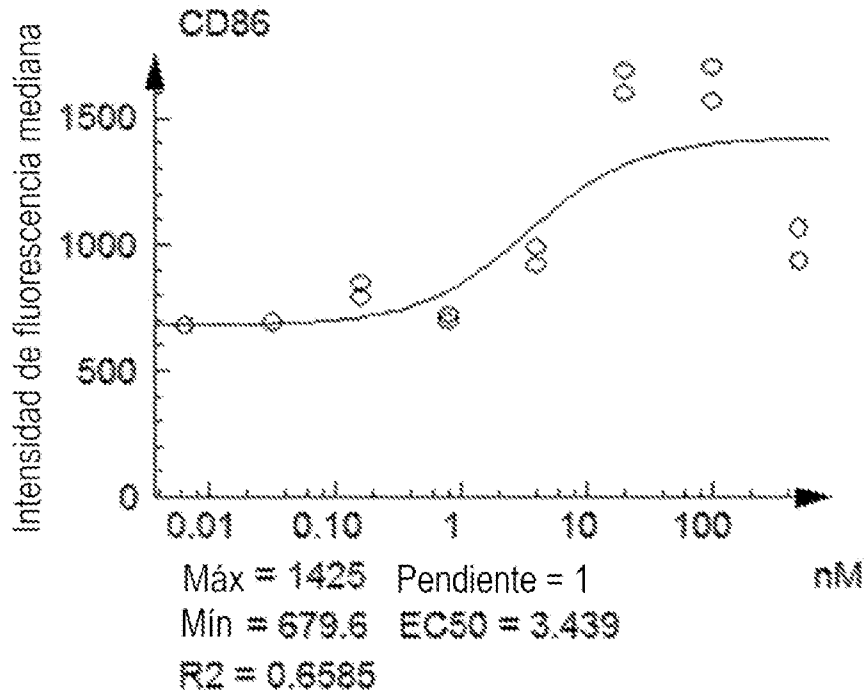


FIG. 3C

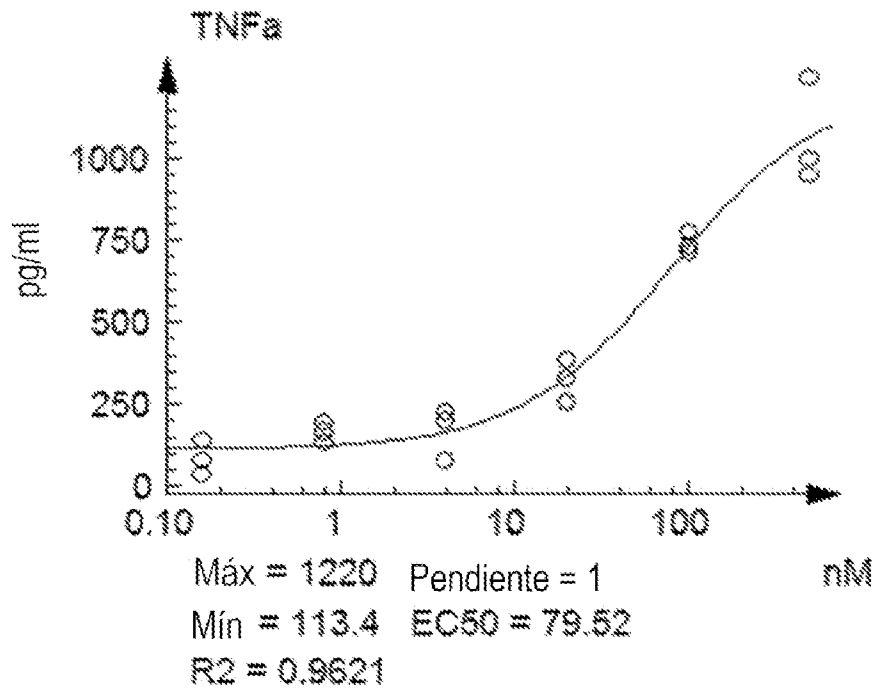


FIG. 3D

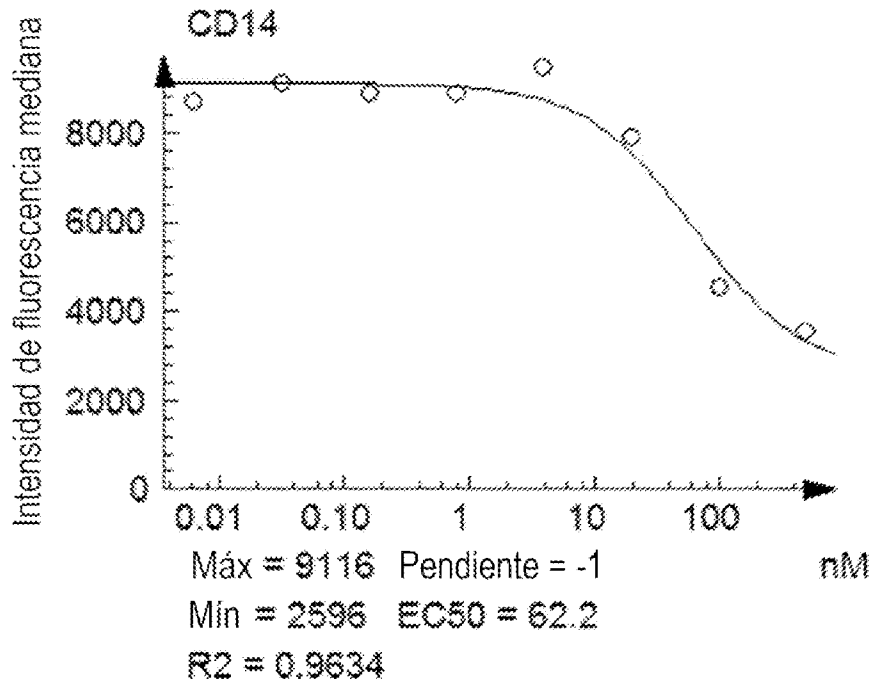


FIG. 4A

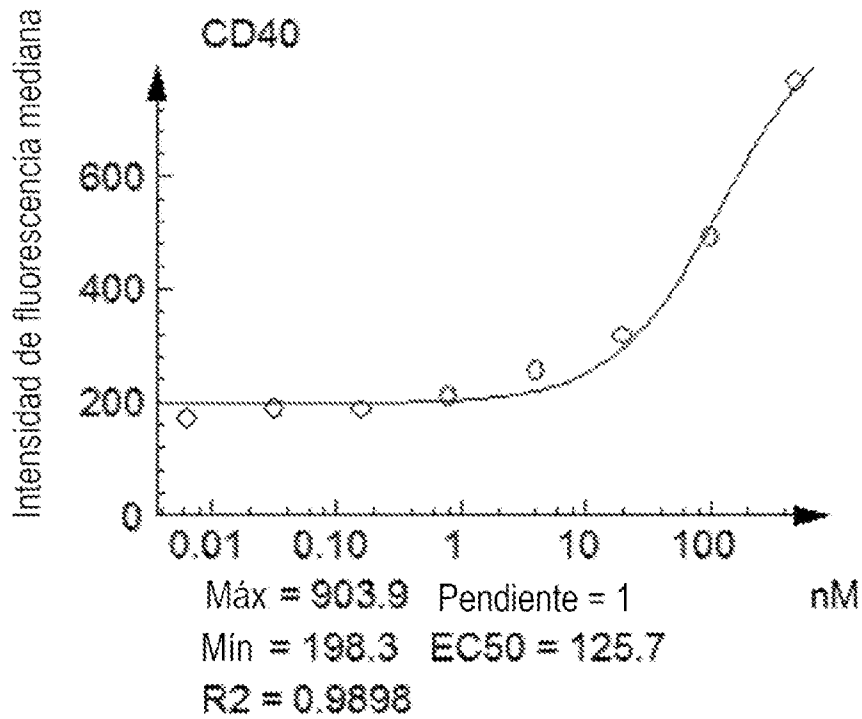


FIG. 4B

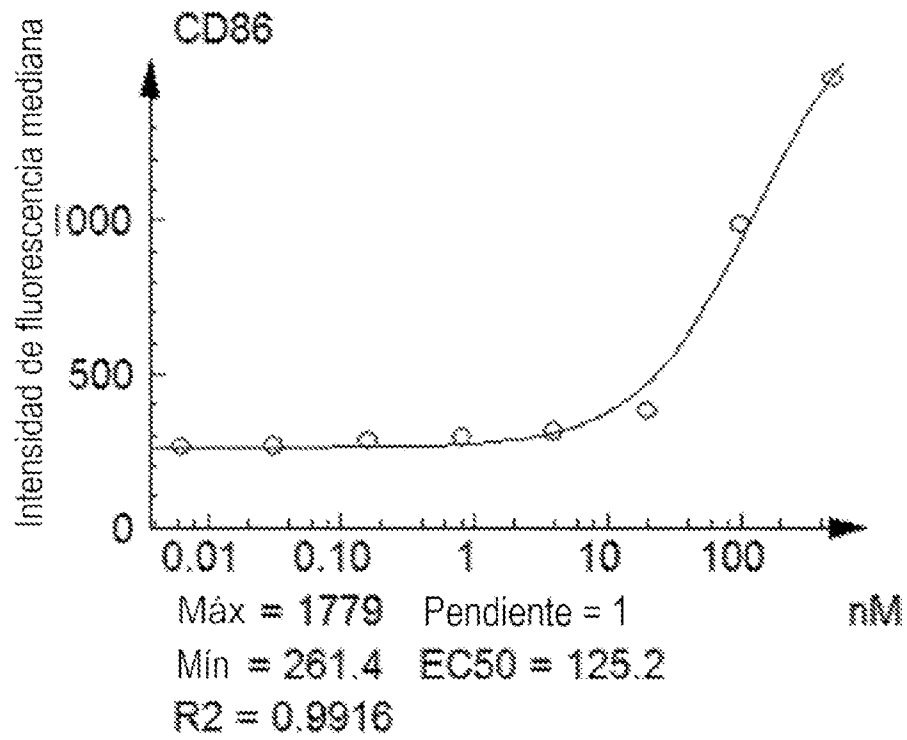


FIG. 4C

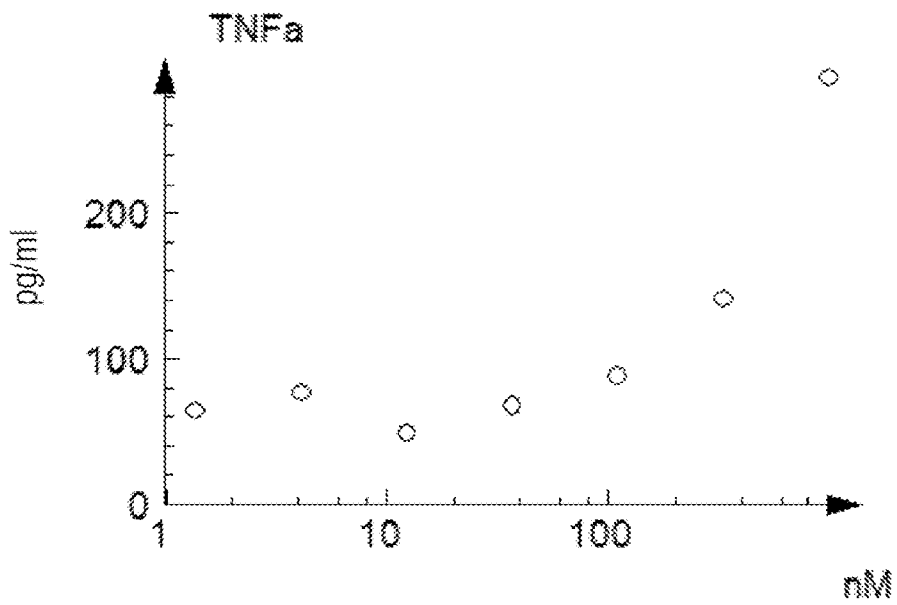


FIG. 4D

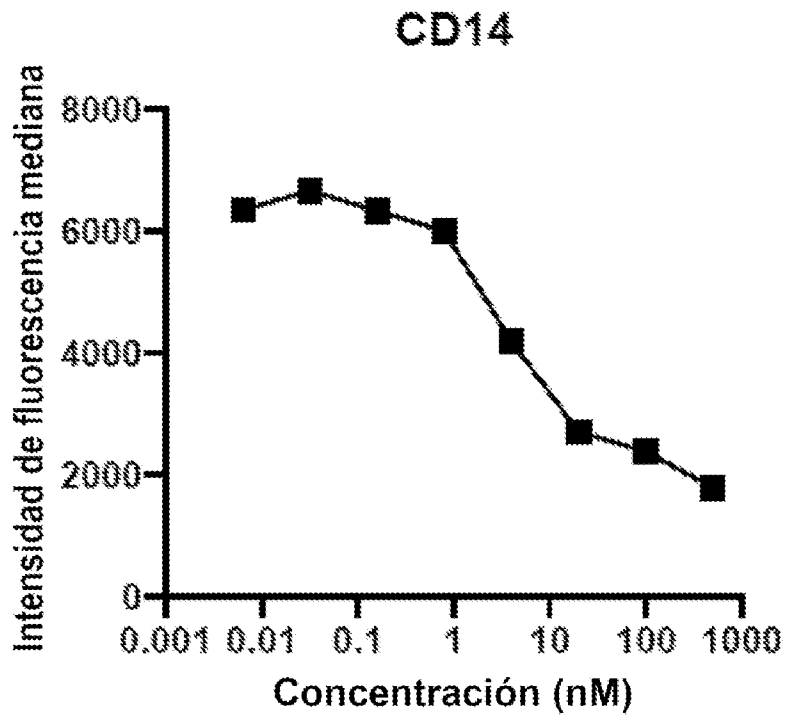


Fig. 5A

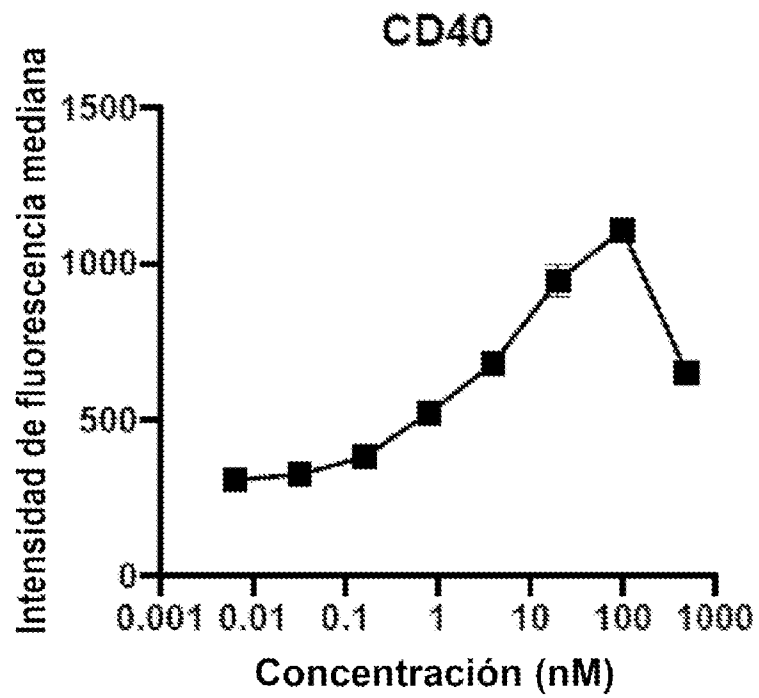


Fig. 5B

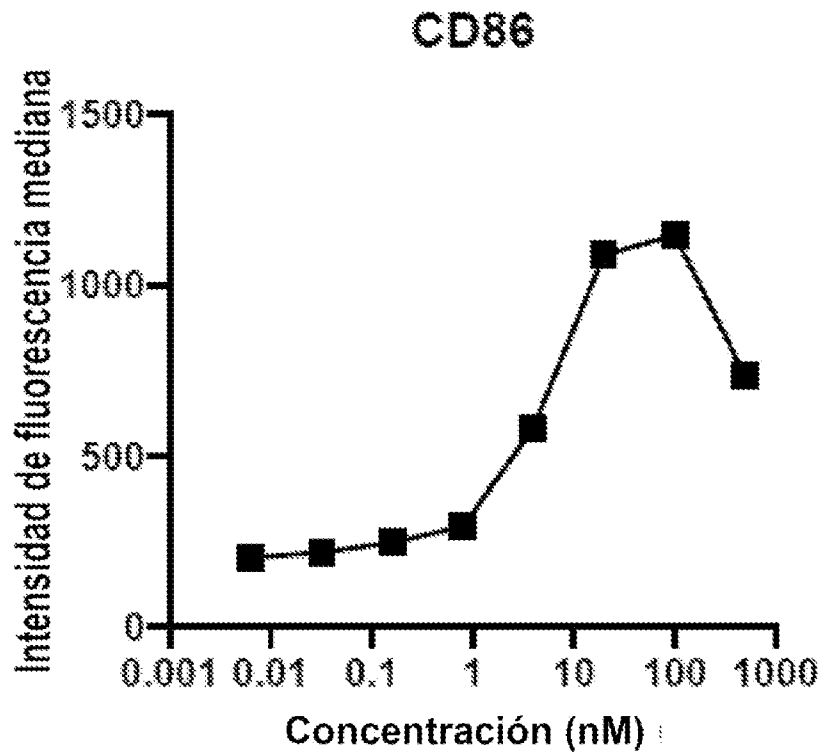


Fig. 5C

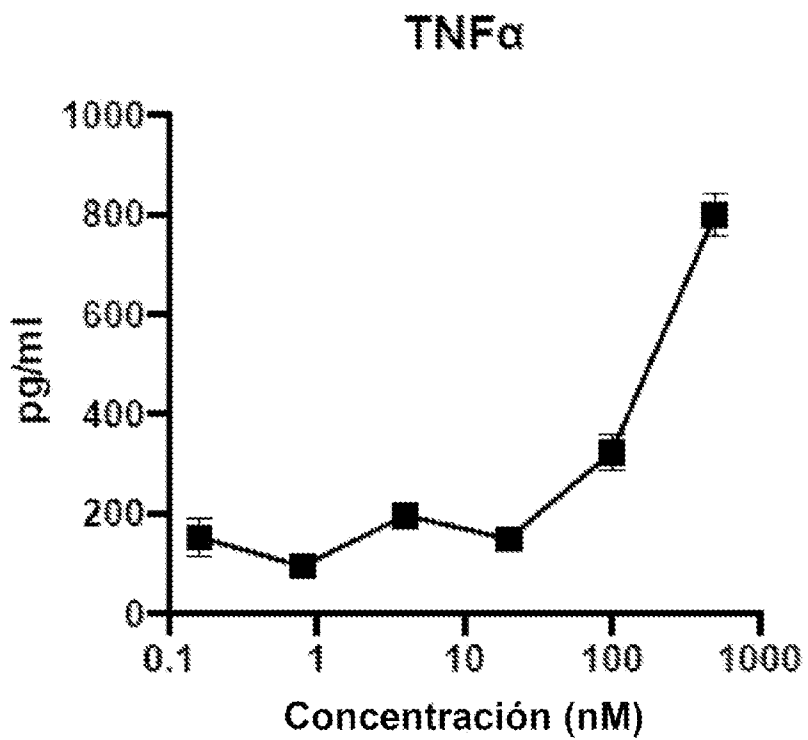


Fig. 5D

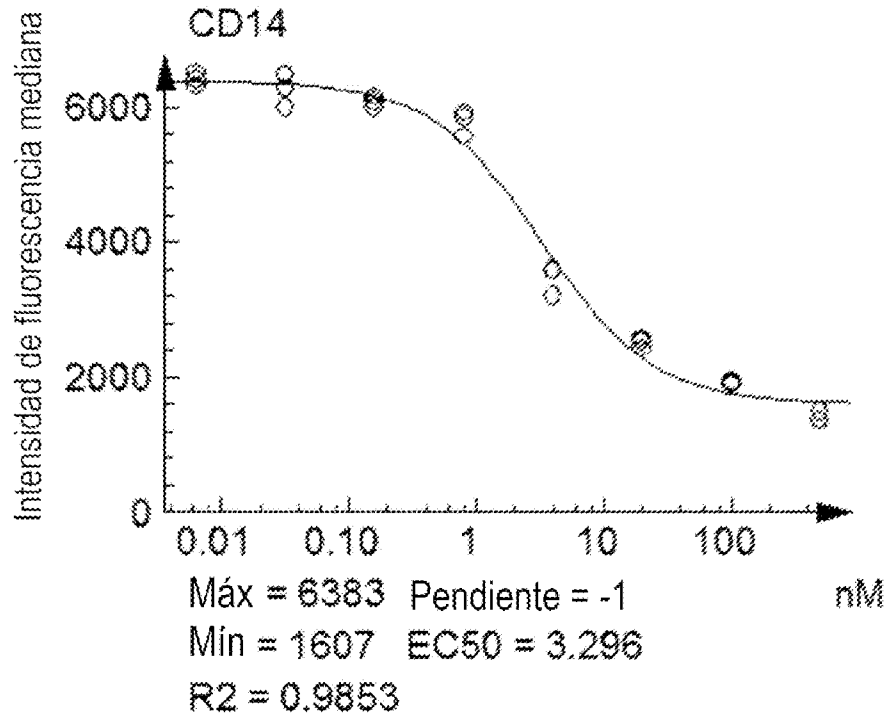


FIG. 6A

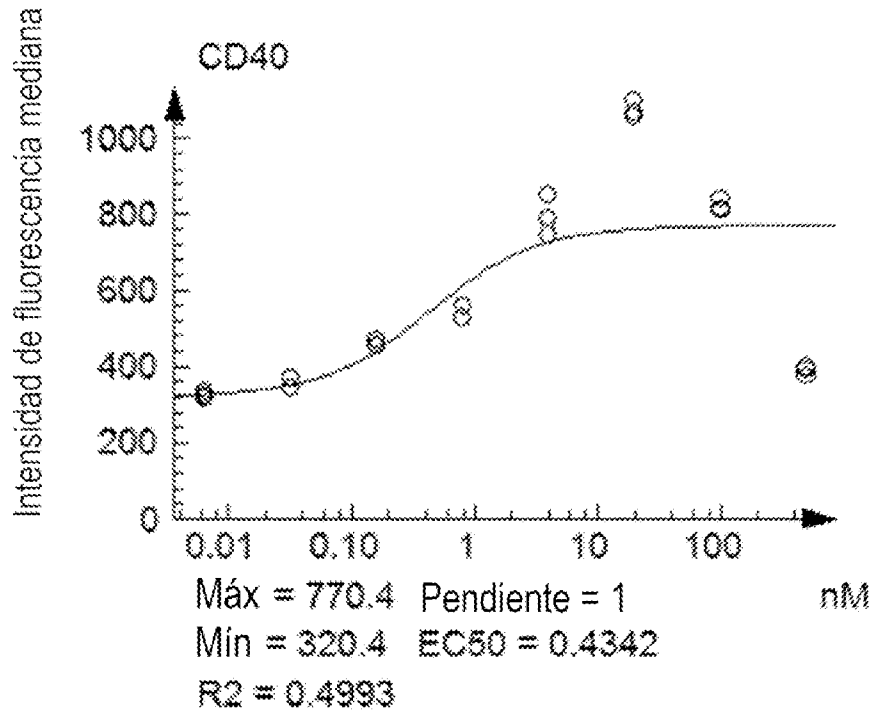


FIG. 6B

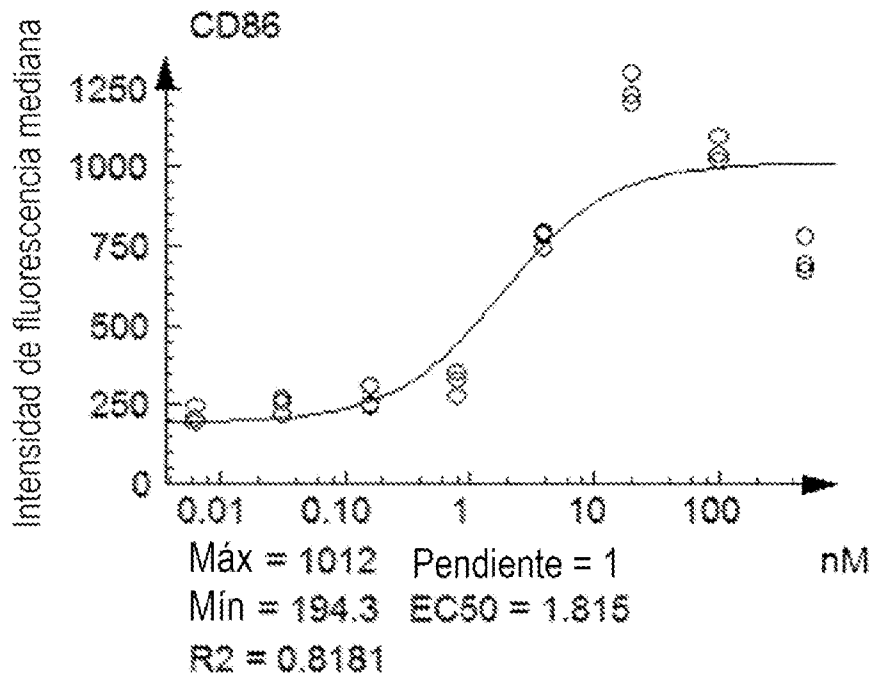


FIG. 6C

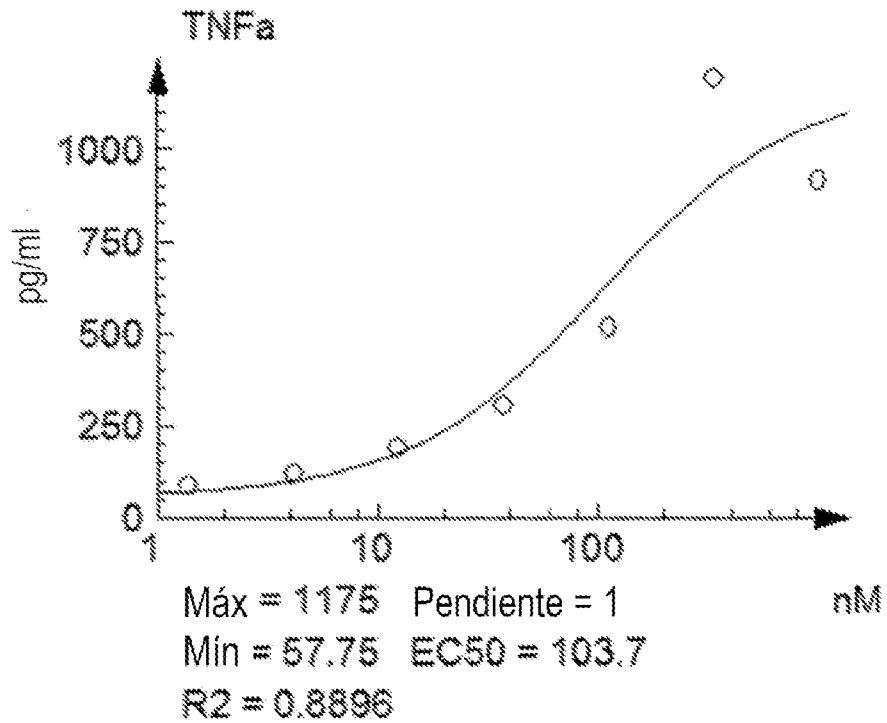


FIG. 6D

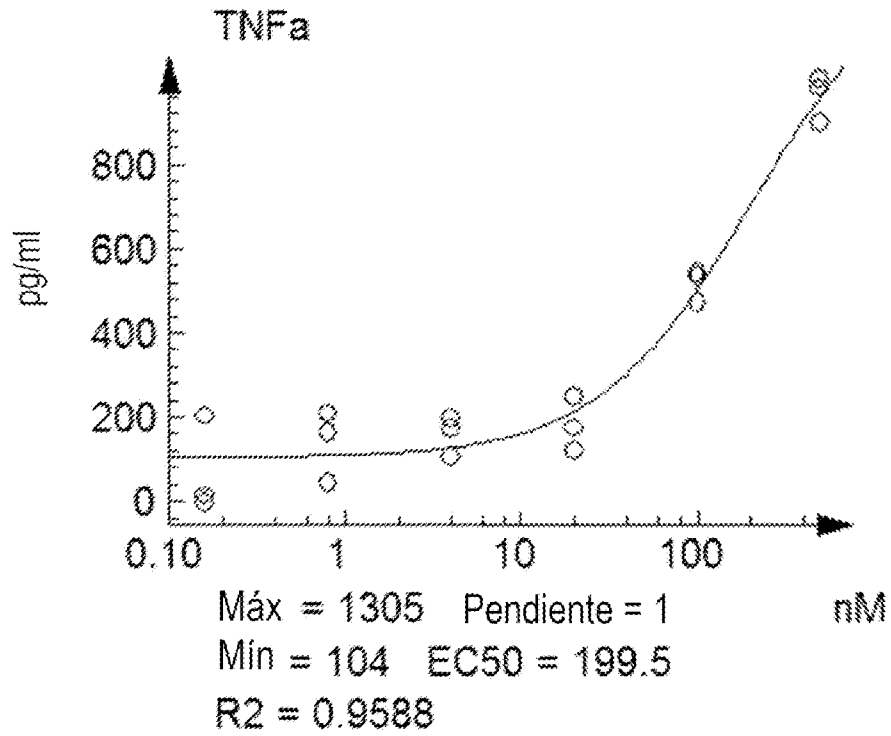


FIG. 6E

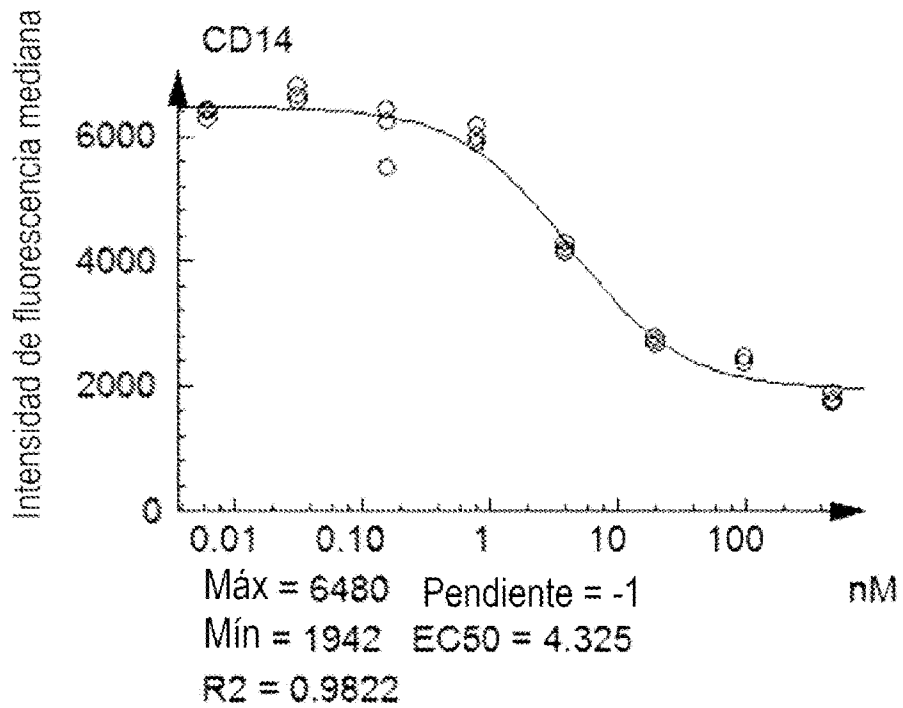


FIG. 7A

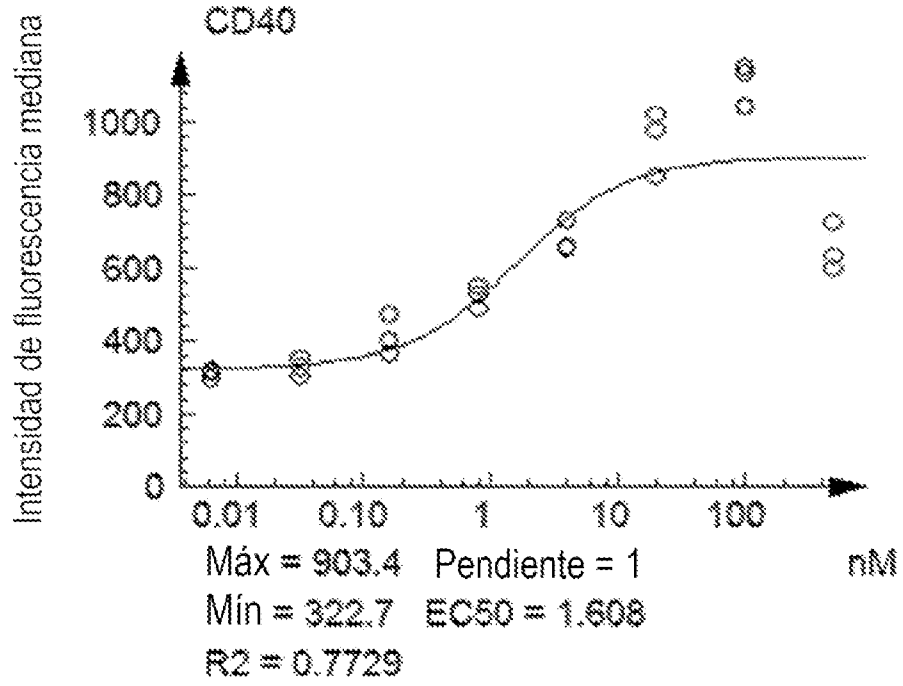


FIG. 7B

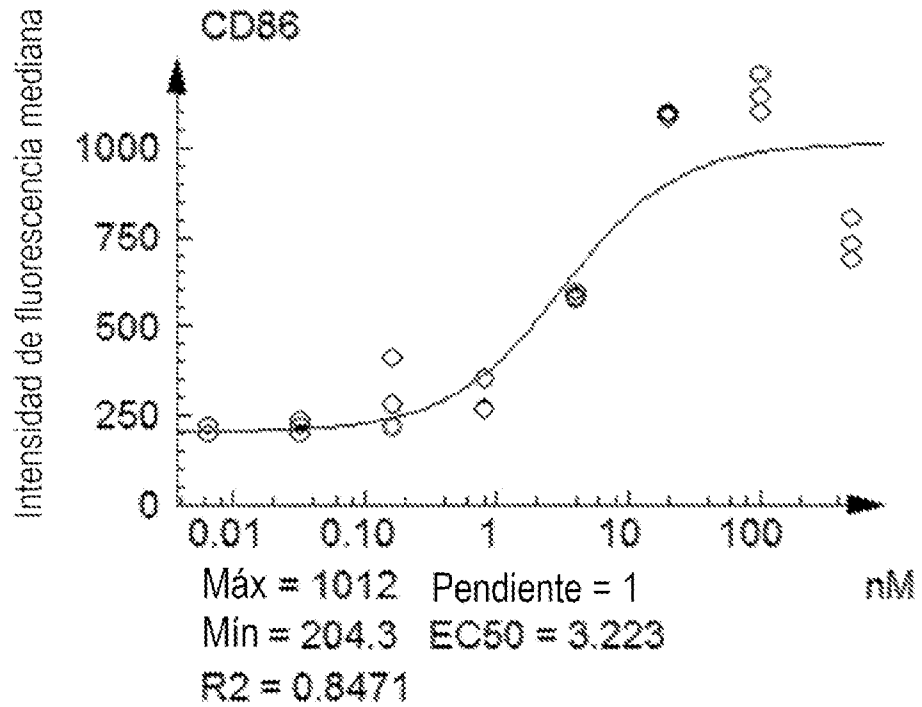


FIG. 7C

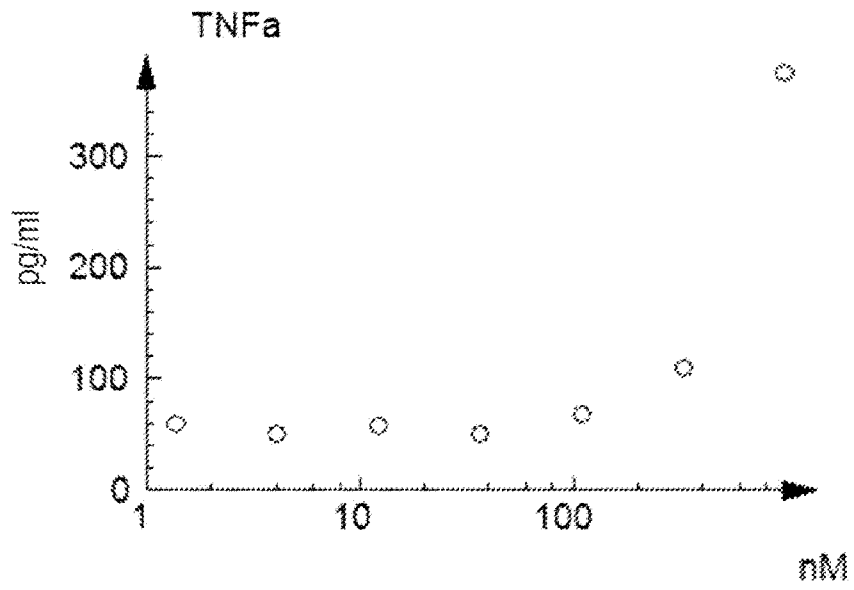


FIG. 7D

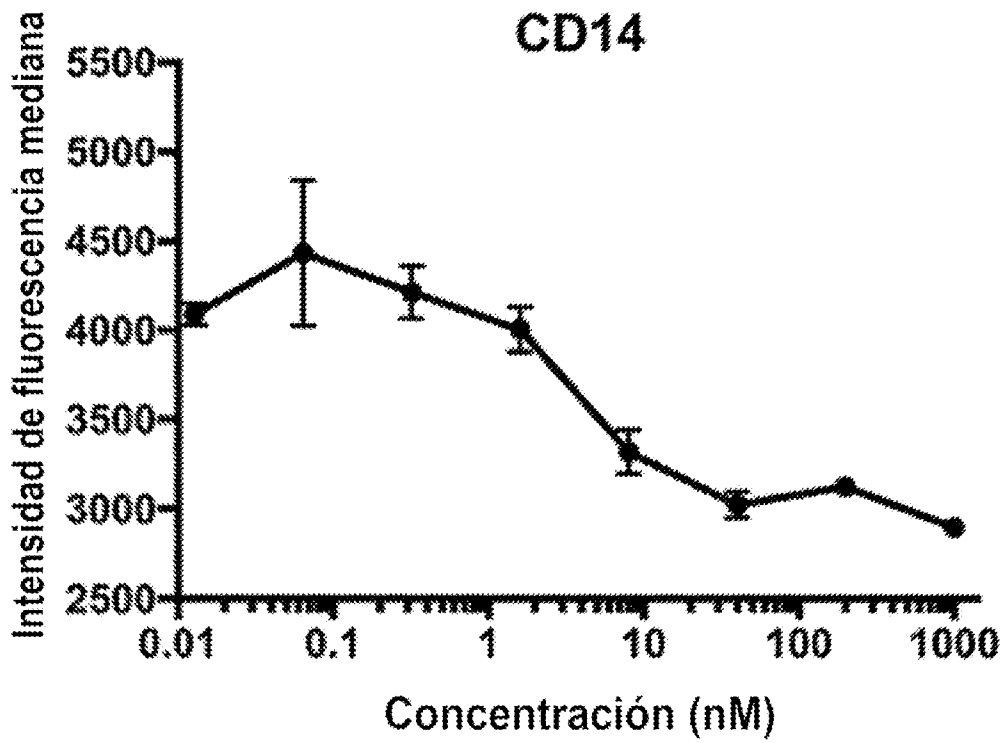


FIG. 8A

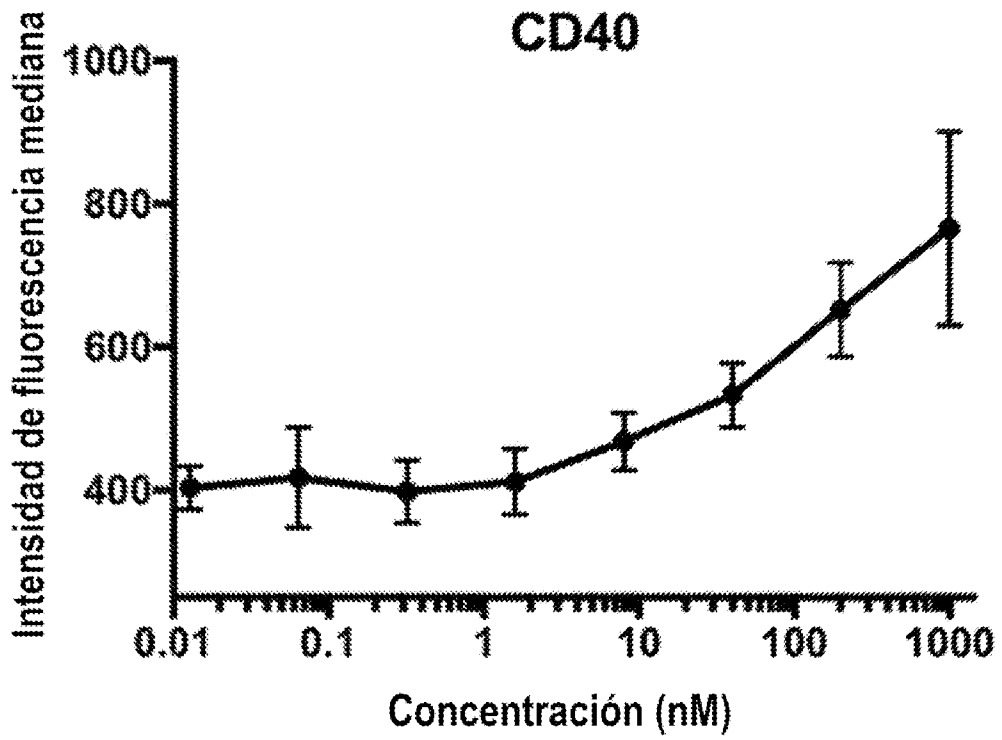


FIG. 8B

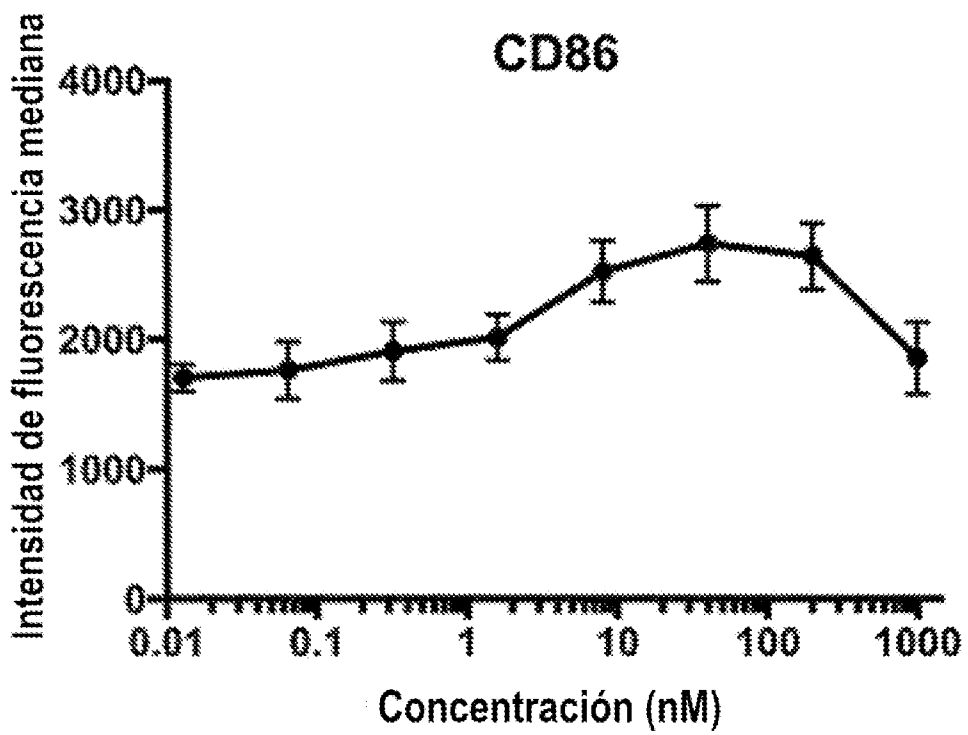


FIG. 8C

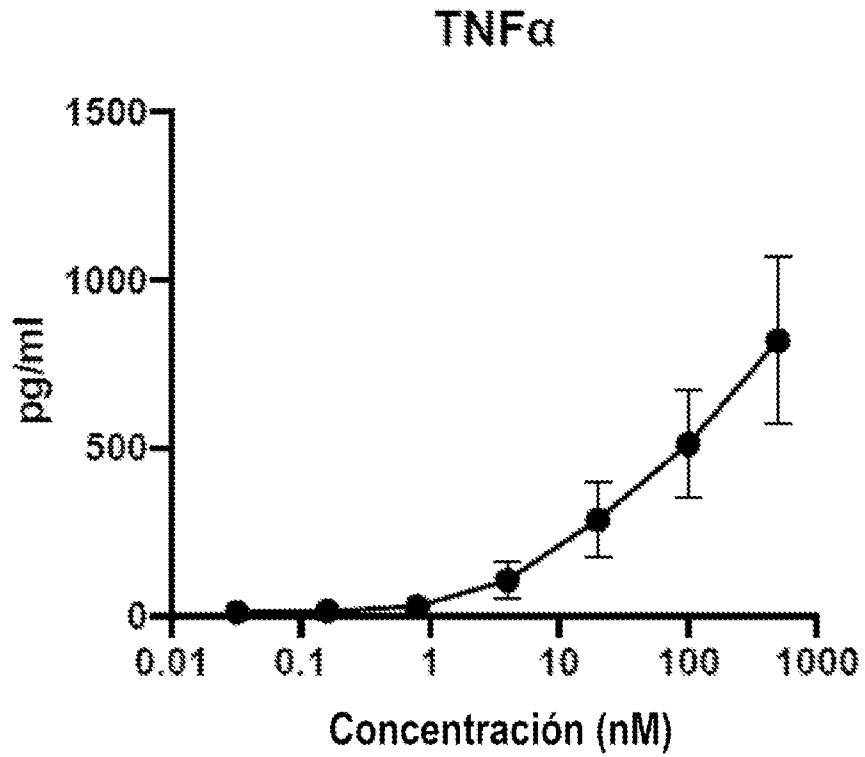


FIG. 8D

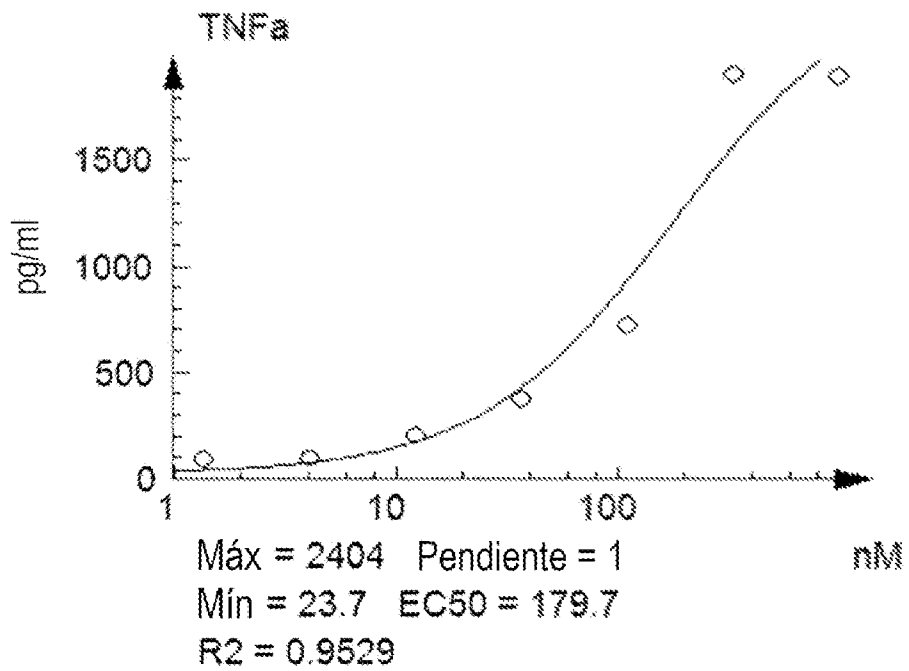


FIG. 9

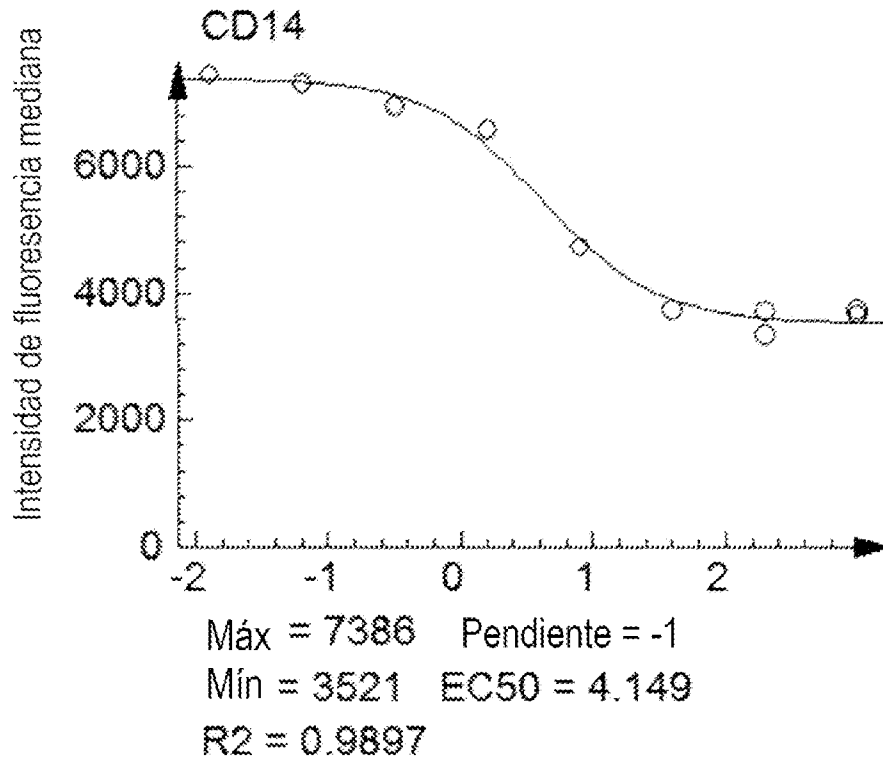


FIG. 10A

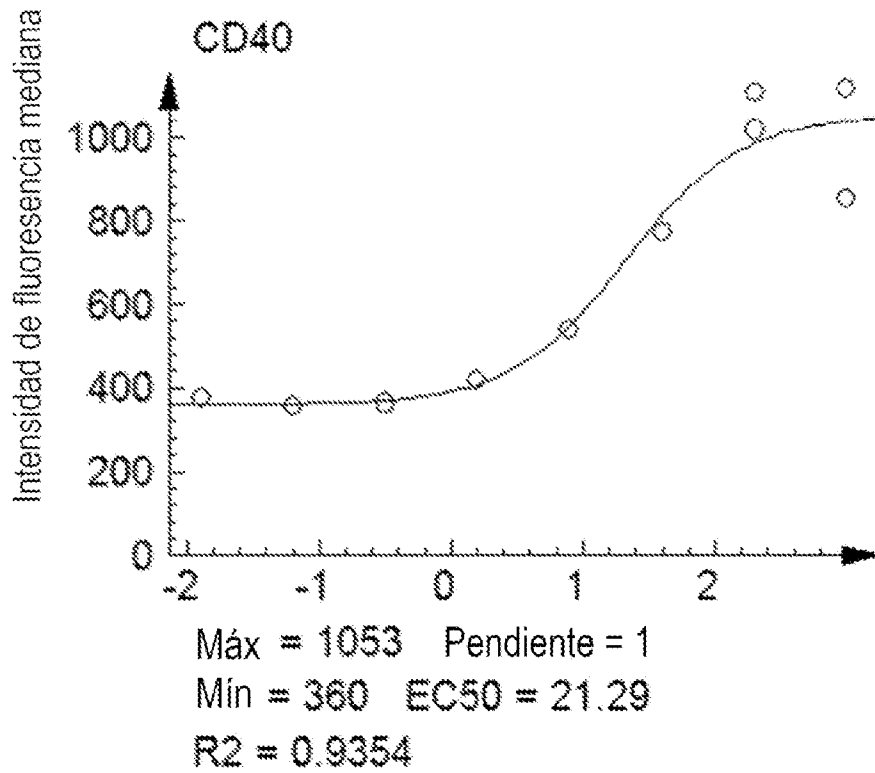


FIG. 10B

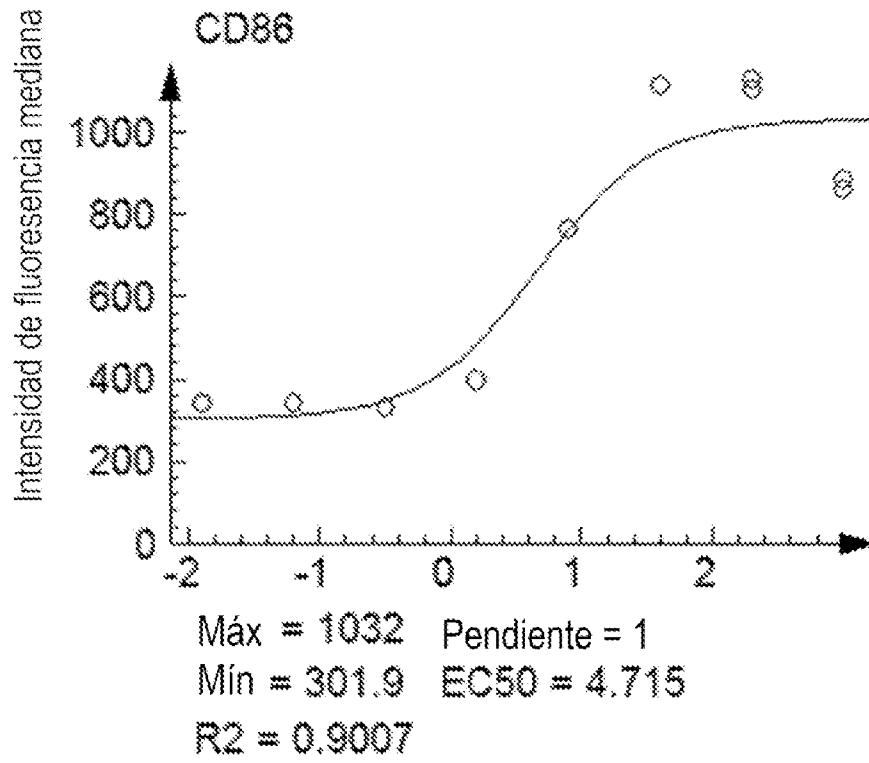


FIG. 10C

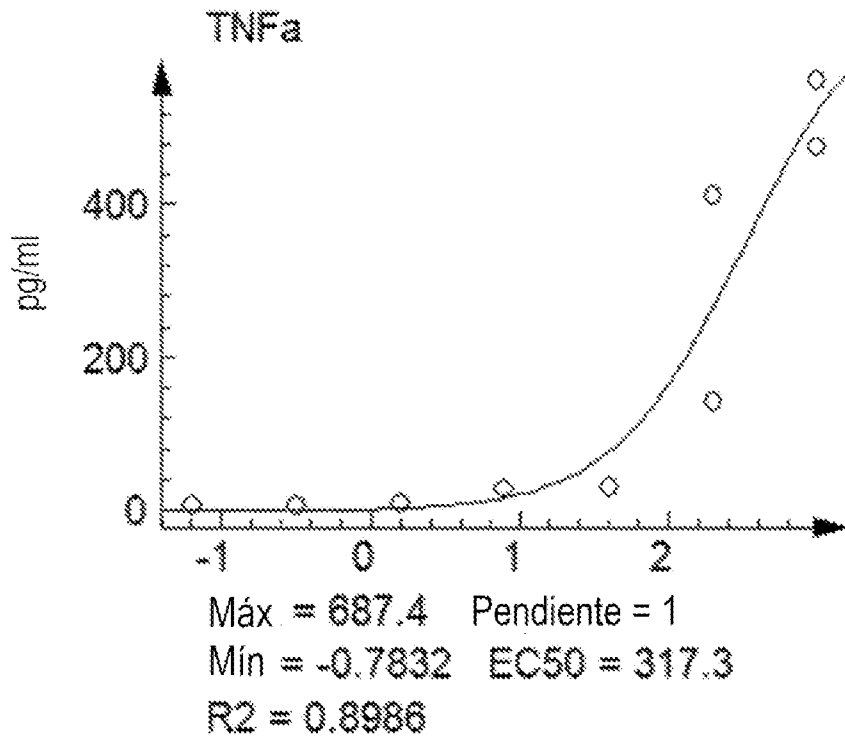


FIG. 10D

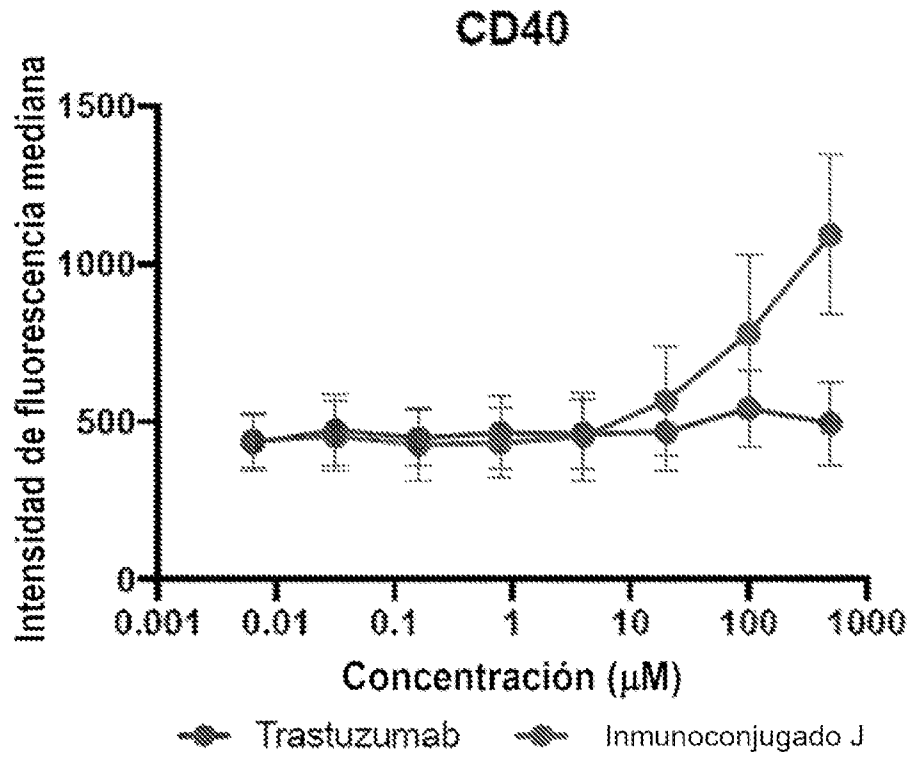


FIG. 11A

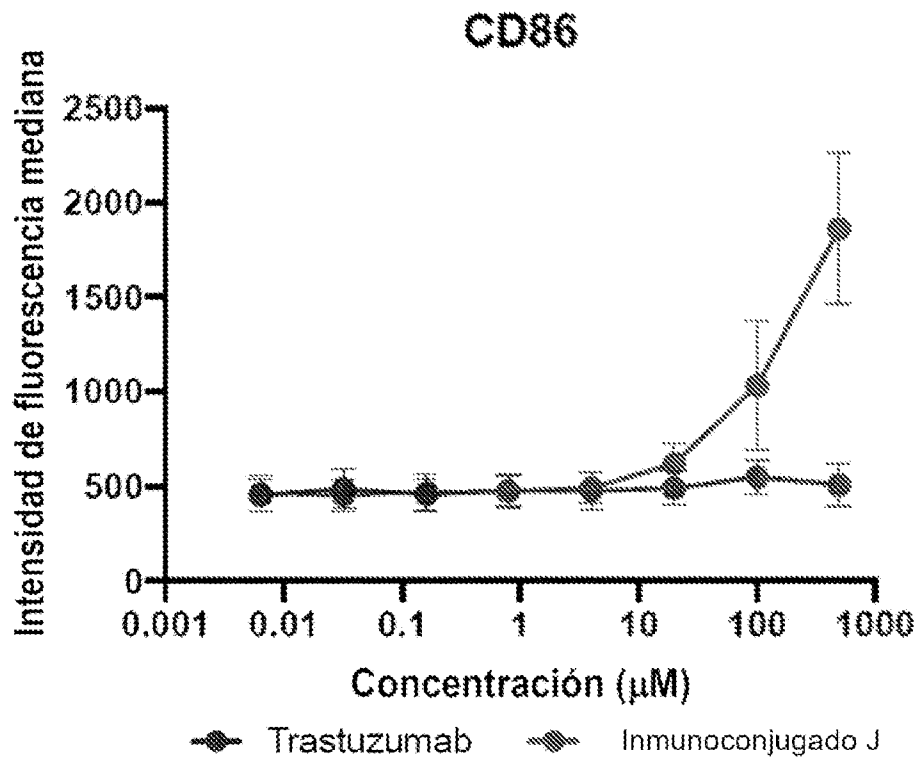


FIG. 11B

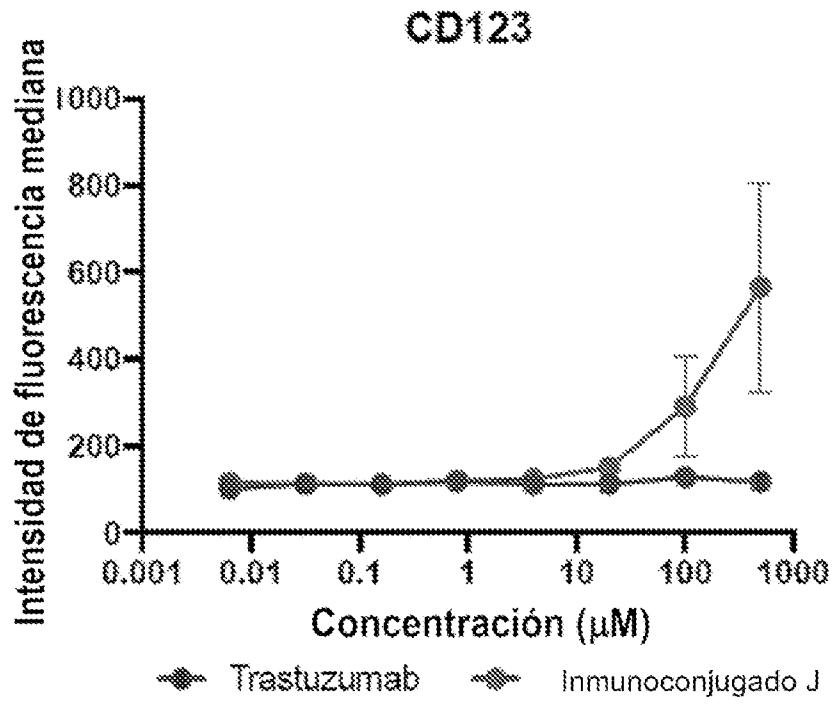


FIG. 11C

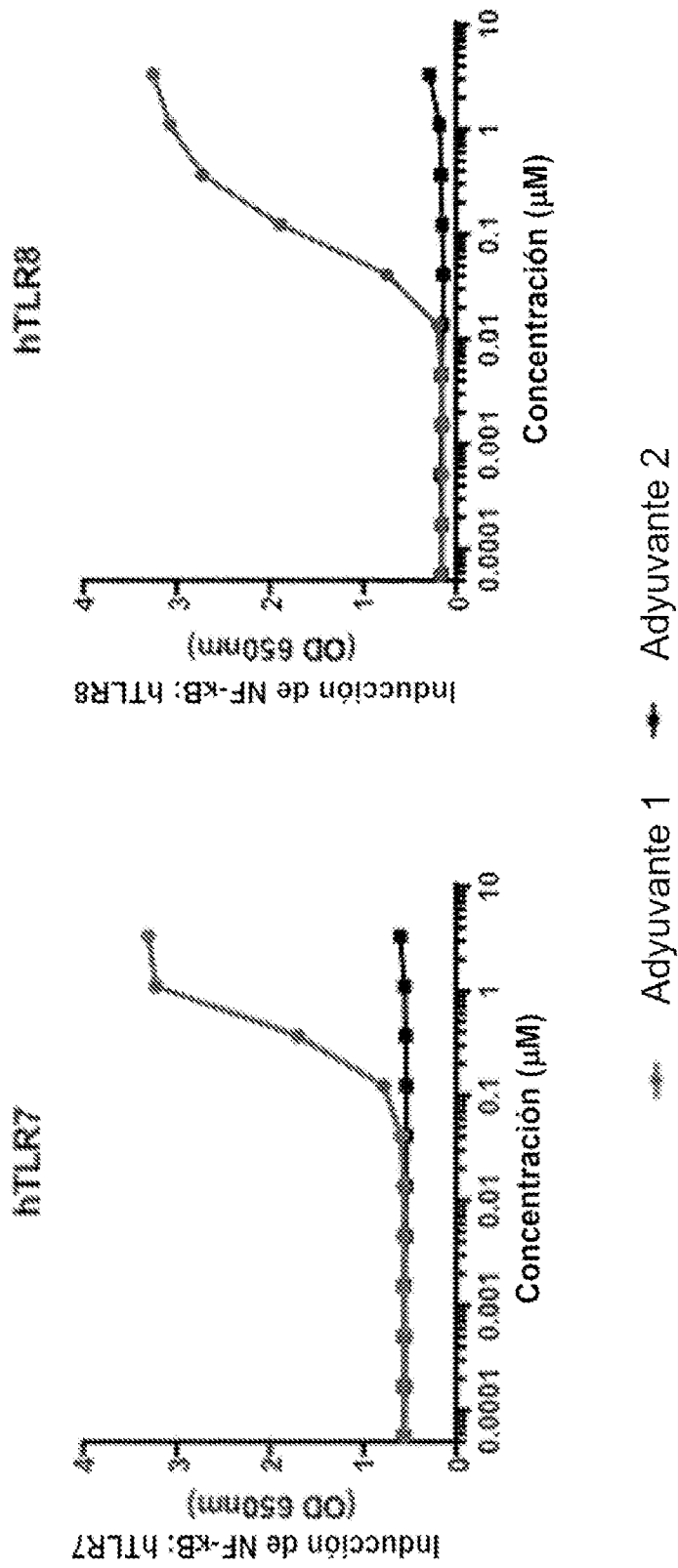


FIG. 12

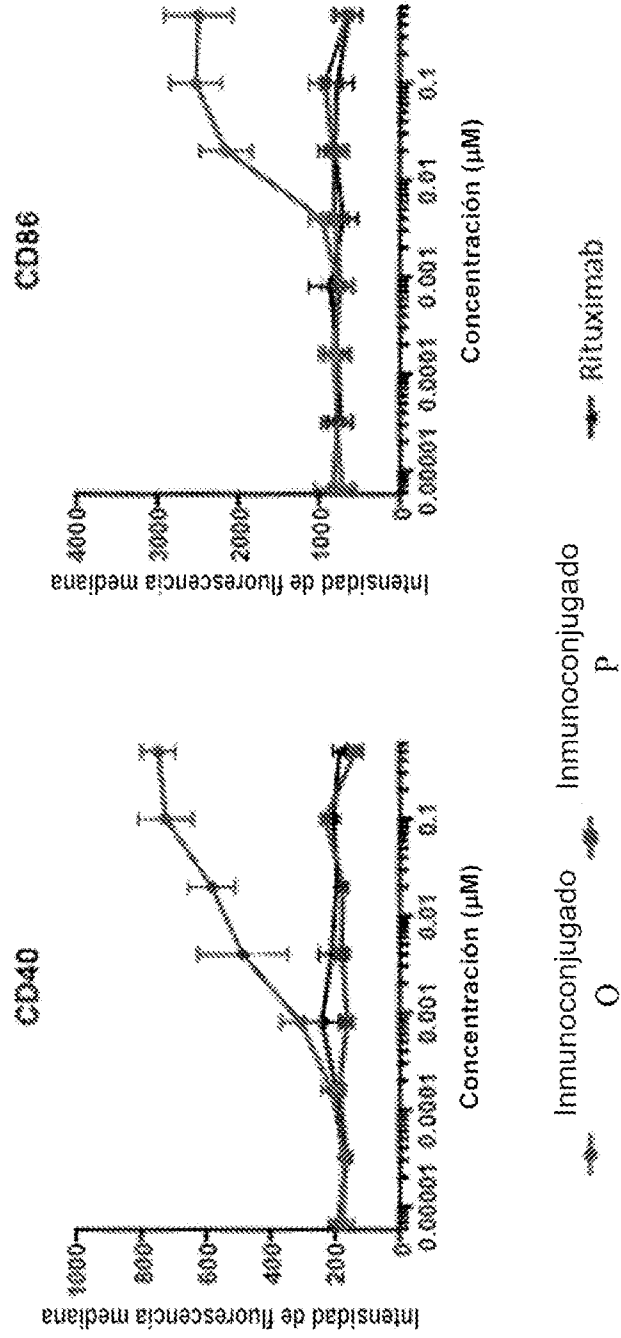


FIG. 13

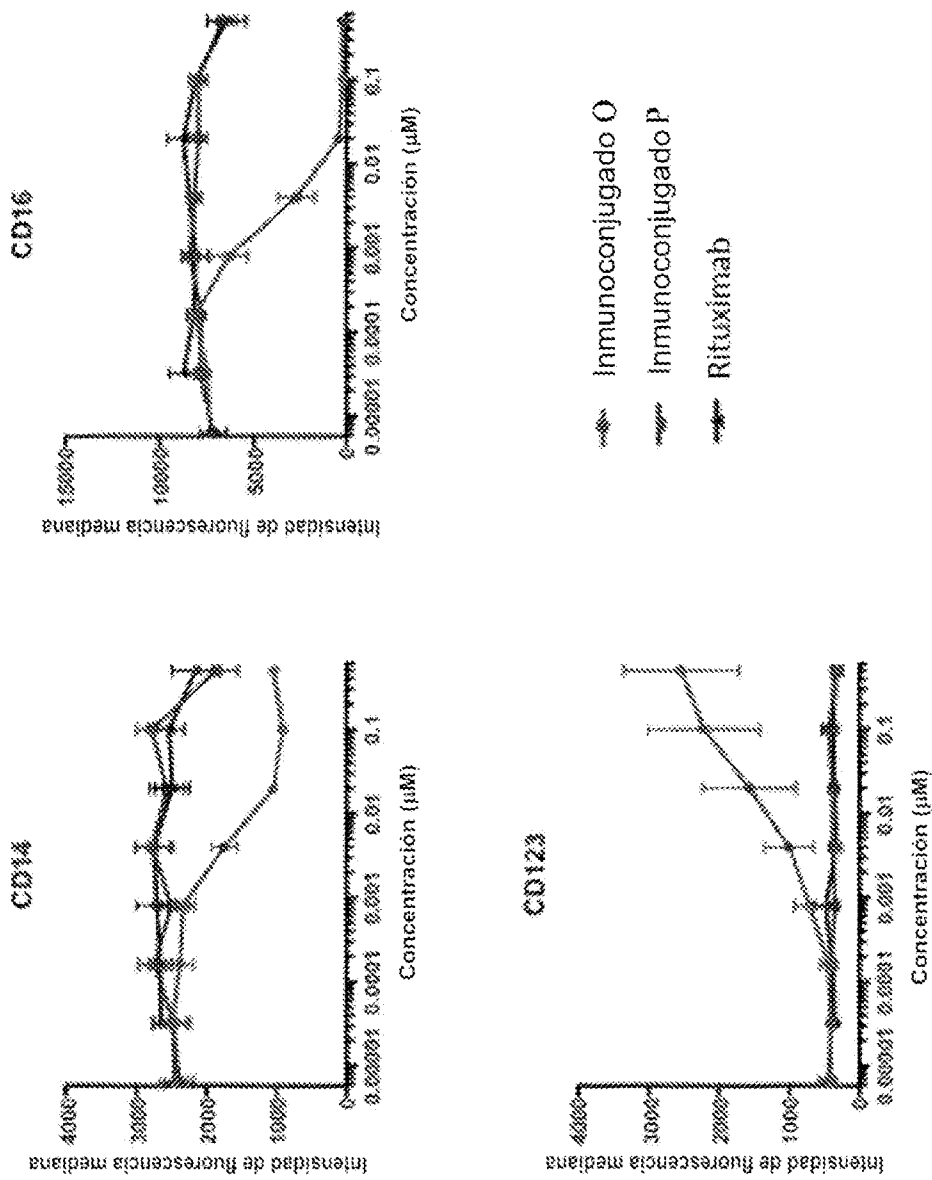


FIG. 14