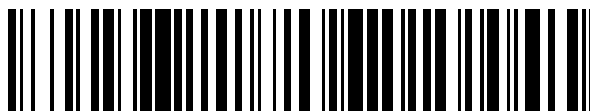


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 905 569**

51 Int. Cl.:

C07K 7/02	(2006.01)
A61K 38/05	(2006.01)
A61K 47/50	(2007.01)
A61P 35/00	(2006.01)
C07D 207/08	(2006.01)
C07K 5/027	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.09.2015 PCT/CA2015/050910**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.03.2016 WO16041082**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2015 E 15842388 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.11.2021 EP 3194421**

54 Título: **Compuestos citotóxicos y antimitóticos y métodos para utilizarlos**

30 Prioridad:

17.09.2014 US 201462051883 P

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

11.04.2022

73 Titular/es:

**ZYMEWORKS INC. (100.0%)
Suite 540 - 1385 West 8th Avenue
Vancouver, British Columbia V6H 3V9, CA**

72 Inventor/es:

**WINTERS, GEOFFREY C.;
RICH, JAMES R.;
GARNETT, GRAHAM ALBERT EDWIN;
MANDEL, ALEXANDER LAURENCE;
HSIEH, TOM HAN HSIAO;
BOURQUE, ELYSE MARIE JOSEE y
BARNSCHER, STUART DANIEL**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 905 569 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

Compuestos citotóxicos y antimetabólicos y métodos para utilizarlos

5 **Antecedentes****Campo**

10 La invención se refiere a compuestos biológicamente activos, composiciones que los comprenden y métodos para utilizar dichos compuestos y composiciones biológicamente activos para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades.

Descripción de la técnica relacionada

15 Los nuevos agentes terapéuticos contra el cáncer prometedores incluyen las dolastatinas y análogos sintéticos de dolastatina, tales como auristatinas (patentes estadounidenses n.º 5.635.483, 5.780.588, 6.323.315 y 6.884.869; Shnyder *et ál.* (2007) *Int. J. Oncol.* 31: 353-360; Otani, M. *et ál.* *Jpn. J. Cancer Res.* 2000, 91, 837-844; publ. int. PCT n.º WO 01/18032 A3, WO 2005/039492, WO2006/132670 y WO 2009/095447; Fennell, B. J. *et ál.* *J. Antimicrob. Chemther.* 2003, 51, 833-841). Se ha mostrado que las dolastatinas y auristatinas interfieren con la

20 dinámica de los microtúbulos, mediante lo cual alteran la división celular (Woyke *et ál.* (2001) *Antimicrob. Agents Chemother.* 45 (12): 3580-3584) y tienen actividad anticancerosa (patente estadounidense n.º 5.663.149) y antifúngica (Pettit *et ál.* (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 2961-2965). Desafortunadamente, a pesar del entusiasmo temprano, la dolastatina 10 mostró resultados insatisfactorios como agente único en ensayos clínicos de fase II (Shnyder (2007), *supra*). Determinados compuestos en la familia de auristatinas son más prometedores como

25 candidatos clínicos con eficacia y características farmacológicas mejoradas respecto a las dolastatinas (Pettit *et ál.* (1995) *Anti-Cancer Drug Des.* 10: 529-544; Pettit *et ál.* (1998) *Anti-Cancer Drug Des.* 13: 243-277; Shnyder (2007), *supra*). Se han descrito diversos análogos sintéticos de este tipo estructural (patente estadounidense n.º 6.569.834; patente estadounidense n.º 6.124.431 y Pettit *et ál.* (2011) *J. Nat. Prod.* 74:962-968). Además, se describen conjugados a fármaco de auristatina en el documento WO 2013/173391 A1, el documento WO 2013/173392 A1 y el documento WO 2013/173393 A1.

30 Las auristatinas tienen varias propiedades que las hacen atractivas para el desarrollo farmacéutico. Primero, estos compuestos son extremadamente potentes. Segundo, su preparación es directa debido a la estructura peptídica. Tercero, poseen perfiles farmacocinéticos y metabólicos satisfactorios en comparación con los péptidos en general o

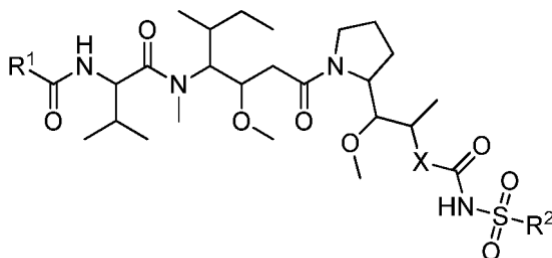
35 con otras clases de fármaco contra el cáncer en particular. Finalmente, la estructura peptídica de las auristatinas es similar a la de un anticuerpo, por lo tanto, cuando estos compuestos se utilizan como parte de un conjugado de fármaco y anticuerpo (ADC, por sus siglas en inglés), es menos probable que provoquen precipitación o formación de agregados de peso molecular elevado (Doronina *et ál.* (2003) *Nat. Biotechnology* 21 (7): 778-784).

40 Las composiciones citotóxicas y antimetabólicas potentes son altamente deseables para el tratamiento de una cantidad de trastornos devastadores, que incluyen el cáncer. Aunque se han generado una amplia variedad de análogos de auristatina, muchos presentan una potencia reducida que limita la utilidad en los métodos de tratamiento médico. Por las razones que anteceden, si bien se ha progresado en este campo, existe la necesidad de compuestos

45 antimetabólicos y citotóxicos potentes adicionales que tengan las características preferidas que los vuelvan adecuados para el tratamiento de una variedad de trastornos, que incluyen el cáncer. La presente divulgación satisface estas necesidades y proporciona ventajas relacionadas adicionales.

Breve resumen

50 En resumen, la presente divulgación se refiere compuestos biológicamente activos, composiciones que los comprenden y métodos para utilizar dichos compuestos y composiciones. Se proporcionan compuestos de fórmula I:



I

55 y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R^1 se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterocicilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

R^1 es $R^aR^bNCH(R^c)-$;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

R^c es $R^d-C(CH_3)_{2-}$ y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

R^b y R^c , tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterocicliídilo;

R^2 se selecciona de: alquilo C₁-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆ y

X está ausente.

En el presente documento también se divulga un método para elaborar un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se divulga un método de uso de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en terapia. En particular, en el presente documento se divulga un método para el tratamiento del cáncer en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este o una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se divulga un método para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este o una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se divulga un método para matar células cancerosas *in vitro* mediante el uso de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En el presente documento también se divulga un método para matar células cancerosas *in vivo* en un mamífero, que comprende administrar a un mamífero que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este o una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se divulga un método para aumentar el tiempo de supervivencia de un mamífero que tiene cáncer, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este o una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se divulga un uso de un compuesto descrito en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en la elaboración de un medicamento para tratar el cáncer en un mamífero.

En el presente documento también se divulga un uso de un compuesto descrito en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en la elaboración de un medicamento para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero.

En el presente documento también se divulga un uso de un compuesto descrito en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en la elaboración de un medicamento para aumentar la supervivencia de un mamífero que tiene cáncer.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un compuesto o una composición farmacéutica descrita en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o de un animal mediante terapia.

5

En otra realización, la presente divulgación proporciona un compuesto o una composición farmacéutica descrita en el presente documento, para su uso en el tratamiento del cáncer en un mamífero.

10

En otra realización, la presente divulgación proporciona un compuesto o una composición farmacéutica descrita en el presente documento, para su uso en la inhibición del crecimiento tumoral en un mamífero.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un compuesto o una composición farmacéutica descrita en el presente documento, para su uso en el aumento de la supervivencia de un mamífero que tiene cáncer.

15

En una realización, se proporcionan composiciones que comprenden un compuesto biológicamente activo, tal como se divulga en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este, unido de forma directa o indirecta a un resto de direccionamiento.

20

En una realización, la invención proporciona composiciones de fórmula II:



25

en donde (T) es un resto de direccionamiento, (L) es un enlazador y (D) es un compuesto de fórmula I, Ia, Id o una sal farmacéuticamente aceptable de este. (D) se encuentra unido de forma covalente a (L).

En una realización, el resto de direccionamiento es un anticuerpo. Por consiguiente, en una realización, se proporcionan conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC) que comprenden un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable o profármaco de este.

30

En el presente documento también se divulga un método para elaborar una composición de fórmula II.

En otra realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable de esta y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35

En el presente documento también se divulga un método de uso de una composición de fórmula II en una terapia. En particular, la presente divulgación proporciona un método para tratar el cáncer en un mamífero que comprende la administración a un mamífero que lo necesita de una cantidad eficaz de una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

40

En el presente documento también se divulga un método para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero que comprende administrar a un mamífero que lo necesita de una cantidad eficaz de una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

45

En el presente documento también se divulga un método para matar células cancerosas *in vitro* mediante el uso de una composición de fórmula II. En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para matar células cancerosas *in vivo* en un mamífero, que comprende administrar a un mamífero que lo necesita de una cantidad eficaz de una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

50

En el presente documento también se divulga un método para aumentar el tiempo de supervivencia de un mamífero que tiene cáncer, que comprende la administración a un mamífero que lo necesita de una cantidad eficaz de una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

55

En el presente documento también se divulga un uso de una composición de fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, en la elaboración de un medicamento para tratar el cáncer en un mamífero.

60

En el presente documento también se divulga un uso de una composición de fórmula II, en la elaboración de un medicamento para inhibir el crecimiento tumoral en un mamífero.

En el presente documento también se divulga un uso de una composición de fórmula II en la elaboración de un medicamento para aumentar la supervivencia de un mamífero que padece cáncer.

65

En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición de fórmula II o una composición

farmacéutica que comprende una composición de fórmula II para su uso en un método de tratamiento del cuerpo del ser humano o animal mediante la terapia.

5 En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II para su uso en el tratamiento del cáncer en un mamífero.

10 En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II para su uso en la inhibición del crecimiento tumoral en un mamífero.

15 En otra realización, la presente divulgación proporciona una composición de fórmula II o una composición farmacéutica que comprende una composición de fórmula II para su uso en el aumento de supervivencia de un mamífero que padece cáncer.

Estos y otros aspectos de la descripción resultarán evidentes después de las referencias a la siguiente descripción detallada.

20 Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra la citotoxicidad del compuesto 5 sobre la línea celular HCC1954 Her 2 positiva.

La figura 2 muestra la citotoxicidad del compuesto 5 sobre la línea celular Jurkat Her 2 negativa.

La figura 3 muestra la citotoxicidad de un ADC con trastuzumab del compuesto 5 sobre la línea celular NCI-N87 Her 2 positiva.

25 La figura 4 muestra la citotoxicidad de un ADC con trastuzumab del compuesto 5 sobre la línea celular HCC1954 Her 2 positiva.

La figura 5 muestra la citotoxicidad de un ADC con trastuzumab del compuesto 5 sobre la línea celular Jurkat Her 2 negativa.

30 La figura 6 muestra los resultados de un ensayo de unión natural de equilibrio utilizado para comparar la unión de determinados ADC con la línea celular MDA-MB-231,

La figura 7 muestra la eficacia de determinados ADC en el modelo tumoral de NCI-N87 mediante el uso de ratones NOD SCID Gamma.

La figura 8 muestra la eficacia de determinados ADC en el modelo tumoral Karpas 299 mediante el uso de ratones C.B-17/IcrHsd-Prkdc^{scid}.

35 La figura 9 muestra los resultados de un estudio de tolerabilidad de un ADC con trastuzumab del compuesto 14 en ratas Sprague Dawley hembras.

La figura 10 muestra los resultados de un estudio de tolerabilidad de un ADC con trastuzumab del compuesto 5 en ratas Sprague Dawley hembras.

40 La figura 11 muestra los resultados de un ensayo de interrupción del ciclo celular en células Jurkat tratadas con el compuesto 5.

Descripción detallada

45 En la siguiente descripción, determinados detalles específicos se establecen para proporcionar una comprensión exhaustiva de las diversas realizaciones de la divulgación. Sin embargo, el experto en la técnica comprenderá que la divulgación puede ponerse en práctica sin estos detalles.

Definiciones

50 A menos que se indique lo contrario, se pretende que los siguientes términos y frases como se usan en el presente documento tengan los siguientes significados. Cuando se utilizan marcas comerciales en el presente documento, los solicitantes pretenden incluir independientemente la formulación del producto de esa marca comercial, el fármaco genérico y el o los ingredientes farmacéuticos activos del producto de la marca comercial.

55 A menos que el contexto lo requiera de otro modo, a lo largo de la presente memoria descriptiva y reivindicaciones, la palabra "comprender" y sus variaciones, tales como "comprende" y "que comprende" deben interpretarse en un sentido abierto e inclusivo, es decir, como "que incluye, pero no se limita a".

60 La referencia a lo largo de la presente memoria descriptiva a "una realización" significa que un rasgo, estructura o característica particular descrita respecto a la realización está incluida en al menos una realización de la presente divulgación. Por lo tanto, la aparición de la frase "en una realización" en varias secciones a lo largo de la presente memoria descriptiva no necesariamente hace referencia a la misma realización. Se aprecia que determinadas características de la invención que se describen, por motivos de claridad, en el contexto de realizaciones independientes, también se pueden proporcionar en combinación en una sola realización. Por el contrario, también pueden proporcionarse diversas características de la invención que, por motivos de brevedad, se describen en el contexto de una sola realización, de forma separada o en cualquier subcombinación adecuada.

Grupos químicos

5 Todas las combinaciones de las realizaciones concernientes a los grupos químicos representados por las variables
 (por ejemplo, R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, R^g, R^h, Rⁱ, R^j, R^k, R^m, R¹, R², R^{2a}, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R⁴, R¹⁰, R¹¹, X e Y
 10 contenidas en las fórmulas químicas genéricas descritas en el presente documento (por ejemplo, I, Ia, Ic, Id, If, Ig, Ii,
 Ij, Im, In, II, III, IV, V, VI, y VII) se incluyen específicamente en la presente invención, tal como si cada todas y cada
 una de las combinaciones se hubiera descrito explícitamente de manera individual, en la medida en que dichas
 combinaciones abarquen compuestos que den como resultado compuestos estables (es decir, compuestos que
 15 puedan aislarse, caracterizarse y evaluarse para verificar su actividad biológica). Además, todas las
 subcombinaciones de los grupos químicos enumerados en las realizaciones que describen dichas variables, así
 como las subcombinaciones de los usos e indicaciones médicas que se describen en el presente documento,
 también se encuentran comprendidas específicamente por la presente invención como si todas y cada una de las
 subcombinaciones de grupos químicos y subcombinaciones de usos e indicaciones médicas se mencionaran
 20 explícitamente y de forma individual en el presente documento. Además, en el caso de que se enumerara una lista de
 sustituyentes para cualquier R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, R^g, R^h, Rⁱ, R^j, R^k, R^m, R¹, R², R^{2a}, R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R⁴,
 R¹⁰, R¹¹, X o Y en particular en una realización y/o reivindicación en particular, se comprende que cada sustituyente
 individual puede eliminarse de la realización y/o reivindicación en particular y que la lista restante de sustituyentes se
 considerará dentro del alcance de la presente divulgación.

25 El término "aciloxi", tal como se usa en el presente documento, incluye –OC(O)–alquilo, en donde alquilo es tal como
 se define en el presente documento. Los ejemplos de aciloxi incluyen, pero no se limitan a: formiloxi, acetoxi,
 propioniloxi, isobutiriloxi, pivaloiloxi y similares.

30 El término "aciltio", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –SC(O)–alquilo, en donde alquilo es tal
 como se define en el presente documento. Los ejemplos de aciltio incluyen, pero no se limitan a: formiltio, acetiltio,
 propioniltio, isobutiriltio, pivaloiltio y similares.

35 El término "alcoxi", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –O–alquilo, en donde alquilo es tal como
 se define en el presente documento. Los ejemplos de alquilo incluyen, pero no se limitan a: metoxi, etoxi, n-propoxi,
 isopropoxi, n-butoxi, sec-butoxi, isobutoxi, t-butoxi, pentiloxi, isopentiloxi, t-pentiloxi, neopentiloxi, 1-metilbutoxi, 2-
 metilbutoxi, n-hexiloxi y similares.

40 El término "alcoxycarbonilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –C(O)O–alquilo. Los ejemplos
 de alcoxycarbonilo incluyen, pero no se limitan a: metoxycarbonilo, etoxycarbonilo, n-propoxycarbonilo,
 isopropoxycarbonilo, n-butoxycarbonilo, sec-butoxycarbonilo, isobutoxycarbonilo, t-butoxycarbonilo, pentiloxycarbonilo,
 isopentiloxycarbonilo, t-pentiloxycarbonilo, neopentiloxycarbonilo, 1-metilbutoxycarbonilo, 2-metilbutoxycarbonilo, n-
 hexiloxycarbonilo y similares.

45 El término "alquenildiilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente de hidrocarburo
 lineal o ramificado no saturado que contiene la cantidad especificada de átomos de carbono y uno o más enlaces
 dobles carbono-carbono, por ejemplo, alquenildiilo C₂-C₆, alquenildiilo C₂-C₄ o alquenildiilo C₂. Los ejemplos de
 alquenildiilo incluyen, pero no se limitan a: etenildiilo, n-propenildiilo, isopropenildiilo, n-butenildiilo, sec-butenildiilo,
 isobutenildiilo, t-butenildiilo, pentenildiilo, isopentenildiilo, t-pentenildiilo, neopentenildiilo, 1-metilbutenildiilo, 2-
 metilbutenildiilo, n-hexenildiilo y similares.

50 El término "alquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo lineal o
 ramificado saturado que contiene la cantidad especificada de átomos de carbono, por ejemplo, alquilo C₁-C₆, alquilo
 C₁-C₄ o alquilo C₂. Los ejemplos de alquilo incluyen, pero no se limitan a: metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo,
 sec-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, t-pentilo, neopentilo, 1-metilbutilo, 2-metilbutilo, n-hexilo y similares.

55 El término "alquildiilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente de hidrocarburo
 lineal o ramificado saturado que contiene la cantidad especificada de átomos de carbono, por ejemplo, alquildiilo C₁-
 C₆, alquildiilo C₁-C₄ o alquildiilo C₂. Los ejemplos de alquildiilo incluyen, pero no se limitan a: metildiilo, etildiilo, n-
 propildiilo, isopropildiilo, n-butildiilo, sec-butildiilo, isobutildiilo, t-butildiilo, pentildiilo, isopentildiilo, t-pentildiilo,
 neopentildiilo, 1-metilbutildiilo, 2-metilbutildiilo, n-hexildiilo y similares.

60 El término "alquilamino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –NH–alquilo, en donde alquilo es tal
 como se define en el presente documento. Los ejemplos de alquilamino incluyen, pero no se limitan a: metilamino,
 etilamino, n-propilamino, isopropilamino, n-butilamino, sec-butilamino, isobutilamino, t-butilamino, pentilamino,
 isopentilamino, t-pentilamino, neopentilamino, 1-metilbutilamino, 2-metilbutilamino, n-hexilamino y similares.

65 El término "alquiltio", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –S–alquilo, en donde alquilo es tal
 como se define en el presente documento. Los ejemplos de alquiltio incluyen, pero no se limitan a: metiltio, etiltio, n-
 propiltio, isopropiltio, n-butiltio, sec-butiltio, isobutiltio, t-butiltio, pentiltio, isopentiltio, t-pentiltio, neopentiltio, 1-

metilbutilto, 2-metilbutilto, n-hexilto y similares.

El término "amino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-NH_2$.

5 El término "aminocicloalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo sustituido con un sustituyente de amino, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de aminocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a: aminociclopropilo, aminociclobutilo, aminociclopentilo, aminociclohexilo y similares.

10 El término "aminoalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un sustituyente de amino, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de aminoalquilo incluyen, pero no se limitan a: aminometilo, aminoetilo, amino-n-propilo, amino-isopropilo, amino-n-butilo, amino-sec-butilo, aminoisobutilo, amino-*t*-butilo, amino-pentilo, aminoisopentilo, amino-*t*-pentilo, aminoneopentilo, amino-1-metilbutilo, amino-2-metilbutilo, amino-n-hexilo y similares.

15 El término "aminoarilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo sustituido con un sustituyente de amino, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de aminoarilo incluyen, pero no se limitan a: amino-fenilo, amino-naftalenilo y similares.

20 El término "aminoheterociclilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclilo sustituido con un sustituyente de amino, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de aminoheterociclilo incluyen, pero no se limitan a: aminopirrolidinilo, aminopiperidinilo y similares.

25 El término "arilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical derivado de un sistema de anillos de hidrocarburo monocíclico o bicíclico, de 6 a 12 miembros, en donde al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de arilo incluyen, pero no se limitan a: fenilo, naftalenilo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftalenilo, 5,6,7,8-tetrahidro-naftalenilo, indanilo y similares.

30 El término "arilalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un sustituyente de arilo, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de arilalquilo incluyen, pero no se limitan a: bencilo, fenetilo, fenilpropilo, naftalenilmetilo y similares.

35 El término "arildiílo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente derivado de un sistema de anillos de hidrocarburo monocíclico o bicíclico de 6 a 12 miembros, en donde al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de arildiílo incluyen fenildiílo, naftalenildiílo, 1,2,3,4-tetrahidro-naftalenildiílo, 5,6,7,8-tetrahidro-naftalenildiílo, indanildiílo y similares.

El término "carboxamida", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)NH_2$.

40 El término "carboxilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)OH$.

El término "ciano", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-CN$.

45 El término "cicloalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo cíclico saturado que contiene la cantidad especificada de átomos de carbono, por ejemplo, alquilo C_3-C_7 o alquildiílo C_4-C_7 . Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares.

50 El término "cicloalquilalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un sustituyente de cicloalquilo, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de cicloalquilalquilo incluyen, pero no se limitan a: cicopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, ciclopentiletilo, ciclobutiletilo, ciclopentiletilo, ciclohexiletilo y similares.

55 El término "cicloalquildiílo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo divalente cíclico saturado que contiene la cantidad especificada de átomos de carbono, por ejemplo, cicloalquildiílo C_3-C_7 o alquildiílo C_4-C_7 . Los ejemplos de cicloalquildiílo incluyen, pero no se limitan a: ciclopropildiílo, ciclobutildiílo, ciclopentildiílo, ciclohexildiílo y similares.

60 El término "guanidino", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-NH-C(=NH)-NH_2$.

El término "halo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-F$, $-Cl$, $-Br$ y $-I$.

65 El término "haloacilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a $-C(O)$ -haloalquilo, en donde haloalquilo es tal como se define en el presente documento. Los ejemplos de haloacilo incluyen, pero no se limitan a: difluoroacetilo, trifluoroacetilo, 3,3,3-trifluoropropanoilo, pentafluoroproponilo y similares.

El término "haloalcoxi", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –O-haloalquilo, en donde haloalquilo es tal como se define en el presente documento. Los ejemplos de haloalcoxi incluyen, pero no se limitan a: difluorometoxi, trifluorometoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi, pentafluoroetoxi y similares.

El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo, tal como se define en el presente documento, sustituido con uno o más halógenos. Un haloalquilo sustituido completamente puede representarse mediante la fórmula C_nL_{2n+1} en donde L es un halógeno. Cuando hay más de un halógeno presente, entonces estos pueden ser iguales o diferentes y seleccionados del grupo que consiste en F, Cl, Br y I. Los ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, clorodifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, pentafluoroetilo y similares.

El término "heteroarilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical derivado de un sistema de anillos monocíclico o bicíclico de 6 a 12 miembros, en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo y al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a: O, S, N y similares. Los ejemplos de heteroarilo incluyen, pero no se limitan a: piridilo, benzofuranilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, triazinilo, quinolinilo, benzotiazolilo, 1*H*-bencimidazolilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, pirrolilo, indolilo, 1*H*-benzoimidazol-2-ilo, benzo[1,3]dioxol-5-ilo, 3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-7-ilo, 2,3-dihidro-benzofuran-7-ilo, 2,3-dihidro-indol-1-ilo y similares.

El término "heteroarilalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un sustituyente de heteroarilo, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de heteroarilalquilo incluyen, pero no se limitan a: piridilmetilo, benzofuranilmetilo, pirazinilmetilo, piridazinilmetilo, pirimidinilmetilo, triazinilmetilo, quinolinilmetilo, benzoxazolilmetilo, benzotiazolilmetilo, 1*H*-benzimidazolilmetilo, isoquinolinilmetilo, quinazolinilmetilo, quinoxalinilmetilo, pirrolilmetilo, indolilmetilo, 1*H*-benzoimidazol-2-ilmetilo, benzo[1,3]dioxol-5-ilmetilo, 3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-7-ilmetilo, 2,3-dihidro-benzofuran-7-ilmetilo, 2,3-dihidro-indol-1-ilmetil y similares.

El término "heteroarildiílo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente derivado de un sistema de anillos monocíclico o bicíclico de 6 a 12 miembros, en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo y al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a: O, S, N y similares. Los ejemplos de heteroarildiílo incluyen, pero no se limitan a: tiazolildiílo, 2,4-tiazolildiílo, triazolildiílo, 1,2,3-triazolil-1,4-diílo, piridildiílo, benzofuranildiílo, pirazinildiílo, piridazinildiílo, pirimidinildiílo, triazinildiílo, quinolinildiílo, benzoxazolildiílo, benzotiazolildiílo, 1*H*-benzimidazolildiílo, isoquinolinildiílo, quinazolinildiílo, quinoxalinildiílo, pirrolildiílo, indolildiílo, 1*H*-benzoimidazol-2-ildiílo, benzo[1,3]dioxol-5-ildiílo, 3,4-dihidro-2*H*-benzo[1,4]oxazin-7-ildiílo, 2,3-dihidro-benzofuran-7-ildiílo, 2,3-dihidro-indol-1-ildiílo y similares. Los ejemplos de incluyen, pero no se limitan a: y similares.

El término "heterociclilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical derivado de un sistema de anillos no aromático monocíclico o bicíclico de 3 a 12 miembros, en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo. Los ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a: O, S, N y similares. Un sustituyente de heterociclilo se puede unir a través de cualquiera de sus átomos de anillo disponibles, por ejemplo, un carbono del anillo o un nitrógeno del anillo. En algunas realizaciones, el grupo heterociclilo es un anillo que contiene 3, 4, 5, 6 o 7 miembros. Los ejemplos de grupo heterociclilo incluyen, pero no se limitan a: aziridin-1-ilo, aziridin-2-ilo, azetidín-1-ilo, azetidín-2-ilo, azetidín-3-ilo, piperidín-1-ilo, piperidín-2-ilo, piperidín-3-ilo, piperidín-4-ilo, morfolin-2-ilo, morfolin-3-ilo, morfolin-4-ilo, piperazin-1-ilo, piperazin-2-ilo, piperazin-3-ilo, piperazin-4-ilo, pirrolidín-1-ilo, pirrolidín-2-ilo, pirrolidín-3-ilo, [1,3]-dioxolan-2-ilo, tiomorfolín-4-ilo, [1,4]oxazepan-4-ilo, 1,1-dioxo-1λ⁶-tiomorfolín-4-ilo, azepan-1-ilo, azepan-2-ilo, azepan-3-ilo, azepan-4-ilo, octahidro-quinolin-1-ilo, octahidro-isoquinolin-2-ilo y similares.

El término "heterociclilalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un sustituyente de heterociclilo, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de heterociclilalquilo incluyen, pero no se limitan a: azetidín-3-ilmetilo piperidín-1-ilmetilo piperidín-2-ilmetilo piperidín-3-ilmetilo piperidín-4-ilmetilo morfolin-2-ilmetilo morfolin-3-ilmetilo morfolin-4-ilmetilo piperazin-1-ilmetilo piperazin-2-ilmetilo piperazin-3-ilmetilo piperazin-4-ilmetilo pirrolidín-1-ilmetilo pirrolidín-2-ilmetilo pirrolidín-3-ilmetilo [1,3]-dioxolan-2-ilmetilo tiomorfolín-4-ilmetilo [1,4]oxazepan-4-ilmetilo 1,1-dioxo-1λ⁶-tiomorfolín-4-ilmetilo azepan-1-ilmetilo azepan-2-ilmetilo azepan-3-ilmetilo azepan-4-ilmetilo octahidro-quinolin-1-ilmetilo octahidro-isoquinolin-2-ilo y similares.

El término "heterocicliildiílo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un radical divalente derivado de un sistema de anillos no aromático monocíclico o bicíclico de 3 a 12 miembros, en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo. Los ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a: O, S, N y similares. Un sustituyente de heterocicliildiílo se puede unir a través de dos de cualquiera de sus átomos de anillo disponibles, por ejemplo, carbonos del anillo o nitrógenos del anillo. En algunas realizaciones, el heterocicliildiílo es un anillo que contiene 3, 4, 5, 6 o 7 miembros. Los ejemplos de grupo heterocicliildiílo incluyen, pero no se limitan a: aziridin-1-ildiílo, aziridin-2-ildiílo, azetidín-1-ildiílo, azetidín-2-ildiílo, azetidín-3-ildiílo, piperidín-1-ildiílo, piperidín-2-ildiílo, piperidín-3-ildiílo, piperidín-4-ildiílo, morfolin-2-ildiílo, morfolin-3-ildiílo, morfolin-4-ildiílo, piperazin-1-ildiílo, piperazin-

2-ildiílo, piperazin-3-ildiílo, piperazin-4-ildiílo, pirrolidin-1-ildiílo, pirrolidin-2-ildiílo, pirrolidin-3-ildiílo, [1,3]-dioxolan-2-ildiílo, tiomorfolin-4-ildiílo, [1,4]oxazepan-4-ildiílo, 1,1-dioxo-1λ6-tiomorfolin-4-ildiílo, azepan-1-ildiílo, azepan-2-ildiílo, azepan-3-ildiílo, azepan-4-ildiílo, octahidro-quinolin-1-ildiílo, octahidro-isoquinolin-2-ildiílo y similares..

5 El término "hidroxilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –OH.

El término "hidroxialquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un sustituyente de hidroxilo, tal como esos términos se definen en el presente documento. Los ejemplos de hidroxialquilo incluyen, pero no se limitan a: hidroximetilo, hidroxietilo, hidroxio-n-propilo, hidroxioisopropilo, hidroxio-n-butilo, hidroxio-sec-butilo, hidroxioisobutilo, hidroxio-*t*-butilo, hidroxipentilo, hidroxioisopentilo, hidroxio-*t*-pentilo, hidroxioineopentilo, hidroxio-1-metilbutilo, hidroxio-2-metilbutilo, hidroxio-n-hexilo y similares.

El término "nitro" como se usa en el presente documento se refiere a –NO₂.

15 El término "oxo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a =O.

El término "tio", tal como se usa en el presente documento, se refiere a –SH.

20 El término "tioalquilo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a alquilo–S–, en donde alquilo es tal como se define en el presente documento. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: metiltio, etiltio, n-propiltio, isopropiltio, n-butiltio, sec-butiltio, isobutiltio, *t*-butiltio, pentiltio, isopentiltio, *t*-pentiltio, neopentiltio, 1-metilbutiltio, 2-metilbutiltio, n-hexiltio y similares.

25 Tal como se usa en el presente documento, "sustituido" indica que al menos un átomo de hidrógeno del grupo químico se reemplaza por un grupo o sustituyente diferente a hidrógeno, en donde el grupo o sustituyente diferente a hidrógeno puede ser monovalente o divalente. Cuando el grupo sustituyente es divalente, entonces se entiende que el grupo puede sustituirse adicionalmente con otro sustituyente o grupo. Cuando un grupo químico en el presente documento está "sustituido", puede tener hasta la totalidad de la valencia de sustituciones; por ejemplo, un grupo metilo puede estar sustituido por 1, 2 o 3 sustituyentes, un grupo metileno (metildiílo) puede estar sustituido por 1 o 2 sustituyentes, un grupo fenilo puede estar sustituido por 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes, un grupo naftilo puede estar sustituido por 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 sustituyentes y similares. De manera similar, "sustituido con uno o más sustituyentes" se refiere a la sustitución de un grupo con un sustituyente hasta la cantidad total de sustituyentes permitidos físicamente por el grupo. Además, cuando un grupo se sustituye con más de un grupo, estos pueden ser idénticos o pueden ser diferentes.

35 Los compuestos descritos en el presente documento también pueden incluir formas tautoméricas, tales como tautómeros de ceto-enol y similares. Las formas tautoméricas pueden estar en equilibrio o bloqueadas estéricamente en una forma mediante la sustitución adecuada. Se entiende que las diversas formas tautoméricas están dentro del alcance de los compuestos de la presente invención.

40 Se entiende y aprecia que los compuestos de fórmula I y las fórmulas relacionadas con esta pueden tener uno o más centros quirales y, por lo tanto, pueden existir como enantiómeros y/o diastereómeros. Se entiende que la invención se extiende y abarca todos dichos enantiómeros, diastereómeros y mezclas de estos, que incluyen, pero no se limitan a, racematos. Se entiende que se pretende que los compuestos de fórmula I y las fórmulas utilizadas a lo largo de esta descripción representen todos los enantiómeros individuales y mezclas de estos, a menos que se establezca o muestre lo contrario.

50 La expresión "grupo protector", tal como se utiliza en el presente documento, hace referencia a un resto químico lábil que se conoce en la técnica para la protección de grupos reactivos, que incluyen, pero no se limitan a, grupos hidroxilo y amino, contra reacciones no deseadas durante procedimientos sintéticos. Los grupos hidroxilo y amino que se encuentran protegidos con un grupo protector se denominan en el presente documento "grupos hidroxilo protegidos" y "grupos amino protegidos", respectivamente. Los grupos protectores normalmente se utilizan de forma selectiva y/o de forma ortogonal para proteger sitios durante reacciones en otros sitios reactivos y pueden eliminarse después para dejar el grupo sin protección tal como es o disponible para reacciones adicionales. Los grupos protectores tal como se conocen en la técnica se describen de forma general en Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3.^a edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999). Los grupos pueden incorporarse de forma selectiva en compuestos de la presente divulgación como precursores. Por ejemplo, un grupo amino puede colocarse en un compuesto descrito en el presente documento, tal como un grupo azido que puede convertirse de forma química en un grupo amino en un momento deseado en la síntesis. Por lo general, los grupos se encuentran protegidos o presentes como un precursor que será inerte a las reacciones que modifiquen otras áreas de la molécula original para la conversión a sus grupos finales en un momento adecuado. Se tratan grupos protectores o precursores representativos adicionales en Agrawal, *et ál.*, *Protocols for Oligonucleotide Conjugates*, Eds, Humana Press; Nueva Jersey, 1994; Vol. 26 págs. 1-72. Los ejemplos de "grupos protectores hidroxilo" incluyen, pero no se limitan a, *t*-butilo, *t*-butoximetilo, metoximetilo, tetrahidropirano, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 2-trimetilsililetilo, *p*-clorofenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, 2,6-diclorobencilo, difenilmetilo, *p*-nitrobencilo, trifenilmetilo, trimetilsililo,

trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, *t*-butildifenilsililo (TBDPS), trifenilsililo, benzoilformiato, acetato, cloroacetato, tricloroacetato, trifluoroacetato, pivaloato, benzoato, *p*-fenilbenzoato, carbonato de 9-fluorenilmetilo, mesilato y tosilato. Los ejemplos de "grupos protectores amino" incluyen, pero no se limitan a, grupos protectores de carbamato, tales como 2-trimetilsililetoxicarbonilo (Teoc), 1-metil-1-(4-bifenilil)-etoxicarbonilo (Bpoc), *t*-butoxicarbonilo (BOC), aliloxicarbonilo (Alloc), 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc) y benciloxicarbonilo (Cbz); grupos protectores de amida, tales como formilo, acetilo, trihaloacetilo, benzoilo nitrofenilacetilo; grupos protectores de sulfonamida, tales como 2-nitrobencensulfonilo y grupos protectores de imina e imida cíclica, tales como ftalimido y ditiasuccinilo.

"Profármaco", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que puede convertirse en condiciones fisiológicas o mediante solvólisis en un compuesto biológicamente activo descrito en el presente documento. Por lo tanto, el término "profármaco" se refiere a un precursor metabólico de un compuesto descrito en el presente documento que es farmacéuticamente aceptable. Un profármaco puede estar inactivo cuando se administra a un sujeto que lo necesita, pero se convierte *in vivo* en un compuesto activo descrito en el presente documento. En una realización, un profármaco se transforma rápidamente *in vivo* para proporcionar el compuesto original descrito en el presente documento, por ejemplo, mediante hidrólisis en la sangre. En una realización, un profármaco puede ser estable en el plasma o la sangre. En una realización, un profármaco puede ser una forma dirigida de un compuesto descrito en el presente documento. El compuesto de profármaco frecuentemente ofrece ventajas de solubilidad, compatibilidad con tejidos o liberación retardada en un organismo mamífero (véase, Bundgard, H., Design of Prodrugs (1985), págs. 7 9, 21 24 (Elsevier, Ámsterdam)). Se proporciona una exposición sobre profármacos en Higuchi, T., *et ál.*, A.C.S. Symposium Series, Vol. 14 y en Bioreversible Carriers in Drug Design, Ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

El término "profármaco", incluye cualquier vehículo enlazado de forma covalente, que libera el compuesto activo descrito en el presente documento *in vivo* cuando dicho profármaco se administra a un sujeto mamífero. Los conjugados, que incluyen los ADC, tal como se divulga en el presente documento, son los profármacos de los compuestos descritos en el presente documento. Los profármacos de un compuesto descrito en el presente documento, se pueden preparar mediante la modificación de los grupos funcionales presentes en un compuesto descrito en el presente documento, de forma tal que las modificaciones se escindan, ya sea en manipulación de rutina o *in vivo*, para proporcionar el compuesto descrito en el presente documento. Los profármacos incluyen compuestos descritos en el presente documento, en donde un grupo hidroxilo, amino o mercapto se enlaza con cualquier grupo que, cuando se administra el profármaco del compuesto descrito en el presente documento al sujeto mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre o mercapto libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados de acetato, formiato y benzoato de grupos funcionales de alcohol y derivados de amida de grupos funcionales de amina en los compuestos descritos en el presente documento y similares.

La presente divulgación también comprende todos los compuestos descritos en el presente documento marcados isotópicamente mediante el reemplazo de uno o más átomos con un átomo con un número de masa o masa atómica diferente. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a los compuestos divulgados incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, cloro y yodo, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I , respectivamente. Estos compuestos radiomarcados son útiles para ayudar a determinar o medir la eficacia de los compuestos, al caracterizar, por ejemplo, el sitio o el modo de acción, o la afinidad de unión a un sitio de acción farmacológicamente importante. Determinados compuestos marcados isotópicamente descritos en el presente documento, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, son útiles para los estudios de distribución de fármacos y/o sustratos en los tejidos. Los isótopos radioactivos de tritio, es decir, ^3H y carbono-14, es decir, ^{14}C , son particularmente útiles a estos efectos en vista de su facilidad de incorporación y los medios de detección fáciles.

La sustitución con isótopos más pesados como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas producidas por la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menos requisitos de dosificación y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias.

La sustitución con isótopos que emiten positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , puede ser útil en estudios de Topografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato. Los compuestos descritos en el presente documento marcados isotópicamente generalmente se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos en las preparaciones y ejemplos tal como se establece a continuación, mediante el uso de reactivo adecuado marcado isotópicamente en lugar del reactivo no marcado utilizado previamente.

También se pretende que la presente divulgación abarque los productos metabólicos *in vivo* de los compuestos divulgados. Dichos productos pueden resultar, por ejemplo, de la oxidación, la reducción, la hidrólisis, la amidación, la esterificación y similares del compuesto administrado, debido principalmente a procesos enzimáticos. Por consiguiente, la presente divulgación incluye compuestos producidos por un proceso que comprende la administración de un compuesto de la presente divulgación a un mamífero durante un período de tiempo suficiente para proporcionar un producto metabólico de este. Tales productos se identifican normalmente mediante la

administración de un compuesto radiomarcado descrito en el presente documento en una dosis detectable a un animal, tal como una rata, un ratón, una cobaya, un mono o un ser humano, permitiendo que transcurra suficiente tiempo para que se produzca el metabolismo y aislando sus productos convertidos de la orina, la sangre u otras muestras biológicas.

5 "Compuesto estable" y "estructura estable", tal como se usan en el presente documento, se refieren a un compuesto que es lo suficientemente potente para sobrevivir el aislamiento a un nivel útil de pureza de una mezcla de reacción y su formulación en un agente terapéutico eficaz.

10 Otras definiciones

El término "anticuerpo" en el presente documento se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente los anticuerpos monoclonales intactos, los anticuerpos policlonales, los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos y los fragmentos de anticuerpos, siempre que exhiban la actividad biológica deseada. El término "anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina de longitud total o una parte funcionalmente activa de una molécula de inmunoglobulina de longitud total, es decir, una molécula que contiene un sitio de unión al antígeno que une de forma inmunespecífica un antígeno de un objetivo de interés o una parte de esta. La inmunoglobulina descrita en el presente documento puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD e IgA), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas pueden derivar de cualquier especie. En un aspecto, la inmunoglobulina es de origen humano, murino o de conejo. En otro aspecto, los anticuerpos son policlonales, monoclonales, multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos), humanos, humanizados o anticuerpos quiméricos, anticuerpos lineales, anticuerpos de cadena simple, diacuerpos, maxicuerpos, minicuerpos, Fv, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), fragmentos F(ab')₂, fragmentos producidos por una biblioteca de expresión Fab, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id), CDR y fragmentos de unión al epítipo de cualquiera de los anteriores que se unen de forma inmunespecífica a un antígeno objetivo.

La expresión "anticuerpo monoclonal", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales incluyen anticuerpos "quiméricos" en los cuales una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de las cadenas es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como también fragmentos de dichos anticuerpos, (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.816.567 y Morrison *et ál.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU 81: 6851-6855). Los anticuerpos monoclonales también incluyen anticuerpos humanizados que pueden contener una región constante completamente humana y un CDR de una fuente no humana.

Un anticuerpo "intacto" es el que comprende una región variable de unión al antígeno, así como un dominio constante de cadena ligera (CL) y dominios constantes de cadena pesada, C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de una secuencia natural (por ejemplo, dominios constantes de una secuencia natural humana) o una variante de secuencia de aminoácidos de estos.

Un anticuerpo intacto puede tener una o más "funciones efectoras" que se refieren a aquellas actividades biológicas que se pueden atribuir a la región Fc (una región Fc de secuencia nativa o una región Fc variante de secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen la unión a C1q; la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC); unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC, por sus siglas en inglés); fagocitosis; regulación por disminución de los receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B; BCR), etc. En algunas realizaciones, el anticuerpo carece de función efectora.

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una parte de un anticuerpo intacto, que comprende preferentemente la región de unión al antígeno o variable de este. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpos de cadena simple; maxicuerpos; minicuerpos; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Un anticuerpo "aislado" es uno que ha sido identificado y separado y/o recuperado de un componente de su ambiente natural. Los componentes contaminantes de su ambiente natural son materiales que interferirían con los usos diagnósticos o terapéuticos para el anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En algunas realizaciones, el anticuerpo se purificará (1) a más de un 95 % en peso del anticuerpo, tal como se determina por el método de Lowry y más preferentemente más de 99 % en peso, (2) a un punto suficiente como para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácidos interna o de extremo N, por medio del uso de un secuenciador de taza giratoria o (3) a homogeneidad por SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras, mediante el uso de azul de Coomassie o, preferentemente, tinción argéntica. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes ya que al menos un componente del entorno natural del

anticuerpo no estará presente. Generalmente, sin embargo, el anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación.

5 Un anticuerpo "que se une" a un antígeno de interés es aquel que es capaz de unirse a tal antígeno con suficiente afinidad para que el anticuerpo sea útil en el direccionamiento a una célula que expresa el antígeno.

10 Un polipéptido de "secuencia natural" es aquel que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el polipéptido derivado de la naturaleza. Dichos polipéptidos de secuencia natural pueden aislarse de la naturaleza o pueden producirse mediante medios recombinantes o sintéticos. Por lo tanto, un polipéptido de secuencia natural puede tener la secuencia de aminoácidos de polipéptidos humanos de origen natural, polipéptidos murinos o polipéptidos de cualquier otra especie de mamíferos.

15 La expresión "metabolito intracelular" se refiere a un compuesto producido a partir de una reacción o proceso metabólico dentro de una célula en una composición descrita en el presente documento (por ejemplo, un conjugado de fármaco y anticuerpo (ADC)). La reacción o proceso metabólico puede ser un proceso enzimático tal como escisión proteolítica de un enlazador de péptidos de la composición de la presente o hidrólisis de un grupo funcional tal como hidrazona, éster o amida dentro de la composición de la presente. En el contexto de los conjugados, que incluyen los ADC, los metabolitos intracelulares incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos y fármacos libres, que se separaron a nivel intracelular, es decir, después de la entrada, la difusión, la absorción o el transporte en una célula (por ejemplo, mediante escisión enzimática de un ADC mediante una enzima intracelular).

25 En el contexto de los conjugados, que incluyen los ADC, las expresiones "escindido a nivel intracelular" y "escisión intracelular" se refieren a reacciones o procesos metabólicos dentro de una célula en una composición descrita en el presente documento mediante los cuales el acoplamiento covalente, por ejemplo, el enlazador (L), entre el resto de fármaco (D) y el resto de direccionamiento (T) (por ejemplo, un anticuerpo) se rompe, lo que produce el fármaco libre disociado de (T) dentro de la célula. En una realización, los restos escindidos de las composiciones de la presente, por lo tanto, son metabolitos intracelulares (por ejemplo, T, fragmento T-L, fragmento D-L y D). Por consiguiente, en una realización, la invención proporciona composiciones que son productos de escisión de una composición de fórmula II, cuyos productos de escisión comprenden compuestos de fórmula I.

30 La expresión "escisión extracelular" se refiere a una reacción o proceso metabólico fuera de una célula en una composición descrita en el presente documento por medio del cual el acoplamiento covalente, por ejemplo, el enlazador (L), entre el resto de fármaco (D) y el resto de direccionamiento (T) (por ejemplo, un anticuerpo) se rompe, lo que produce el fármaco libre disociado de (T) fuera de la célula. En una realización, los restos escindidos de las composiciones, por lo tanto, son inicialmente metabolitos extracelulares (por ejemplo, T, fragmento T-L, fragmento D-L y D), que se pueden mover a nivel intracelular mediante difusión y permeabilidad o transporte celular. Por consiguiente, en una realización, la invención proporciona composiciones que son productos de escisión de una composición de fórmula II, cuyos productos de escisión comprenden compuestos de fórmula I.

40 "Mamífero" incluye seres humanos y tanto animales domésticos, tales como los de laboratorio, como mascotas (por ejemplo, gatos, perros, porcinos, ganado bovino, ovejas, cabras, caballos, conejos) y animales no domésticos, tales como animales salvajes y similares.

45 "Opcional" u "opcionalmente" significan que el evento o circunstancia que se describe posteriormente puede ocurrir o no y que la descripción incluye instancias en las cuales dicho evento o circunstancia ocurre e instancias en las cuales no ocurre. Por ejemplo, "arilo opcionalmente sustituido" significa que el sustituyente arilo puede encontrarse sustituido o no y que la descripción incluye tanto sustituyentes arilo sustituidos como sustituyentes arilo que no tienen sustitución.

50 "Vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye, pero no se limita a, cualquier adyuvante, vehículo, excipiente, deslizante, agente edulcorante, diluyente, conservante, tinte/colorante, potenciador del sabor, tensioactivo, agente humectante, agente de dispersión, agente de suspensión, estabilizante, agente isotónico, disolvente o emulsionante aprobado por la United States Food and Drug Administration (u otra entidad reguladora similar de otra jurisdicción) como aceptable para su uso en seres humanos o animales domésticos.

55 "Sal farmacéuticamente aceptables" incluye tanto sales de adición de ácido como de base.

60 "Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que retienen la eficacia y las propiedades biológicas de las bases libres, que no son indeseables desde el punto de vista biológico o de otro tipo, y que están formadas con ácidos inorgánicos, tales como, pero que no se limitan a, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares y ácidos orgánicos tales como, pero que no se limitan a, ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido canfórico, ácido canfor-10-sulfónico, ácido caprílico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido carbónico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etan-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido

glutámico, ácido glutárico, ácido 2-oxo-glutárico, ácido lactobiónico, ácido láurico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido múcico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido propiónico, ácido piroglutámico, ácido pirúvico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluoroacético, ácido undecilénico y similares.

"Sal de adición de base farmacéuticamente aceptable" hace referencia a aquellas sales que mantienen su eficacia biológica y las propiedades de los ácidos libres y que no son deseables desde el punto de vista biológico o de otro modo. Estas sales se preparan a partir de la adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen, pero no se limitan a, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales inorgánicas preferidas son sales de amonio, sodio, potasio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio de iones básicas, tales como resinas de amoníaco, isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, dietanolamina, etanolamina, deanol, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietilaminoetanol, dicitclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, benetamina, benzatina, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, trietanolamina, trometamina, purinas, piperazina, piperidina, *N*-etilpiperidina, resinas de poliamina y similares. Las bases orgánicas particularmente preferidas son isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitclohexilamina, colina y cafeína.

Frecuentemente las cristalizaciones producen un solvato del compuesto descrito en el presente documento. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "solvato" se refiere a un agregado que comprende una o más moléculas de un compuesto descrito en el presente documento con una o más moléculas de disolvente. El disolvente puede ser agua, en cuyo caso el solvato puede ser un hidrato. De manera alternativa, el disolvente puede ser un disolvente orgánico. Por consiguiente, los compuestos de la presente divulgación pueden existir como un hidrato, que incluye un monohidrato, dihidrato, hemihidrato, sesquihidrato, trihidrato, tetrahidrato y similares, así como las formas solvatadas correspondientes. El compuesto descrito en el presente documento puede ser un solvato verdadero mientras que, en otros casos, el compuesto descrito en el presente documento puede meramente retener agua imprevista o ser una mezcla de agua más algo de disolvente imprevisto.

Una "composición farmacéutica" se refiere a una formulación de un compuesto descrito en el presente documento y un medio generalmente aceptado en la técnica para la administración del compuesto biológicamente activo a mamíferos, por ejemplo, seres humanos. Dicho medio incluye todos los vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables para este.

Los ejemplos no limitantes de trastornos a tratar en el presente documento incluyen tumores benignos y malignos; leucemia y neoplasias malignas linfoides, en particular, cáncer de mama, ovario, estómago, endometrio, de las glándulas salivales, pulmón, riñón, colon, tiroideas, páncreas, próstata o vejiga; trastornos neuronales, gliales, astrocitales, hipotalámicos y otros trastornos glandulares, macrofágicos, epiteliales, estromales y blastocélulas, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad inflamatoria, fibrosis y enfermedad infecciosa. Dadas las características y, particularmente, la potencia de las composiciones de la presente, resultará evidente para el experto en la técnica que se puede indicar el uso de los compuestos descritos en el presente documento para tratar cualquier enfermedad donde es deseable el esfuerzo de un efecto citotóxico sobre una célula objetivo.

En una realización, las composiciones descritas en el presente documento se utilizan para tratar una enfermedad autoinmunitaria. Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de una célula que es responsable de la producción de anticuerpos autoinmunitarios puede obtenerse de cualquier organización (por ejemplo, una universidad científica o una empresa, tal como Genetech) o producirse mediante cualquier método conocido para un experto en la técnica, tal como, por ejemplo, técnicas de expresión recombinante o síntesis química. En otra realización, los anticuerpos de ligando útiles que son inmunoespecíficos para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a: anti-anticuerpo nuclear; anti ADNcd; anticuerpo IgM, IgG anti cardiolipina, anti ADNcs; anticuerpo IgM, IgG anti fosfolípidos; anticuerpo anti SM; anticuerpo anti mitocondrial; anticuerpo tiroideo; anticuerpo microsómico; anticuerpo tiroglobulina; anti SCL-70; anti-Jo; anti-UIRNP; anti-La/SSB; anti SSA; anti SSB; anticuerpo anti células parietales; anti histonas; anti RNP; C-ANCA; P-ANCA; anti centrómero; anticuerpo anti-fibrilarina y anti GBM. En determinadas realizaciones preferidas, los anticuerpos útiles en los métodos de la presente pueden unirse tanto a un receptor como a un complejo receptor expresado en un linfocito activado.

El receptor o complejo receptor puede comprender un miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulina, un miembro de la superfamilia de receptor de TNF, una integrina, un receptor de citocina, un receptor de quimiocina, una proteína de histocompatibilidad principal, una lectina o una proteína de control del complemento. Los ejemplos no limitantes de miembros de la superfamilia de inmunoglobulina aceptables son CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD22, CD28, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1 e ICOS.

Los ejemplos no limitantes de miembros de la superfamilia del receptor de TNF adecuados son CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, osteoprotegerina, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4 y APO-3. Los ejemplos no limitantes de integrinas adecuadas son CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 y CD104. Los ejemplos no limitantes de lectinas adecuadas son lectina tipo C, tipo S y tipo I.

En una realización, el ligando es un anticuerpo que se une a un linfocito activado que está asociado con una enfermedad autoinmunitaria.

Las enfermedades inmunológicas que se caracterizan por la activación inadecuada de células inmunitarias que pueden tratarse o prevenirse mediante los métodos descritos en el presente documento pueden clasificarse, por ejemplo, mediante el tipo o tipos de reacción o reacciones de hipersensibilidad que subyacen al trastorno. Estas reacciones se clasifican típicamente en cuatro tipos: reacciones anafilácticas, reacciones citotóxicas (citolíticas), reacciones complejas inmunitarias o reacciones de inmunidad mediada por células (CMI, por sus siglas en inglés) (también denominadas reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH, por sus siglas en inglés)). (Véase, por ejemplo, *Fundamental Immunology* (William E. Paul ed., Raven Press, N.Y., 3.^a ed. 1993)).

Los ejemplos específicos de enfermedades inmunológicas incluyen las siguientes: artritis reumatoide, enfermedades autoinmunitarias desmielinizantes (por ejemplo, esclerosis múltiple, encefalomiелitis alérgica), oftalmopatía endocrina, uveorretinitis, lupus eritematoso sistémico, miastemia gravis, enfermedad de Grave, glomerulonefritis, trastorno hepatológico autoinmunitario, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn), anafilaxis, reacción alérgica, síndrome de Sjogren, diabetes mellitus tipo I, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegner, fibromialgia, polimiositis, dermatomiositis, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, uveitis autoinmunitaria, enfermedad de Addison, adrenatitis, tiroiditis, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, anemia perniciosa, atrofia gástrica, hepatitis crónica, hepatitis lupoide, aterosclerosis, lupus eritematoso cutáneo subagudo, hipoparatiroidismo, síndrome de Dressler, trombocitopenia autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica, pénfigo vulgar, pénfigo, dermatitis herpetiforme, alopecia areata, penfigoide, escleroderma, esclerosis sistémica progresiva, síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), infertilidad autoinmunitaria masculina y femenina, espondilitis anquilosante, colitis ulcerativa, enfermedad mixta del tejido conectivo, poliarteritis nodosa, vasculitis necrosante sistémica, dermatitis atópica, rinitis atópica, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Chagas, sarcoidosis, fiebre reumática, asma, aborto recurrente, síndrome antifosfolipídico, pulmón de granjero, eritema multiforme, síndrome postcardiotomía, síndrome de Cushing, hepatitis activa crónica autoinmunitaria, pulmón de avicultor, necrólisis epidérmica tóxica, síndrome de Alport, alveolitis, alveolitis alérgica, alveolitis fibrosante, enfermedad pulmonar intersticial, eritema nodoso, pioderma gangrenosa, reacción a la transfusión, arteritis de Takayasu, polimialgia reumática, arteritis temporal, esquistosomiasis, arteritis de células gigantes, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Sampter, eczema, granulomatosis linfomatoide, enfermedad de Behcet, síndrome de Caplan, enfermedad de Kawasaki, dengue, encefalomiелitis, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, endoftalmitis, eritema *elevatum et diutinum*, psoriasis, eritroblastosis fetal, fascitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Fely, filariasis, ciclitis, ciclitis crónica, ciclitis heterocrónica, ciclitis de Fuch, nefropatía de IgA, púrpura de Henoch-Schonlein, enfermedad de injerto contra huésped, rechazo del trasplante, cardiomiopatía, síndrome de Eaton-Lambert, policondritis recidivante, crioglobulinemia, macroglobulinemia de Waldenstrom, síndrome de Evan e insuficiencia gonadal autoinmunitaria. Por consiguiente, los métodos descritos en el presente documento abarcan el tratamiento de trastornos de linfocitos B (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, artritis reumatoide y diabetes de tipo I), linfocitos Th1 (por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de Sjogren, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Grave, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegner, tuberculosis o enfermedad aguda de injerto contra huésped) o linfocitos Th2 (por ejemplo, dermatitis atópica, lupus eritematoso sistémico, asma atópica, rinoconjuntivitis, rinitis alérgica, síndrome de Omenn, esclerosis sistémica o enfermedad crónica de injerto contra huésped). En general, los trastornos que implican células dendríticas comprenden trastornos de linfocitos Th1 y linfocitos Th2.

En determinadas realizaciones, el trastorno inmunológico está mediado por linfocitos T, que pueden incluir linfocitos T activados. Pueden administrarse ADC o derivados de ADC para agotar dichas células T activadas.

En una realización, las composiciones descritas en el presente documento pueden utilizarse para tratar la fibrosis. La fibrosis se puede producir en muchos tejidos en el cuerpo, habitualmente como resultado de la inflamación o daño, y los ejemplos incluyen, pero no se limitan a; pulmones, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis quística; hígado, cirrosis; corazón, fibrosis endomiocárdica, infarto del miocardio anterior, fibrosis atrial; otras, fibrosis mediastinal (tejido blando del mediastino), mielofibrosis (médula ósea), fibrosis retroperitoneal (tejido blando del retroperitoneo), fibrosis masiva progresiva (pulmones); una complicación de neumoconiosis de los mineros del carbón, fibrosis sistémica nefrogénica (piel); enfermedad de Crohn (intestino), queloides (piel), escleroderma/esclerosis sistémica (piel, pulmones), artrofibrosis (rodillas, hombros, otras articulaciones), enfermedad de Peyronie (pene), contractura de Dupuytren (manos, dedos) y algunas formas de capsulitis adhesiva (hombros).

Con respecto a las enfermedades infecciosas, las composiciones descritas en el presente documento pueden

utilizarse de forma directa sobre determinados patógenos o agentes infecciosos, o pueden utilizarse para ejercer un efecto citostático o citotóxico sobre una célula hospedadora que alberga o proporciona de otra manera el patógeno o agente infeccioso.

5 "Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto que se describe en el presente documento que, cuando se administra a un mamífero, preferentemente a un ser humano, es suficiente para realizar el tratamiento, tal como se define más adelante, del diagnóstico en particular (por ejemplo, cáncer o células tumorales en el mamífero, preferentemente en un ser humano). La cantidad de un compuesto que se describe en el presente documento que constituye una "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo del
10 compuesto, la afección y su gravedad, la forma de administración y la edad del mamífero a tratar, pero un experto habitual en la técnica puede determinarla en forma rutinaria basándose en sus propios conocimientos y en esta divulgación.

15 "Tratar" o "tratamiento", tal como se utiliza en el presente documento, abarca el tratamiento de la enfermedad o afección de interés en un mamífero, preferentemente un ser humano, que padece la enfermedad o afección de interés, e incluye:

- (i) prevenir que la enfermedad o afección aparezca en un mamífero en particular, cuando tal mamífero tenga una predisposición a la afección, pero aún no se haya diagnosticado que la padece;
- 20 (ii) inhibir la enfermedad o afección, es decir, detener su desarrollo;
- (iii) aliviar la enfermedad o afección, es decir, provocar la regresión de la enfermedad o afección o
- (iv) aliviar los síntomas provocados por la enfermedad o afección, es decir, aliviar el dolor sin tratar la enfermedad o afección subyacente.

25 Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto con respecto al tratamiento del cáncer puede reducir la cantidad de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar en cierta medida y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar en cierta medida y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, en cierta medida, el crecimiento tumoral; aumentar el tiempo de supervivencia y/o, en cierta medida, aliviar uno o más de los síntomas asociados al cáncer.
30 En la medida que el fármaco pueda prevenir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, este puede ser citostático y/o citotóxico. Los compuestos de la presente invención son preferentemente citotóxicos. En el caso de terapias contra el cáncer, la eficacia puede ser medida, por ejemplo, a través de la evaluación del transcurso de tiempo hasta la evolución de la enfermedad (TTP, por sus siglas en inglés) y/o la determinación de la tasa de respuesta (RR, por sus siglas en inglés).

35 Una "cantidad eficaz" con respecto a lograr un resultado en particular es una cantidad suficiente para lograr el resultado deseado. Por ejemplo, una "cantidad eficaz" del fármaco, cuando se hace referencia respecto a la eliminación de células cancerosas, hace referencia a una cantidad de fármaco suficiente para producir el efecto de eliminación.

40 Los tumores sólidos contemplados para el tratamiento mediante el uso de los compuestos que se divulgan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a: sarcoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rabdomiomasarcoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de páncreas, cáncer óseo, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de esófago, cáncer de estómago (por ejemplo, cáncer gastrointestinal), cáncer bucal, cáncer nasal, cáncer de garganta, carcinoma de células escamosas (por ejemplo, de pulmón), carcinoma de células basales, adenocarcinoma (por ejemplo, de pulmón), carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de las células renales, hepatoma, carcinoma del ducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer de testículo, cáncer microcítico de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, cáncer no microcítico de pulmón, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma, astrocitoma multiforme, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, cáncer de piel, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma. Los cánceres de origen sanguíneo contemplados para el tratamiento que utiliza los compuestos que se divulgan en el presente documento incluyen, pero no se limitan a: leucemia linfoblástica aguda "ALL", leucemia linfoblástica de linfocitos B aguda, leucemia linfoblástica de linfocitos T aguda, leucemia mieloblástica aguda "AML", leucemia promielocítica aguda "APL", leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia no diferenciada aguda, leucemia mielocítica crónica "CML", leucemia linfocítica crónica "CLL", leucemia de células pilosas y mieloma múltiple. Las leucemias agudas y crónicas contempladas para el tratamiento que utiliza los compuestos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a: leucemias linfoblásticas, mielógenas, linfocíticas y mielocíticas. Los linfomas contemplados para el tratamiento que utilizan los compuestos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a: enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad de cadena pesada y policitemia vera. Otros cánceres contemplados para el tratamiento que utiliza los compuestos que se describen en el presente documento incluyen,

pero no se limitan a: cáncer peritoneal, cáncer hepatocelular, hepatoma, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, cáncer de pene, cáncer anal, cáncer de cuello y cabeza, carcinoma de células renales y carcinoma de células grandes anaplásico agudo carcinoma de células grandes anaplásico cutáneo.

5 Los cánceres, que incluyen, pero no se limitan a, un tumor, una metástasis u otra enfermedad o trastorno caracterizado por crecimiento celular descontrolado o no deseado, pueden tratarse o prevenirse mediante la administración de los compuestos divulgados en el presente documento.

10 En otras realizaciones, se proporciona una cantidad eficaz de un compuesto divulgado en el presente documento para su uso en métodos para el tratamiento o la prevención del cáncer, que incluyen en combinación con un método adicional de tratamiento. En una realización, el método adicional de tratamiento incluye el tratamiento con un agente quimioterapéutico. En una realización, el agente quimioterapéutico es aquel con el cual no se encontró que el tratamiento del cáncer fuera refractario. En otra realización, el agente quimioterapéutico es aquel con el cual se encontró que el tratamiento del cáncer es refractario. El compuesto descrito en el presente documento puede administrarse antes, después o al mismo tiempo que el agente quimioterapéutico.

15 En una realización, el método adicional de tratamiento es terapia de radiación. El compuesto descrito en el presente documento puede administrarse antes, después o en el mismo momento que la radiación.

20 Los compuestos descritos en el presente documento también pueden administrarse a un paciente que haya experimentado o vaya a experimentar cirugía como tratamiento contra el cáncer.

25 En una realización específica, el compuesto descrito en el presente documento se administra de manera conjunta con el agente quimioterapéutico o con la terapia de radiación. En otra realización específica, el agente quimioterapéutico o la terapia de radiación se administran antes o después de la administración del compuesto descrito en el presente documento, en un aspecto, al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes. En aspectos adicionales, varios meses (por ejemplo, hasta tres meses), antes o después de la administración de un compuesto descrito en el presente documento.

30 Puede administrarse un agente quimioterapéutico durante una serie de sesiones. Puede administrarse cualquiera de los agentes quimioterapéuticos enumerados en el presente documento o una combinación de estos u otros conocidos en la técnica. Con respecto a la radiación, puede utilizarse cualquier protocolo de terapia de radiación según el tipo de cáncer a tratar. Por ejemplo, pero de mono no limitante, puede administrarse radiación de rayos x; en particular, puede utilizarse megavoltaje de energía alta (radiación mayor de 1 MeV de energía) para tumores profundos y puede utilizarse haz de electrones y radiación de rayos x por ortovoltaje para cánceres de piel. También pueden administrarse radioisótopos que emiten rayos gamma, tales como isótopos radioactivos de radio, cobalto y otros elementos.

40 Adicionalmente, se proporciona un compuesto descrito en el presente documento para su uso en métodos para tratar el cáncer como alternativa a la quimioterapia o terapia de radiación, allí donde se ha demostrado o se puede demostrar que la quimioterapia o la terapia de radiación son demasiado tóxicas, por ejemplo, producen efectos secundarios inaceptables o insoportables para el sujeto que se encuentra en tratamiento. Adicionalmente, se proporciona un compuesto descrito en el presente documento para su uso en métodos para tratar el cáncer como alternativa a la cirugía, allí donde se ha demostrado o se puede demostrar que la cirugía es inaceptable o insoportable para el sujeto que se encuentra en tratamiento.

50 Los compuestos descritos en el presente documento también pueden utilizarse *in vitro* o *ex vivo*, tal como para el tratamiento de determinados cánceres, que incluyen, pero no se limitan a, leucemias y linfomas, dichos tratamientos que impliquen trasplantes de células madre autólogas. Esto puede implicar un proceso de múltiples etapas en el cual las células madre hematopoyéticas autólogas del animal se cultivan y se purgan de toda célula cancerosa, luego se elimina la población de células de médula ósea restantes del animal mediante la administración de una dosis alta de un compuesto descrito en el presente documento con o sin terapia de radiación de dosis alta que la acompañe y se realiza nuevamente una infusión del injerto de células madre al animal. El cuidado paliativo se proporciona entonces mientras se restaura la función de la médula ósea y el animal se recupera.

55 Los métodos para el tratamiento del cáncer incluyen además la administración a un paciente que lo necesita de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento y otro agente terapéutico que es un agente contra el cáncer. Los agentes contra el cáncer adecuados incluyen, pero no se limitan a, metotrexato, taxol, L-asparaginasa, mercaptopurina, tioguanina, hidroxurea, citarabina, ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosoureas, cisplatino carboplatino, mitomicina, dacarbazina, procarbina, topotecán, mostazas de nitrógeno, citoxán, etopósido, 5-fluorouracilo, BCNU, irinotecán, camptotecinas, bleomicina, doxorubicina, idarrubicina, daunorubicina, actinomicina D, dactinomicina, plicamicina, mitoxantrona, asparaginasa, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, paclitaxel y docetaxel.

65 Otros ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida CYTOXAN®; sulfonatos de alquilo tales como busulfán, treosulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como

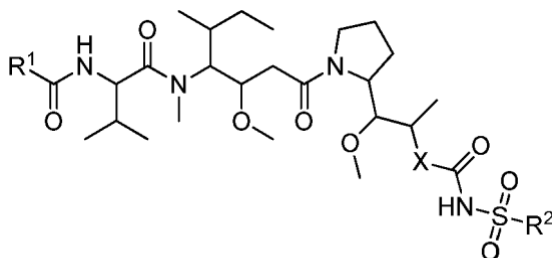
benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; TLK 286 (TELCYTA™); acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); delta-9-tetrahidrocanabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (que incluye el análogo sintético topotecán (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopolectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; calistatina; CC-1065 (que incluye sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; teniposida; criptofcinas (particularmente la criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (que incluye los análogos sintéticos KW-2189 y CB1-TM1); eleuterrobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clomafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida y mostaza de uracilo; triazinas tales como decarbazina; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; epipodofilinas, tales como etopósido, tenipósido, topotecán, 9-aminocamptotecina, camptotecina orcrisnatol; bisfosfonatos, tales como clodronato; antibióticos tales como antibióticos enediina (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma 11 y calicheamicina omega 11 (véase, por ejemplo, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)) y antraciclinas tales como anamicina, AD 32, alcarrubicina, daunorrubicina, dexrazoxano, DX-52-1, epirubicina, GPX-100, idarrubicina, KRN5500, menogaril, dinemicina, que incluye dinemicina A, una esperamicina, neocarzinostatina cromófora y cromóforos antibióticos de cromoproteína enediina relacionados, aclacinomisininas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas (por ejemplo, A2 y B2), cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicininas, dactinomicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina ADRIAMYCIN® (que incluye morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, doxorubicina liposomal y deoxidoxorrubicina), esorrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina y zorrubicina; terapias fotodinámicas, tales como vertoporfina (BPD-MA), ftalocianina, fotosensibilizador Pc4 y demetoxi-hipocrelina A (2BA-2-DMHA); análogos del ácido fólico tales como denopterina, pteropterina y trimetrexato; análogos de dpurina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina y tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, arabinósido de citosina, didesoxiurridina, doxilfluridina, enocitabina y floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitostano y testolactona; antisuiprarrenales tales como aminoglutetimida, mitotano y trilostano; relleno de ácido fólico tal como ácido folínico (leucovorin); aceglatona; agentes antifolato antineoplásicos tales como ALIMTA®, LY231514 Pemetrexed, inhibidores de dihidrofolato reductasa tales como metotrexato y trimetrexato; antimetabolitos tales como 5-fluorouracilo (5-FU) y sus profármacos, tales como UFT, S-1 y capecitabina, floxuridina, doxilfluridina y raltitrexed; y timidilato sintasa e inhibidores de glicinamida ribonucleótido formiltransferasa tales como raltitrexed (TOMUDEX®, TDx); inhibidores de dihidropirimidina deshidrogenasa tales como eniluracil; aldofosfamida glucósido; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziacuona; elformitina; acetato de eliptino; una epotilona; etoglucida; nitrato de galio; hidroxiourea; lentinan; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR.); razoxana; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazonico; triaziacuona; 2,2',2"-triclortrietilamina; tricotecenos (especialmente la toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDÉSIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromán; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides y taxanos, por ejemplo, paclitaxel TAXOL® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™ sin Cremophor, formulaciones de nanopartículas modificadas con albúmina de paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.) y doxetaxel TAXOTERE® (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucil; gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; platino; análogos de platino o análogos a base de platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); alcaloide de la vinca; vinorelbina (NAVELBINE®); velcade; revlimid; talidomida; IMiD3; lovastatina; verapamil; tapsigargina; 1-metil-4-fenilpiridinio; inhibidores del ciclo celular tales como estaurosporina; novantrona; edatrexato; daunomicina; mitoxantrona; aminopterina; xeloda; ibandronato; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); análogos de la vitamina D3, tales como EB 1089, CB 1093 y KH 1060; retinoides tales como ácido retinoico; sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores, tales como CHOP, una forma abreviada para una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona, y FOLFOX, una forma abreviada para una pauta de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovorina.

Agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores tales como antiestrógenos y moduladores del receptor de estrógenos selectivos (SERM), que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno (que incluyen NOLVADEX® tamoxifeno), raloxifeno, megastrol, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, y FARESTON® toremifeno; inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas adrenales, tales como, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol MEGASE®, exemestano AROMASIN®, formestanie, fadrozol, RIVISOR® vorozol, FEMARA® letrozol, y ARIMIDEX® anastrozol; y antiandrógenos tales como flutamida, bicalutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; así como también troxacitabina (un análogo de 1,3-dioxolano nucleósido citosina); oligonucleótidos antisentido, particularmente los que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras, y receptor del factor de crecimiento

epidérmico (EGF-R); vacunas tales como vacunas de terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN®, y vacuna VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; inhibidor de topoisomerasa 1 LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

5 Compuestos novedosos

En el presente documento se divulgan compuestos de fórmula I:



I

10

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterocicilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

15

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

20

R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

25

R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterocicliodiílo;

R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y toialquilo C₁-C₆; y

30

X es -C(O)NHCH(CH₂R³)-, o X está ausente y

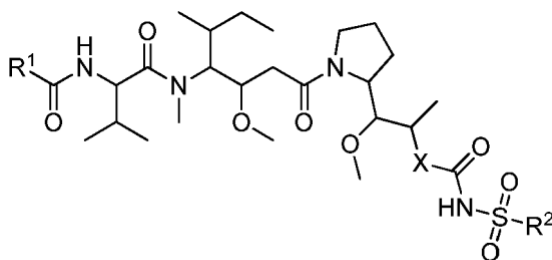
R³ se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C₃-C₇, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo.

35

En algunas realizaciones, cuando R¹ es 2-metil-1-(metilamino)propilo, y X es -C(O)NHCH(CH₂Ph)-, R² no es etilo, isopropilo, n-butilo ni fenilo.

La invención proporciona compuestos de fórmula I:

40



I

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

45

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo

C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterocicilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

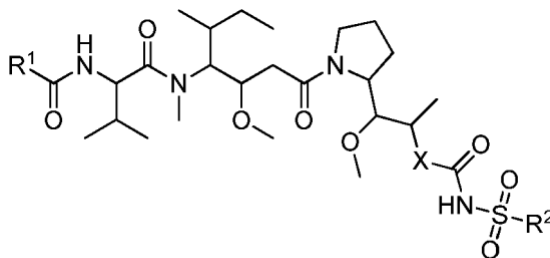
R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidillo;

R² se selecciona de: alquilo C₁-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tialquilo C₁-C₆ y o X está ausente.

Se proporcionan también compuestos de fórmula I:



I

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterocicilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidillo;

R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tialquilo C₁-C₆; y

X está ausente.

La variable R¹

En algunas realizaciones, R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterocicilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio.

En algunas realizaciones, R¹ se selecciona de: amino-alquilo C₁-C₆, amino-arilo, amino-cicloalquilo C₃-C₇, amino-heterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de alquilo C₁-C₆ y halo.

5 En algunas realizaciones, R¹ se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopentilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo y 2-(dimetilamino)propan-2-ilo).

10 En algunas realizaciones, R¹ se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopentilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo, 2-(dimetilamino)propan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)-2-fenilpropilo, 1-isopropilpiperidin-2-ilo, 2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo y 2-metil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo.

15 En algunas realizaciones, R¹ es 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 2-metil-1-(metilamino)propilo.

20 En algunas realizaciones, R¹ es 1-aminociclopentilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 1-aminociclopropilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 4-aminofenilo.

25 En algunas realizaciones, R¹ es 2-aminopropan-2-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 1-aminociclohexilo.

30 En algunas realizaciones, R¹ es 3-aminoxetan-3-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 2-(metilamino)propan-2-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 1-amino-2-metilpropan-2-ilo.

35 En algunas realizaciones, R¹ es 2-metilpirrolidin-2-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 2-amino-3-metilbutan-2-ilo.

40 En algunas realizaciones, R¹ es 2-aminobutan-2-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 1-metilpiperidin-2-ilo.

45 En algunas realizaciones, R¹ es 3-fluoropirrolidin-3-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 2-metil-1-(metilamino)propilo.

50 En algunas realizaciones, R¹ es (*R*)-1-(dimetilamino)-2-metilpropilo.

En algunas realizaciones, R¹ es (*R*)-2-metil-1-(metilamino)propilo.

En algunas realizaciones, R¹ es R^aR^bNCH(R^c)₂.

55 En algunas realizaciones, R¹ es 2-metil-1-(metilamino)-2-fenilpropilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 1-isopropilpiperidin-2-ilo.

60 En algunas realizaciones, R¹ es 2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo.

En algunas realizaciones, R¹ es 2-metil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo.

La variable R^a

65 En algunas realizaciones, R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

En algunas realizaciones, R^b se selecciona de: H, metilo e isopropilo.

En algunas realizaciones, R^c es H.

5 En algunas realizaciones, R^d es metilo.

En algunas realizaciones, R^e es isopropilo.

La variable R^b

10 En algunas realizaciones, R^b es alquilo C₁-C₆.

En algunas realizaciones, R^b es metilo.

15 **La variable R^c**

En algunas realizaciones, R^c es R^d-C(CH₃)₂-.

La variable R^d

20 En algunas realizaciones, R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alqueno C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alqueno C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio.

25 En algunas realizaciones, R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alqueno C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alqueno C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de *p*-tolilo, hidroxilo y tio.

30 En algunas realizaciones, R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: (2-hidroxietil)amino, (2-mercaptoetil)amino, 2-(acetiltio)etoxi, 2-aminoetoxi, 2-hidroxietoxi, 2-mercaptoetoxi, 3-metoxi, 4-metilestirilo, amino, aminometilo, cloro, flúor, hidroxilo, hidroximetilo, metilo, tio, trifluorometilo.

35 En algunas realizaciones, R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: (2-hidroxietil)amino, (2-mercaptoetil)amino, 2-(acetiltio)etoxi, 2-aminoetoxi, 2-hidroxietoxi, 2-mercaptoetoxi, 3-metoxi, 4-metilestirilo, amino, aminometilo, cloro, flúor, hidroxilo, hidroximetilo, metilo, tio y trifluorometilo.

40 En algunas realizaciones, R^d se selecciona de: H, 1*H*-indol-3-ilo, fenilo y tien-2-ilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: (2-hidroxietil)amino, (2-mercaptoetil)amino, 3-((2-mercaptoetil)amino)fenilo, 3-(2-(acetiltio)etoxi)fenilo, 3-(2-hidroxietoxi)fenilo, 3-(2-mercaptoetoxi)fenilo, 3-(4-metilestiril)fenilo, 3-(aminometil)fenilo, 3-(hidroximetil)fenilo, 3-hidroxifenilo, 3,5-difluorofenilo, 3,5-dimetilfenilo, 3-aminofenilo, 3-clorofenilo, 3-mercaptofenilo, 3-metoxifenilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-((2-hidroxietil)amino)fenilo, 4-((2-mercaptoetil)amino)fenilo, 4-(2-(acetiltio)etoxi)fenilo, 4-(2-aminoetoxi)fenilo, 4-(2-hidroxietoxi)fenilo, 4-(2-mercaptoetoxi)fenilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-(hidroximetil)fenilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 4-mercaptofenilo, 4-metoxifenilo, ciclohexilo, tien-2-ilo, *m*-tolilo y fenilo.

45 En algunas realizaciones, R^d se selecciona de: H, 1*H*-indol-3-ilo, 1-metil-1*H*-indol-3-ilo, 2-metoxifenilo, 3-((2-hidroxietil)amino)fenilo, 3-((2-mercaptoetil)amino)fenilo, 3-(2-hidroxietoxi)fenilo, 3-(2-mercaptoetoxi)fenilo, 3,5-difluorofenilo, 3,5-dimetilfenilo, 3-clorofenilo, 3-mercaptofenilo, 3-metoxifenilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-((2-hidroxietil)amino)fenilo, 4-((2-mercaptoetil)amino)fenilo, 4-4-(2-hidroxietoxi)fenilo, 4-(2-mercaptoetoxi)fenilo, 4-mercaptofenilo, 4-metoxifenilo, ciclohexilo, tien-2-ilo, *m*-tolilo y fenilo.

50 En algunas realizaciones, R^d es fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 1-*H*-indol-3-ilo.

60 En algunas realizaciones, R^d es 1-metil-1*H*-indol-3-ilo.

En algunas realizaciones, R^d es 2-metoxifenilo.

65 En algunas realizaciones, R^d es 3-((2-hidroxietil)amino)fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 3-((2-mercaptoetil)amino)fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 3-(2-hidroxietoxi)fenilo.

5 En algunas realizaciones, R^d es 3-(2-mercaptoetoxi)fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 3,5-difluorofenilo.

10 En algunas realizaciones, R^d es 3,5-dimetilfenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 3-clorofenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 3-mercaptofenilo.

15 En algunas realizaciones, R^d es 3-metoxifenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 3-trifluorometilfenilo.

20 En algunas realizaciones, R^d es 4-((2-hidroxietil)amino)fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 4-((2-mercaptoetil)amino)fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 4-4-(2-hidroxietoxi)fenilo.

25 En algunas realizaciones, R^d es 4-(2-mercaptoetoxi)fenilo.

En algunas realizaciones, R^d es 4-mercaptofenilo.

30 En algunas realizaciones, R^d es 4-metoxifenilo.

En algunas realizaciones, R^d es ciclohexilo.

En algunas realizaciones, R^d es tien-2-ilo.

35 En algunas realizaciones, R^d es *m*-tolilo.

La variable R²

40 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆.

45 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, amino, aminometilo, bromo, *terc*-butilo, carboxamida, carboxilo, cloro, ciano, etilo, flúor, hidroxilo, isopropilo, metoxi, metilo, nitro, fenilo, tio, tiometilo, trifluorometoxi y trifluorometilo.

50 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: 5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, bencilo, ciclohexilo, etilo, hexan-2-ilo, metilo, naftalen-2-ilo, piperidin-1-ilo, fenilo, propilo, piridin-3-ilo y tien-2-ilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, amino, aminometilo, bromo, *terc*-butilo, carboxamida, carboxilo, cloro, ciano, etilo, flúor, hidroxilo, isopropilo, metoxi, metilo, nitro, fenilo, tio, tiometilo, trifluorometoxi y trifluorometilo.

55 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: 5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, bencilo, ciclohexilo, etilo, hexan-2-ilo, naftalen-2-ilo, piperidin-1-ilo, fenilo, propilo, piridin-3-ilo y tien-2-ilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, amino, aminometilo, bromo, *terc*-butilo, carboxamida, carboxilo, cloro, ciano, etilo, flúor, hidroxilo, isopropilo, metoxi, metilo, nitro, fenilo, tio, tiometilo, trifluorometoxi y trifluorometilo.

60 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*terc*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo,

65

5 naftalen-2-ilo, 4-metoxicarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*terc*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxicarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo.

10 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*terc*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxicarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, 15 piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*terc*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxicarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y 4-(metoxicarbonil)fenilo.

20 En algunas realizaciones, en donde R² se selecciona de: arilo y aril-alquilo C₁-C₆, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: amino y amino-alquilo C₁-C₆.

25 En algunas realizaciones, R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo y bencilo.

30 En algunas realizaciones, R² es 4-aminobencilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-(aminometil)bencilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-(aminometil)fenilo.

35 En algunas realizaciones, R² es 4-aminofenilo.

En algunas realizaciones, R² es bencilo.

40 En algunas realizaciones, R² es 3-mercaptopropilo.

En algunas realizaciones, R² es 2-mercaptoetilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-(mercaptometil)fenilo.

45 En algunas realizaciones, R² es *p*-tolilo.

En algunas realizaciones, R² es 2,4,6-trimetilfenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-(trifluorometoxi)fenilo.

50 En algunas realizaciones, R² es 2,4,6-triisopropilfenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-*terc*-butilfenilo.

55 En algunas realizaciones, R² es 4-clorofenilo.

En algunas realizaciones, R² es 3-cianofenilo.

En algunas realizaciones, R² es 2-nitrofenilo.

60 En algunas realizaciones, R² es 4-metoxi-2-nitrofenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo.

65 En algunas realizaciones, R² es 4-metoxifenilo.

- En algunas realizaciones, R² es fenilo.
- En algunas realizaciones, R² es 2-fluorobencilo.
- 5 En algunas realizaciones, R² es piperidin-1-ilo.
- En algunas realizaciones, R² es *o*-tolilo.
- 10 En algunas realizaciones, R² es 4-bromofenilo.
- En algunas realizaciones, R² es naftalen-2-ilo.
- En algunas realizaciones, R² es 4-metoxicarbonilfenilo.
- 15 En algunas realizaciones, R² es -(trifluorometil)bencilo.
- En algunas realizaciones, R² es hexan-2-ilo.
- 20 En algunas realizaciones, R² es 2-metoxietilo.
- En algunas realizaciones, R² es ciclopentilmetilo.
- En algunas realizaciones, R² es ciclohexilo.
- 25 En algunas realizaciones, R² es piridin-3-ilmetilo.
- En algunas realizaciones, R² es 4-carboxifenilo.
- 30 En algunas realizaciones, R² es 3-aminofenilo.
- En algunas realizaciones, R² es piridin-3-ilo.
- En algunas realizaciones, R² es tien-2-ilo.
- 35 En algunas realizaciones, R² es 4-hidroxifenilo.
- En algunas realizaciones, R² es 4-(1-aminociclopropil)bencilo.
- 40 En algunas realizaciones, R² es 4-(1-aminociclopropil)fenilo.
- En algunas realizaciones, R² es 2-metilbencilo.
- En algunas realizaciones, R² es 4-nitrobencilo.
- 45 En algunas realizaciones, R² es 4-clorobencilo.
- En algunas realizaciones, R² es feniletilo.
- 50 En algunas realizaciones, R² es 4-bromobencilo.
- En algunas realizaciones, R² es 4-cianobencilo.
- En algunas realizaciones, R² es 3-nitrobencilo.
- 55 En algunas realizaciones, R² es 4-*terc*-butilbencilo.
- En algunas realizaciones, R² es 2-nitrobencilo.
- 60 En algunas realizaciones, R² es -nitrofenetilo.
- En algunas realizaciones, R² es 2-cloro-3-metoxicarbonilfenilo.
- En algunas realizaciones, R² es 2-aminofenilo.
- 65 En algunas realizaciones, R² es [1,1'-bifenil]-4-ilo.

En algunas realizaciones, R² es 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-fluorobencilo.

5 En algunas realizaciones, R² es 3-(trifluorometil)bencilo.

En algunas realizaciones, R² es 3-(trifluorometoxi)bencilo.

10 En algunas realizaciones, R² es 3,4-diclorobencilo.

En algunas realizaciones, R² es 2-cianobencilo.

En algunas realizaciones, R² es 3-clorobencilo.

15 En algunas realizaciones, R² es 4-amino-2-etilfenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo.

20 En algunas realizaciones, R² es 4-amino-2,3-dimetilfenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-amino-3-metilfenilo.

25 En algunas realizaciones, R² es 4-amino-3-fluorofenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-amino-3-etilfenilo.

30 En algunas realizaciones, R² es 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo.

En algunas realizaciones, R² es 4-(metoxicarbonil)fenilo.

La variable R³

35 En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C₃-C₇, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo.

40 En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo.

En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ es 1*H*-indol-3-ilo.

En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ es 4-aminofenilo.

45 En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ es 4-hidroxifenilo.

En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ es 5-hidroxipiridin-2-ilo.

50 En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ es ciclohexilo.

En algunos compuestos divulgados en el presente documento, R³ es fenilo.

La variable R⁴

55 En algunas realizaciones, R⁴ se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆.

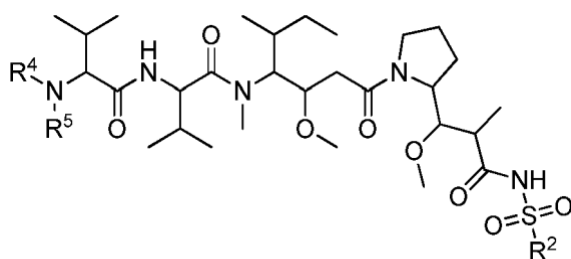
En algunas realizaciones, R⁴ es H.

60 En algunas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁-C₆.

En algunas realizaciones, R⁴ es metilo.

La variable R⁵

65 En algunas realizaciones, R⁵ se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆.



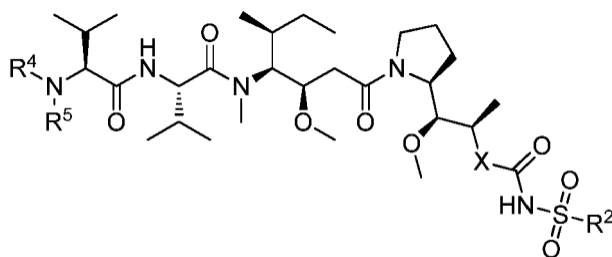
Ia

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 5 **R²** se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxicarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxicarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo, y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y
- 10 **R⁴** y **R⁵** se seleccionan cada uno independientemente de: H y metilo.

Se divulgan también compuestos de fórmula Ic:

20

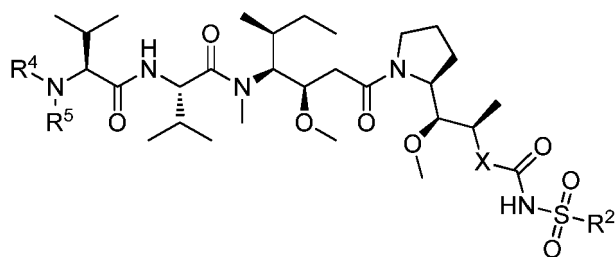


Ic

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 25 **R²** se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇, alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆ y
- 30 X es -C(O)NHCH(CH₂R³)- o X está ausente y
- R³** se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C₃-C₇, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo y
- R⁴** y **R⁵** se seleccionan cada uno independientemente de: H y alquilo C₁-C₆.

35 Se divulgan también compuestos de fórmula Ic:

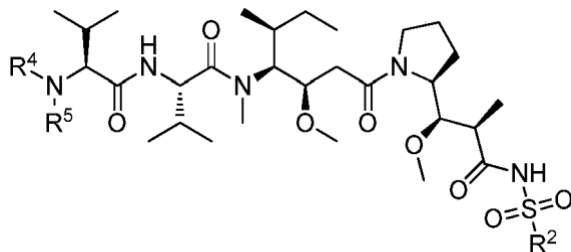


Ic

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, en donde:

- 5 **R²** se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-
 mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo,
 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-
 10 aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-
 2-ilo, 4-metoxycarbonilfenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo,
 piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-
 15 aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-
 bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-
 metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-
 (trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-
 20 etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-
 amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y
 X es -C(O)NHCH(CH₂R³)- o X está ausente y
R³ se selecciona de: 1-*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo y
R⁴ y **R⁵** se seleccionan cada uno independientemente de: H y metilo.

Se proporcionan también compuestos de fórmula Id:

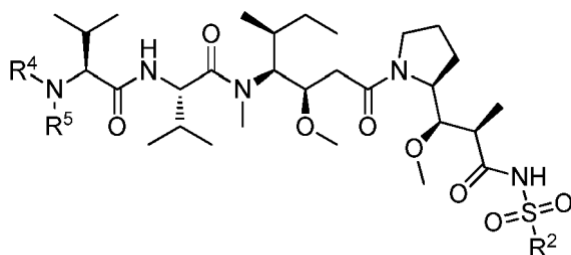


Id

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 25 **R²** se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆,
 heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más
 30 sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino,
 aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆,
 haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆; y
R⁴ y **R⁵** se seleccionan cada uno independientemente de: H y alquilo C₁-C₆.

- 35 Se divulgan también compuestos de fórmula Id:

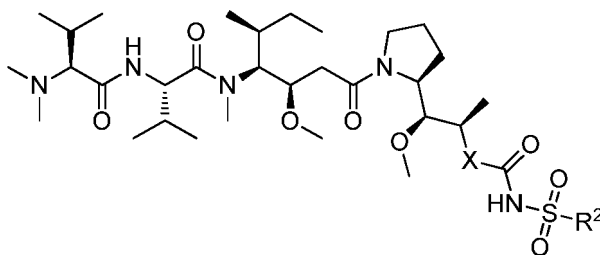


Id

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 5 R^2 se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxicarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxicarbonifenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y
- 10 R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente de: H y metilo.

- 20 Se divulgan también compuestos de fórmula If:

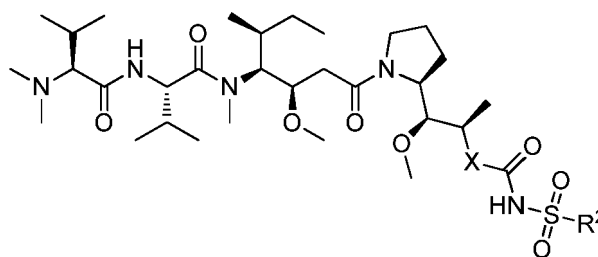


If

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 25 R^2 se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tionalquilo C₁-C₆; y
- 30 X es -C(O)NHCH(CH₂R³)-, o X está ausente; y
- R^3 se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C₃-C₇, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo.

- 35 Se divulgan también compuestos de fórmula If:



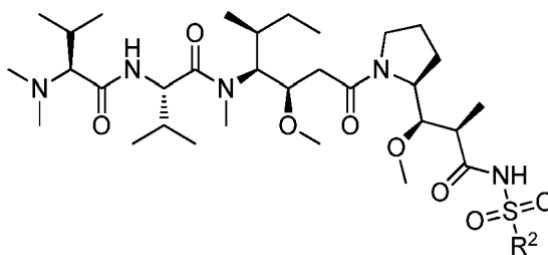
If

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 5 R^2 se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo y X es $-C(O)NHCH(CH_2R^3)-$, o X está ausente y R^3 se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo.

Se proporcionan también compuestos de fórmula Ig:

10

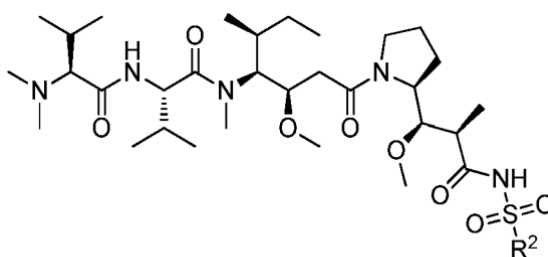


Ig

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 15 R^2 se selecciona de: alquilo C_2-C_6 , arilo, arilalquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_4-C_7 , cicloalquil C_3-C_7 -alquilo C_1-C_6 , heteroarilo, heteroarilalquilo C_1-C_6 y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C_1-C_6 , alcoxicarbonilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , alquilamino C_1-C_6 , amino, aminoalquilo C_1-C_6 , aminoarilo, aminocicloalquilo C_3-C_7 , arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C_1-C_6 , haloalcoxi C_1-C_6 , halo, hidroxilo, nitro, tio y tionalquilo C_1-C_6 .

20 Se proporcionan también compuestos de fórmula Ig:

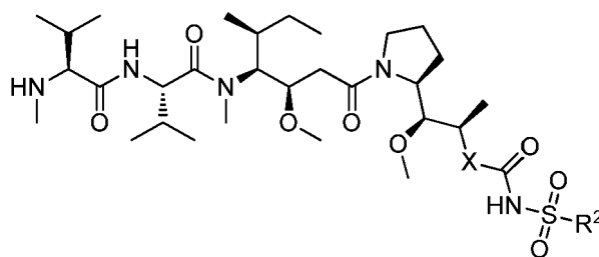


Ig

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 25 R^2 se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo.

Se divulgan también compuestos de fórmula li:



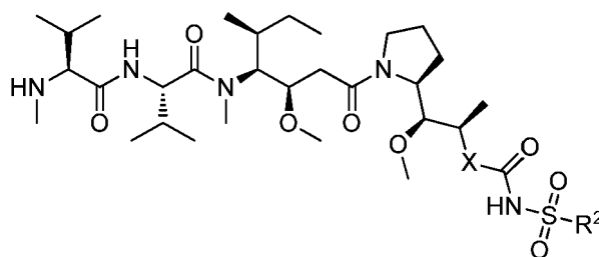
ii

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 5 **R²** se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇ -alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆;
- 10 X es -C(O)NHCH(CH₂R³)- o X está ausente y
R³ se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C₃-C₇, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo.

También se divulgan compuestos de fórmula li:

15

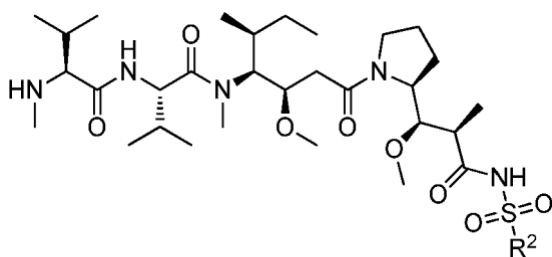


li

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 20 **R²** se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxycarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo;
- 25 X es -C(O)NHCH(CH₂R³)-, o X está ausente y
R³ se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo.

- 35 Se proporcionan también compuestos de fórmula lj:

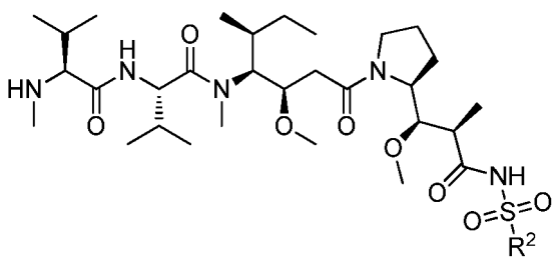


Ij

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tionalquilo C₁-C₆.

Se proporcionan también compuestos de fórmula Ij:



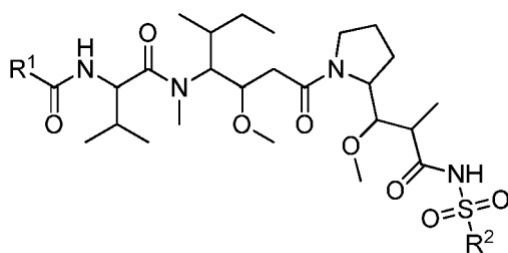
Ij

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos,

en donde:

R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxycarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo.

Se divulgan también compuestos de fórmula Im:



Im

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterociclilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

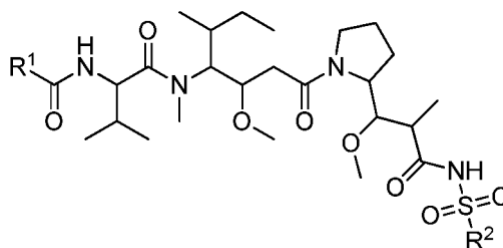
R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquiloxi C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquiloxi C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidio;

R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆.

Se divulgan también compuestos de fórmula Im:



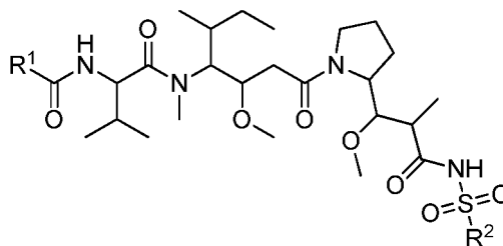
Im

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R¹ se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopentilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo y 2-(dimetilamino)propan-2-ilo y

R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxycarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 2-metilfenilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo.

Se proporcionan también compuestos de fórmula Im:



Im

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterociclilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

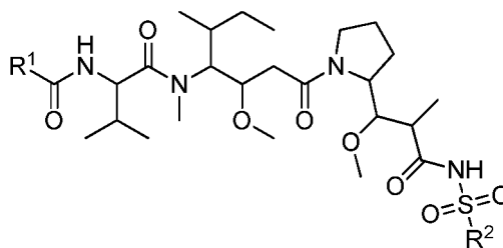
R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidilo;

R² se selecciona de: alquilo C₁-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆.

Se divulgan también compuestos de fórmula Im:



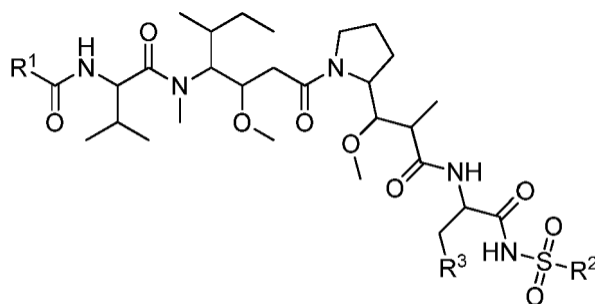
Im

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R¹ se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopentilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo, 2-(dimetilamino)propan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)-2-fenilpropilo, 1-isopropilpiperidin-2-ilo, 2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo y 2-metil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo; y

R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 3-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxycarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y 4-(metoxycarbonil)fenilo.

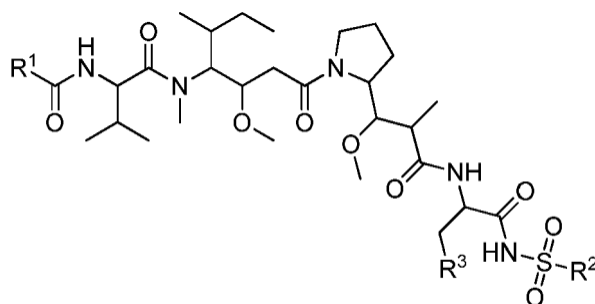
Se divulgan también compuestos de fórmula In:

**In**

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 5 R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterociclilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o
 R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;
 10 R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;
 R^b es alquilo C₁-C₆ y
 R^c es R^d-C(CH₃)₂- y
 R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alqueno C₂-C₄, alquilo C₁-C₄,
 15 alquilamino C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alqueno C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o
 R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterocicliildiilo;
 20 R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tionalquilo C₁-C₆ y
 25 R³ se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C₃-C₇, cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo;
 siempre que cuando R¹ es 2-metil-1-(metilamino)propilo, y R³ es fenilo, R² no es etilo, isopropilo, n-butilo ni fenilo.

También se divulgan compuestos de fórmula In:

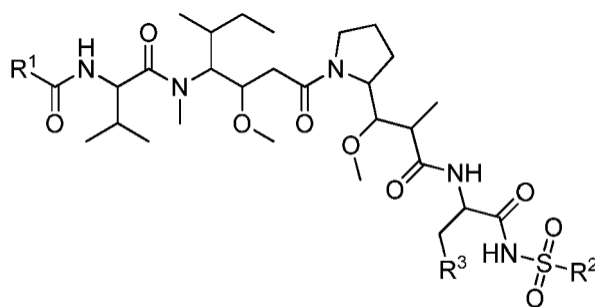
**In**

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

- 35 R¹ se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo y 2-(dimetilamino)propan-2-ilo y
 40 R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-

2-ilo, 4-metoxycarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo y 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y R^3 se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo; siempre que cuando R^1 es 2-metil-1-(metilamino)propilo y R^3 es fenilo, R^2 no es etilo, isopropilo, n-butilo ni fenilo.

También se divulgan compuestos de fórmula In:



In

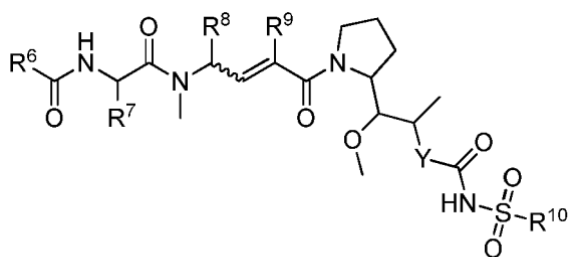
15 y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R^1 se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopropilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo, 2-(dimetilamino)propan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)-2-fenilpropilo, 1-isopropilpiperidin-2-ilo, 2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo y 2-metil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo y

R^2 se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*tert*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxycarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*tert*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxycarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y 4-(metoxycarbonil)fenilo y

R^3 se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo; siempre que cuando R^1 es 2-metil-1-(metilamino)propilo, y R^3 es fenilo, R^2 no es etilo, isopropilo, n-butilo ni fenilo.

También se divulgan compuestos de fórmula VI:



VI

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R^6 se selecciona de: aminoalquilo C_1-C_6 , amino-arilo, aminocicloalquilo C_3-C_7 , aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , alquiltio C_1-C_6 , carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C_3-C_7 , cicloalquil C_3-C_7 alquilo C_1-C_6 , guanidino, halo, haloalquilo C_1-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , heterociclilo, heterocicllalquilo C_1-C_6 , hidroxilo y tio o

R^6 es $R^e R^f NCH(R^g)-$;

R^e se selecciona de: H y alquilo C_1-C_6 ;

R^f es alquilo C_1-C_6 y

R^g es $R^h-C(CH_3)_2-$ y

R^h se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C_3-C_7 y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C_1-C_4 , alqueno C_2-C_4 , alquilo C_1-C_4 , alquilamino C_1-C_4 , alquilo C_1-C_4 , amino, aminoalquilo C_1-C_4 , halo, haloalquilo C_1-C_4 , hidroxilo, hidroxialquilo C_1-C_4 y tio, en donde alqueno C_2-C_4 , alquilamino C_1-C_4 y alquilo C_1-C_4 están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C_1-C_4 , hidroxilo y tio o

R^e y R^f , tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidifilo;

R^7 es alquilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido con alquiltio C_1-C_6 ;

R^8 es alquilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido con alquiltio C_1-C_6 ;

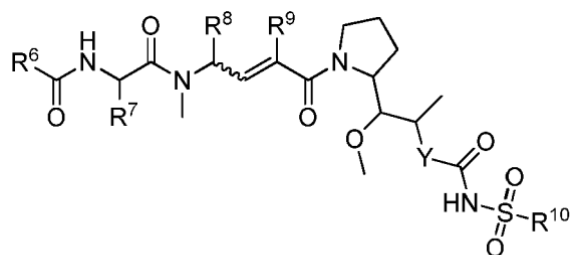
R^9 se selecciona de: H y alquilo C_1-C_3 ;

R^{10} se selecciona de: alquilo C_1-C_6 , arilo, arilalquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , cicloalquil C_3-C_7 -alquilo C_1-C_6 , heteroarilo, heteroarilalquilo C_1-C_6 y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C_1-C_6 , alcoxicarbonilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , alquilamino C_1-C_6 , amino, aminoalquilo C_1-C_6 , aminoarilo, aminocicloalquilo C_3-C_7 , arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C_1-C_6 , haloalcoxi C_1-C_6 , halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C_1-C_6 ;

Y es $-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-$ o Y está ausente y

R^{11} se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C_3-C_7 , cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo.

Se divulgan también compuestos de fórmula VI:



VI

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

R^6 se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopentilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-dimetilpirrolidin-2-ilo, 2-(dimetilamino)propan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)-2-fenilpropilo, 1-isopropilpiperidin-2-ilo, 2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo y 2-metil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo;

R^7 se selecciona de: isopropilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo y 2-(metiltio)etilo;

R^8 se selecciona de: isopropilo, isobutilo, sec-butilo y 2-(metiltio)etilo;

R^9 se selecciona de: metilo, etilo y n-propilo;

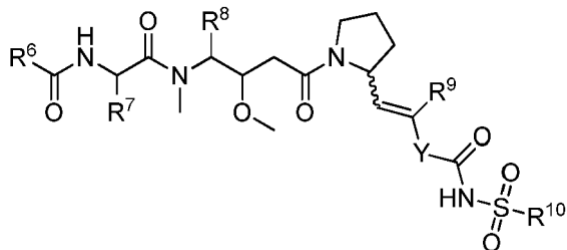
R^{10} se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*terc*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxicarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*terc*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxicarbonilfenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y 4-(metoxicarbonil)fenilo;

Y es $-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-$ o Y está ausente y

R^{11} se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo.

También se divulgan compuestos de fórmula VII:

5



VII

y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

10 R^6 se selecciona de: aminoalquilo C_1-C_6 , amino-arilo, aminocicloalquilo C_3-C_7 , aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , alquiltio C_1-C_6 , carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C_3-C_7 , cicloalquil C_3-C_7 alquilo C_1-C_6 , guanidino, halo, haloalquilo C_1-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , heterociclilo, heterocicilalquilo C_1-C_6 , hidroxilo y tio o

R^6 es $R^eR^fNCH(R^9)-$;

15 R^e se selecciona de: H y alquilo C_1-C_6 ;

R^f es alquilo C_1-C_6 y

R^9 es $R^h-C(CH_3)_2-$ y

20 R^h se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C_3-C_7 y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C_1-C_4 , alqueno C_2-C_4 , alquilo C_1-C_4 , alquilamino C_1-C_4 , alquilo C_1-C_4 , amino, aminoalquilo C_1-C_4 , halo, haloalquilo C_1-C_4 , hidroxilo, hidroxialquilo C_1-C_4 y tio, en donde alqueno C_2-C_4 , alquilamino C_1-C_4 y alquilo C_1-C_4 están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C_1-C_4 , hidroxilo y tio o

R^e y R^f , tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidio;

R^7 es alquilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido con alquiltio C_1-C_6 ;

25 R^8 es alquilo C_2-C_4 opcionalmente sustituido con alquiltio C_1-C_6 ;

R^9 se selecciona de: H y alquilo C_1-C_3 ;

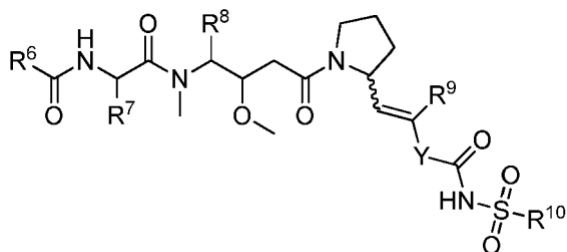
30 R^{10} se selecciona de: alquilo C_1-C_6 , arilo, arilalquilo C_1-C_6 , cicloalquilo C_3-C_7 , cicloalquil C_3-C_7 , alquilo C_1-C_6 , heteroarilo, heteroarilalquilo C_1-C_6 y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C_1-C_6 , alcoxicarbonilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 , alquilamino C_1-C_6 , amino, aminoalquilo C_1-C_6 , aminoarilo, aminocicloalquilo C_3-C_7 , arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C_1-C_6 , haloalcoxi C_1-C_6 , halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C_1-C_6 ;

Y es $-C(O)NHCH(CH_2R^{11})-$ o Y está ausente y

R^{11} se selecciona de: arilo, heteroarilo y cicloalquilo C_3-C_7 , cada uno opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de amino e hidroxilo.

35

Se divulgan también compuestos de fórmula VII:



VII

40 y sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde:

45 R^6 se selecciona de: 1-(dimetilamino)-2-metilpropilo, 2-metil-1-(metilamino)propilo, 1-aminociclopentilo, 1-aminociclopropilo, 4-aminofenilo, 2-aminopropan-2-ilo, 1-aminociclohexilo, 3-aminoxetan-3-ilo, 2-(metilamino)propan-2-ilo, 1-amino-2-metilpropan-2-ilo, 2-metilpirrolidin-2-ilo, 2-amino-3-metilbutan-2-ilo, 2-aminobutan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)propan-2-ilo, 1-metilpiperidin-2-ilo, 3-fluoropirrolidin-3-ilo, 1,2-

dimetilpirrolidin-2-ilo, 2-(dimetilamino)propan-2-ilo, 2-metil-1-(metilamino)-2-fenilpropilo, 1-isopropilpiperidin-2-ilo, 2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo y 2-metil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-3-ilo;

R⁷ se selecciona de: isopropilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo y 2-(metiltio)etilo;

R⁸ se selecciona de: isopropilo, isobutilo, sec-butilo y 2-(metiltio)etilo;

R⁹ se selecciona de: metilo, etilo y n-propilo;

R¹⁰ se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo, bencilo, 3-mercaptopropilo, 2-mercaptoetilo, 4-(mercaptometil)fenilo, *p*-tolilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 4-(trifluorometoxi)fenilo, 2,4,6-triisopropilfenilo, 4-*terc*-butilfenilo, 4-clorofenilo, 3-cianofenilo, 2-nitrofenilo, 4-metoxi-2-nitrofenilo, 4-aminocarbonil-2-nitrofenilo, 4-metoxifenilo, fenilo, 2-fluorobencilo, piperidin-1-ilo, *o*-tolilo, 4-bromofenilo, naftalen-2-ilo, 4-metoxicarbonifenilo, 2-(trifluorometil)bencilo, hexan-2-ilo, 2-metoxietilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, piridin-3-ilmetilo, 4-carboxifenilo, 3-aminofenilo, piridin-3-ilo, tien-2-ilo, 4-hidroxifenilo, 4-(1-aminociclopropil)bencilo, 4-(1-aminociclopropil)fenilo, 2-metilbencilo, 4-nitrobencilo, 4-clorobencilo, fenetilo, 4-bromobencilo, 4-cianobencilo, 3-nitrobencilo, 4-*terc*-butilbencilo, 2-nitrobencilo, 4-nitrofenetilo, 2-cloro-3-metoxicarbonifenilo, 2-aminofenilo, [1,1'-bifenil]-4-ilo, 4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-ilo, 4-fluorobencilo, 3-(trifluorometil)bencilo, 3-(trifluorometoxi)bencilo, 3,4-diclorobencilo, 2-cianobencilo, 3-clorobencilo, 4-amino-2-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometoxi)fenilo, 4-amino-2,3-dimetilfenilo, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 4-amino-3-metilfenilo, 4-amino-3-fluorofenilo, 4-amino-3-etilfenilo, 4-amino-3-(trifluorometil)fenilo y 4-(metoxicarbonil)fenilo;

Y es -C(O)NHCH(CH₂R¹¹)- o Y está ausente y

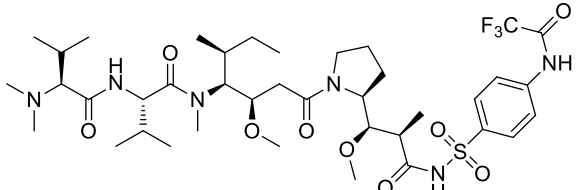
R¹¹ se selecciona de: 1*H*-indol-3-ilo, 4-aminofenilo, 4-hidroxifenilo, 5-hidroxipiridin-2-ilo, ciclohexilo y fenilo.

La presente divulgación incluye todas las combinaciones de uno o más compuestos seleccionados del siguiente grupo que se muestra en la Tabla A.

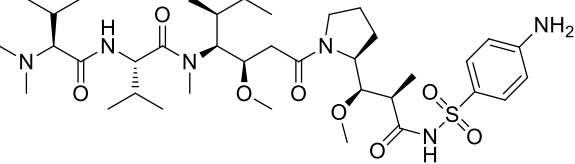
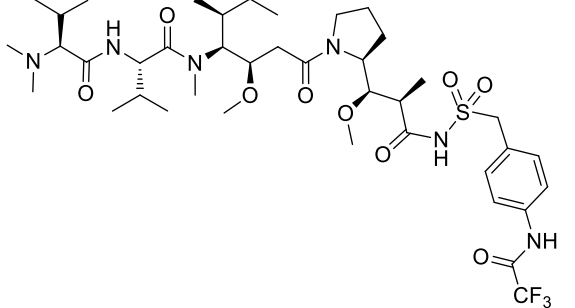
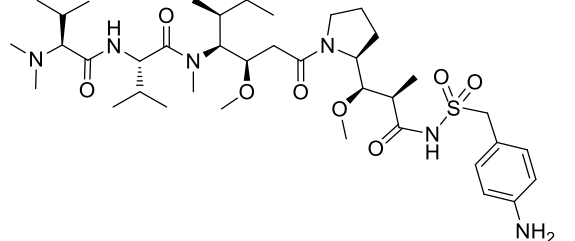
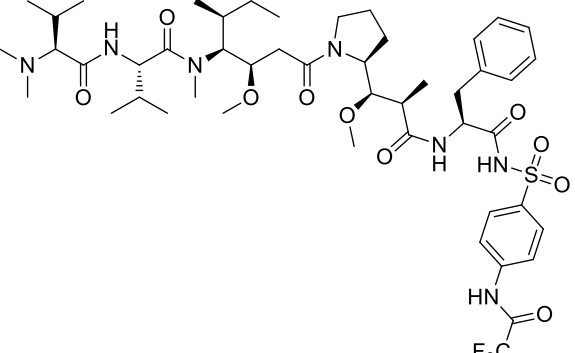
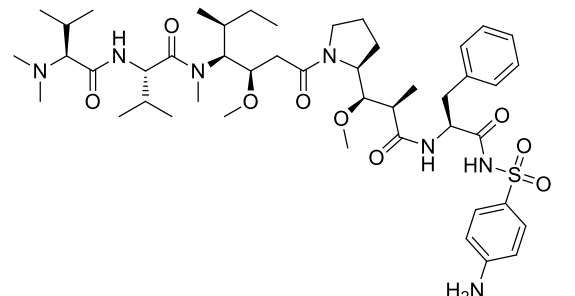
La presente divulgación incluye todas las combinaciones de uno o más compuestos seleccionados del siguiente grupo que se muestra en la Tabla B.

La presente divulgación incluye todas las combinaciones de uno o más compuestos seleccionados del siguiente grupo que se muestra en la Tabla C.

Tabla A

Estructura química	Nombre químico
	<p>(<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-<i>N</i>-((3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)-3-metoxi-1-((<i>S</i>)-2-((1<i>R</i>,2<i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-<i>N</i>,3-dimetilbutanamida (Compuesto 4)</p>

(continuación)

Estructura química	Nombre químico
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-aminofenilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 5)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)metilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 7)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-aminofenil)metilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 8)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 10)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-aminofenilsulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 11)</p>

(continuación)

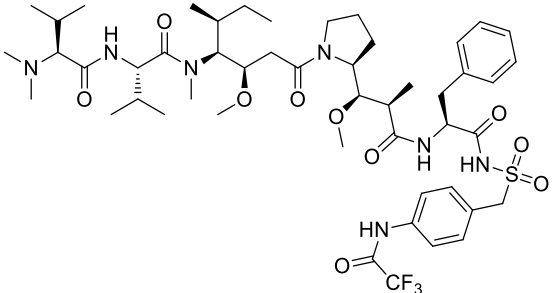
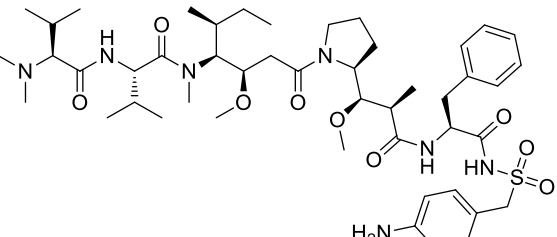
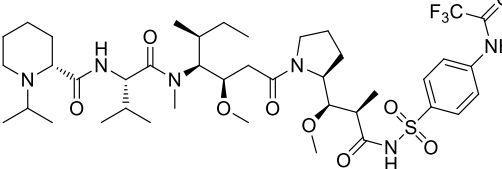
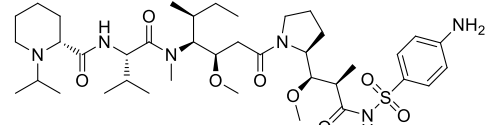
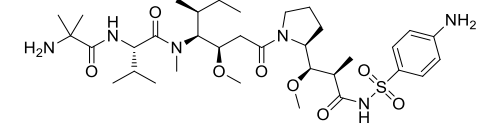
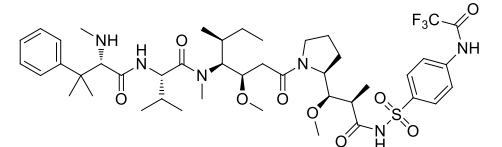
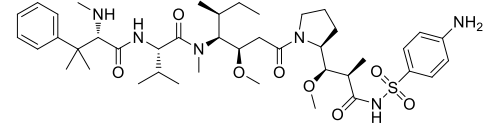
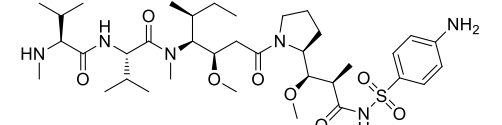
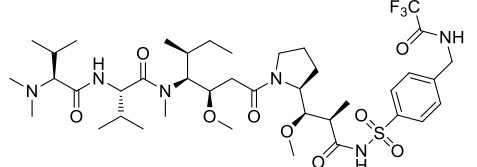
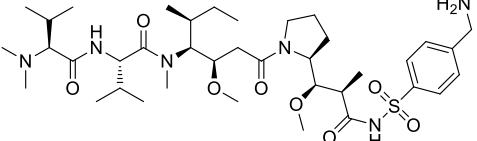
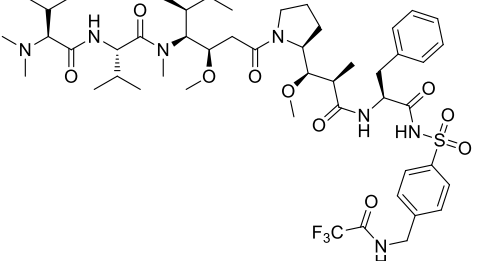
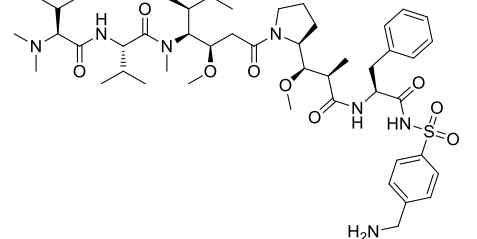
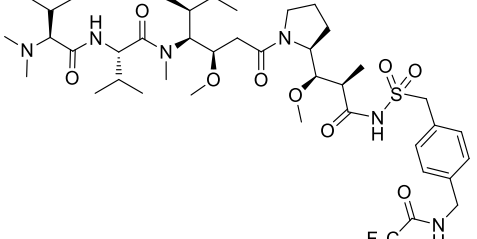
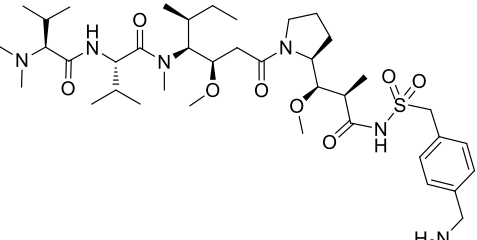
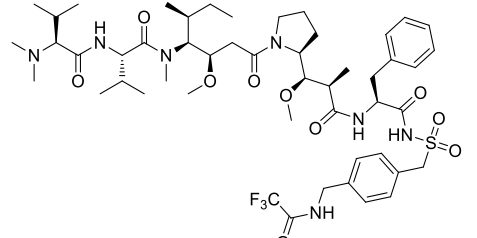
Estructura química	Nombre químico
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilmetilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 13)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-aminofenilmetilsulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 14)</p>

Tabla B

Estructura química	Nombre químico
	<p>(R)-1-isopropil-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)piperidin-2-carboxamida (Compuesto 15)</p>
	<p>(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamida (Compuesto 16)</p>
	<p>(S)-2-(2-amino-2-metilpropanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 17)</p>
	<p>(1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)carbamato de <i>terc</i>-butilo (Compuesto 18)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)-3-fenilbutanamido)butanamida (Compuesto 19)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)butanamido)butanamida (Compuesto 20)</p>

(continuación)

Estructura química	Nombre químico
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 21)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(aminometil)fenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 22)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propan-2-il)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 23)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-((4-(aminometil)fenil)sulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 24)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 25)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(aminometil)fenil)metil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 26)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propan-2-il)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 27)</p>

(continuación)

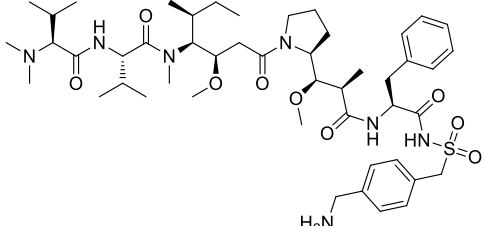
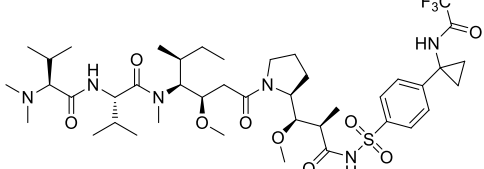
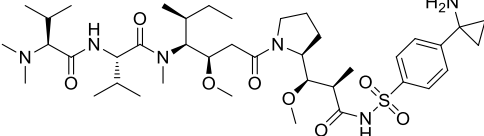
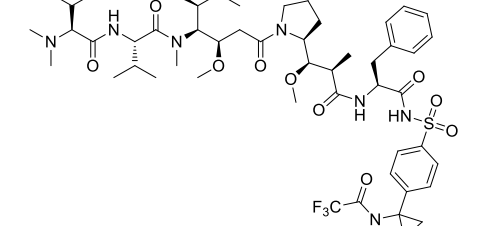
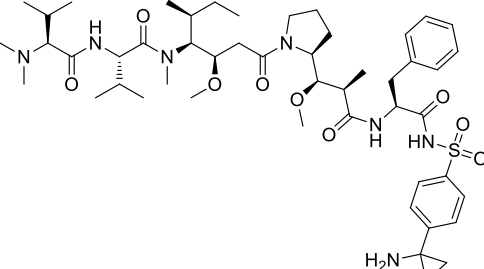
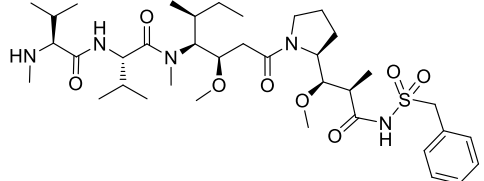
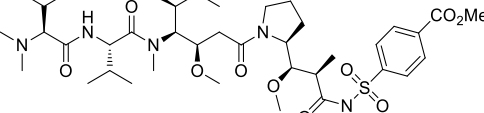
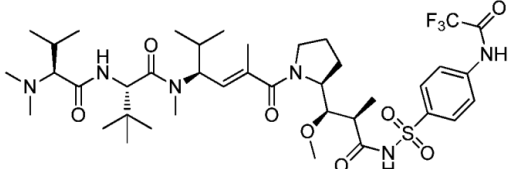
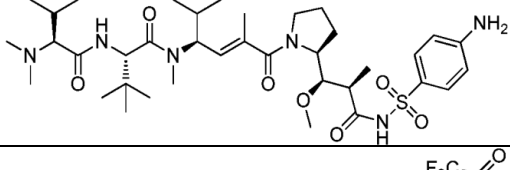
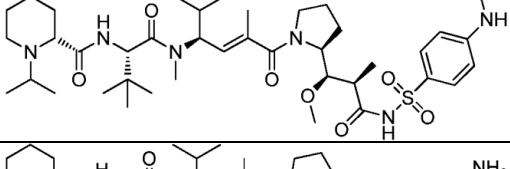
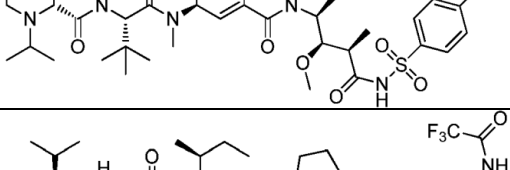
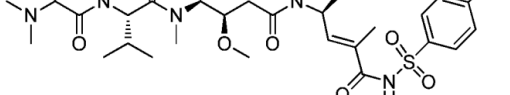
Estructura química	Nombre químico
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-((4-(aminometil)fenil)metil) sulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 28)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 29)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-(1-aminociclopropil)fenilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 30)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 31)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-(1-aminociclopropil)fenilsulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 32)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((fenilmetil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)butanamido)butanamida (Compuesto 33)</p>
	<p>4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)benzoato de metilo (Compuesto 34).</p>

Tabla C

Estructura química	Nombre químico
	(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)-N,3,3-trimetilbutanamida (Compuesto 35)
	(S)-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3,3-trimetilbutanamida (Compuesto 36)
	(S)-1-isopropil-N-((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)(metil)amino)-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il)piperidin-2-carboxamida (Compuesto 37)
	(S)-N-((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)(metil)amino)-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamida (Compuesto 38)
	(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-1-((S)-2-((E)-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)prop-1-en-1-il)pirrolidin-1-il)-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 39)

De manera adicional, los compuestos individuales y géneros químicos de la presente invención, por ejemplo, los compuestos que se encuentran en la Tabla A, Tabla B y Tabla C, que incluyen diastereómeros y enantiómeros de estos, comprenden todas las sales farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de fórmula I pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos relevantes publicados en la bibliografía que son utilizados por un experto en la técnica. Los reactivos y procedimientos a modo de ejemplo para estas reacciones aparecen más adelante en los ejemplos de trabajo. También se divulga en el presente documento un método para elaborar un compuesto descrito en el presente documento.

Conjugados que comprenden los compuestos novedosos

Los compuestos descritos en el presente documento pueden utilizarse para formar conjugados, por ejemplo, conjugados de fármaco y anticuerpo (ADC). Por consiguiente, en una realización de la presente divulgación, se proporcionan composiciones conjugadas de fórmula II



en donde (T) es un resto de direccionamiento, (L) es un enlazador opcional y (D) es un compuesto de fórmula I. En una realización, (T) es un anticuerpo. Por consiguiente, en una realización, los conjugados de fármaco y anticuerpo (ADC) comprenden compuestos (D) de fórmula I.

Tal como observará el experto en la técnica, hay disponible una amplia variedad de medios para enlazar de manera covalente (T)-(L)-(D). Se puede utilizar cualquier método conocido para enlazar los componentes del conjugado. Se puede utilizar cualquier tecnología enlazadora para enlazar (T) con (D). Además, (T), (L) y (D) se pueden modificar de cualquier manera adecuada, tal como lo reconocerá el experto en la técnica, con el fin de facilitar la formación del conjugado.

Resto de direccionamiento (T)

El resto de direccionamiento (T) de las presentes composiciones incluye dentro de su alcance cualquier unidad de un (T) que se una o se asocie de forma reactiva o forme complejo con un receptor, antígeno u otro resto receptivo asociado a una población celular objetivo dada. (T) es una molécula que se une, forma complejos o reacciona con un resto de una población celular que se busca que sea objetivo. En un aspecto, (T) actúa para liberar el fármaco

(D) a la población celular objetivo particular con la cual reacciona (T). Dichos (T) incluyen, pero no se limitan a, proteínas de gran peso molecular tales como, por ejemplo, anticuerpos de longitud total, fragmentos de anticuerpos, proteínas, polipéptidos o péptidos de peso molecular más pequeño, lectinas, glucoproteínas, no péptidos, vitaminas, moléculas de transporte de nutrientes (tales como, pero no limitadas a, transferrina) o cualquier otra molécula o sustancia de unión celular.

(T) puede formar un enlace con una unidad enlazadora (L) o un fármaco (D). (T) puede formar un enlace con una unidad (L) mediante un heteroátomo de (T). Los heteroátomos que pueden encontrarse presentes en (T) incluyen azufre (en una realización, de un grupo sulfhidrilo de (T)), oxígeno (en una realización, de un grupo carbonilo, carboxilo o hidroxilo de (T)) y nitrógeno (en una realización, de un grupo amino primario o secundario de (T)). Estos heteroátomos pueden encontrarse presentes en (T) en el estado natural de (T), por ejemplo, un anticuerpo de origen natural, o pueden introducirse en (T), por ejemplo, mediante una modificación química.

En una realización, (T) tiene un grupo sulfhidrilo y (T) se une a (L) mediante el átomo de azufre del grupo sulfhidrilo. En otra realización, (T) tiene uno o más residuos de lisina que pueden modificarse de forma química para introducir uno o más grupos sulfhidrilo. (T) se une a la unidad (L) mediante el grupo sulfhidrilo. Los reactivos que pueden utilizarse para modificar las lisinas incluyen, pero no se limitan a, S-acetiltioacetato (SATA) de N-succinimidilo y clorhidrato de 2-iminotiolano (reactivo de Traut).

En otra realización, (L) puede tener uno o más grupos carbohidrato que pueden modificarse químicamente para tener uno o más grupos sulfhidrilo. (T) se une a (L) mediante el átomo de azufre del grupo sulfhidrilo. En otra realización, (T) puede tener uno o más grupos carbohidrato que pueden oxidarse para proporcionar un grupo aldehído (-CHO) (ver, por ejemplo, Laguzza *et ál.*, 1989, J. Med. Chem. 32 (3): 548-55). El aldehído correspondiente puede formar un enlace con un sitio reactivo en una parte de (L). Los sitios reactivos que pueden reaccionar con un grupo carbonilo en (T) incluyen, pero no se limitan a, hidrazina e hidroxilamina. Se describen otros protocolos para la modificación de proteínas para el acoplamiento o asociación de (D) en Coligan *et ál.*, Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002).

(T) puede incluir, por ejemplo, una proteína, un polipéptido o péptido, que incluye, pero no se limita a, transferrina, factores de crecimiento epidérmico ("EGF", por sus siglas en inglés), bombesina, gastrina, péptidos que liberan gastrina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, IL-2, IL-6, factor de crecimiento transformante ("TGF", por sus siglas en inglés), tal como TGF- α o TGF- β , factor de crecimiento *vaccinia* ("VGF", por sus siglas en inglés), factores de crecimiento insulínico y similar a la insulina I y II, lectinas y apoproteínas de lipoproteínas de baja densidad.

(T) también puede incluir un anticuerpo, tal como anticuerpos policlonales o monoclonales. El anticuerpo puede dirigirse a un determinante antigénico particular, que incluye, por ejemplo, un antígeno para células cancerosas, un antígeno para virus, un antígeno para microbios, una proteína, un péptido, un carbohidrato, un químico, un ácido nucleico o fragmentos de estos. Se conocen en la técnica los métodos de producción de anticuerpos policlonales. Un anticuerpo monoclonal (mAb) respecto a un antígeno de interés puede prepararse mediante el uso de cualquier método conocido en la técnica. Estos incluyen, pero no se limitan a, la técnica de hibridoma descrita originalmente por Kohler y Milstein (1975, Nature 256, 495-497), la técnica de hibridoma de linfocitos B humanos (Kozbor *et ál.*, 1983, Immunology Today 4:72) y la técnica de EBV-hibridoma (Cole *et ál.*, 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., págs. 77-96). El método del linfocito-anticuerpo seleccionado (SLAM, por sus siglas en inglés) (Babcock, J.S., *et ál.*, A novel strategy for generating monoclonal antibodies from single, isolated lymphocytes producing antibodies of defined specificities. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. 93 (15): p. 7843-8.) y (McLean GR, Olsen OA, Watt IN, Rathanaswami P, Leslie KB, Babcock JS, Schrader JW. Recognition of human cytomegalovirus by human primary immunoglobulins identifies an innate foundation to an adaptive immune response. J Immunol. 15 de abril de 2005;174 (8): 4768-78. Tales anticuerpos pueden ser de cualquier clase de inmunoglobulina, que incluye IgG, IgM, IgE, IgA e IgD y cualquier subclase de estas. Los hibridomas que producen mAb de uso en la presente invención puede cultivarse *in vitro* o *in vivo*.

El anticuerpo monoclonal puede ser, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humano, un anticuerpo monoclonal humanizado, un fragmento de anticuerpo o un anticuerpo quimérico (por ejemplo, un anticuerpo de humano-ratón). Los anticuerpos monoclonales humanos pueden elaborarse mediante cualquiera de numerosos métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, Teng *et ál.*, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80: 7308-7312; Kozbor *et ál.*, 1983, Immunology Today 4: 72-79; y Olsson *et ál.*, 1982, Meth. Enzymol. 92: 3-16). Véase también, Huse *et ál.*, 1989, Science 246: 1275-1281 y McLean *et ál.* J Immunol. 15 de abril de 2005;174 (8): 4768-78.

En anticuerpo también puede ser un anticuerpo biespecífico. Se conocen en la técnica métodos para producir anticuerpos biespecíficos. La producción tradicional de anticuerpos biespecíficos de longitud completa se basa en la coexpresión de dos pares de cadena pesada/cadena ligera de inmunoglobulina, en donde las dos cadenas tienen diferentes especificidades (ver, por ejemplo, Milstein *et ál.*, 1983, Nature 305: 537-539; publicación internacional n.º WO 93/08829, Trauneker *et ál.*, 1991, EMBO J. 10: 3655-3659).

Conforme a un enfoque diferente, los dominios variables de anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación de anticuerpo y antígeno) se fusionan a secuencias de dominio constante de

inmunoglobulina. La fusión, preferentemente, es con un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina que comprende al menos parte de las regiones bisagra, C_{H2} y C_{H3}. Se prefiere que la primera región constante de cadena pesada (CH1) que contiene el sitio necesario para la unión de cadena ligera se encuentre presente en al menos una de las fusiones. Se insertan los ácidos nucleicos con secuencias que codifican las fusiones de cadena pesada de inmunoglobulina y, si se desea, de cadena ligera de inmunoglobulina, en vectores de expresión por separado y se cotransfectan en un organismo huésped adecuado. Esto proporciona una gran flexibilidad para ajustar las proporciones mutuas de los tres fragmentos de polipéptidos en realizaciones en las cuales las proporciones desiguales de las tres cadenas de los polipéptidos utilizadas en la construcción proporcionan rendimientos óptimos. Sin embargo, es posible insertar las secuencias de codificación para dos o las tres cadenas polipeptídicas en un vector de expresión cuando la expresión de al menos dos cadenas polipeptídicas en proporciones iguales produce rendimientos elevados o cuando las proporciones no son particularmente significativas.

Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden tener una cadena pesada de inmunoglobulina híbrida con una primera especificidad de unión en un brazo y un par de cadena ligera/cadena pesada de inmunoglobulina híbrida (que proporciona una segunda especificidad de unión) en otro brazo. Esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de las combinaciones de cadenas de inmunoglobulina no deseadas, ya que la presencia de una cadena ligera de inmunoglobulina únicamente en una mitad de la molécula biespecífica proporciona un modo sencillo de separación (publicación internacional n.º WO 94/04690).

Para ver detalles adicionales de la generación de anticuerpos biespecíficos véase, por ejemplo, Suresh *et ál.*, 1986, *Methods in Enzymology* 121:210; Rodrigues *et ál.*, 1993, *J. Immunology* 151:6954-6961; Carter *et ál.*, 1992, *Bio/Technology* 10:163-167; Carter *et ál.*, 1995, *J. Hematotherapy* 4:463-470; Merchant *et ál.*, 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681. Mediante el uso de dichas técnicas, los anticuerpos biespecíficos pueden prepararse para uso en el tratamiento o la prevención de la enfermedad tal como se define en el presente documento.

Los anticuerpos bifuncionales también se describen en la publicación de patente europea n.º EPA 0 105 360. Tal como se divulga en esta referencia, los anticuerpos híbridos o bifuncionales pueden derivarse, ya sea de forma biológica, es decir, mediante técnicas de fusión celular, o de forma química, especialmente con agentes de reticulación o reactivos que forman puentes disulfuro y pueden comprender anticuerpos completos o fragmentos de estos. Los métodos para obtener tales anticuerpos híbridos se describen, por ejemplo, en la publicación internacional WO 83/03679 y la publicación de patente europea n.º EPA 0 217 577.

El anticuerpo también puede ser un fragmento, derivado o análogo activo desde el punto de vista funcional que se une de forma inmuno-específica a un antígeno objetivo (por ejemplo, un antígeno de cáncer, un antígeno viral, un antígeno microbiano u otros anticuerpos que se unen a células o matrices). En este sentido, "activo desde el punto de vista funcional" significa que el fragmento, derivado o análogo es capaz de reconocer el mismo antígeno que reconoció el anticuerpo del cual deriva el fragmento, derivado o análogo. Específicamente, en una realización de ejemplo, la antigenicidad del idiotipo de la molécula de inmunoglobulina puede mejorarse mediante la eliminación de las secuencias CDR y de marco que son de extremo C respecto a la secuencia CDR que reconoce específicamente el antígeno. Para determinar cuáles secuencias CDR se unen al antígeno, los péptidos sintéticos que contienen las secuencias CDR pueden utilizarse en los ensayos de unión con el antígeno mediante cualquier método de ensayo de unión conocido en la técnica (por ejemplo, el ensayo de *BIAcore*) (ver, por ejemplo, Kabat *et ál.*, 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, National Institute of Health, Bethesda, Md.; Kabat *et ál.*, 1980, *J. Immunology* 125(3):961-969).

Otros anticuerpos útiles incluyen fragmentos de anticuerpos tales como, pero no se limitan a, fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fab, Fab', fragmentos Fv y dímeros de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpos o cualquier fragmento mínimo de estos tal como Fv o anticuerpos de cadena simple (SCA, por su sigla en inglés) (por ejemplo, tal como se describe en la patente estadounidense n.º 4,946,778; Bird, 1988, *Science* 242:423-42; Huston *et ál.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; y Ward *et ál.*, 1989, *Nature* 334:544-54).

Los anticuerpos recombinantes, tales como anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados, que comprenden partes tanto humanas como no humanas, que pueden elaborarse mediante el uso de técnicas estándar de ADN recombinante, también se pueden utilizar. (Véanse, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4.816.567; y la patente estadounidense n.º 4.816.397.) Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpos de especies no humanas que tienen una o más regiones determinantes complementarias (CDR, por su sigla en inglés) de especies no humanas y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana. (Véanse, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.585.089.) Los anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante conocidas en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de métodos descritos en la publicación internacional n.º WO 87/02671; en la publicación de patente europea n.º 0 184 187; en la publicación de patente europea n.º 0 171 496; en la publicación de patente europea n.º 0 173 494; en la publicación internacional n.º WO 86/01533; en la patente estadounidense n.º 4.816.567; en la publicación de patente europea n.º 0 12 023; Berter *et ál.*, 1988, *Science* 240: 1041-1043; Liu *et ál.*, 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 3439-3443; Liu *et ál.*, 1987, *J. Immunol.* 139: 3521-3526; Sun *et ál.*, 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 214-218; Nishimura *et ál.*, 1987, *Cancer. Res.* 47: 999-1005; Wood *et ál.*, 1985, *Nature* 314: 446-449; Shaw *et ál.*, 1988, *J. Natl. Cancer*

Inst. 80: 1553-1559; Morrison, 1985, *Science* 229: 1202-1207; Oi *et ál.*, 1986, *BioTechniques* 4: 214; en la patente estadounidense n.º 5.225.539; Jones *et ál.*, 1986, *Nature* 321: 552-525; Verhoeyan *et ál.*, 1988, *Science* 239: 1534 y Beidler *et ál.*, 1988, *J. Immunol.* 141: 4053-4060.

5 Pueden utilizarse anticuerpos completamente humanos. Los anticuerpos humanos pueden prepararse, por ejemplo, mediante el uso de ratones transgénicos que sean incapaces de expresar genes de cadenas ligera y pesada de inmunoglobulina endógenos, pero que puedan expresar genes de cadena ligera y pesada humanos. Se inmunizan los ratones transgénicos de la manera tradicional con un antígeno seleccionado, por ejemplo, la totalidad o una parte de un polipéptido. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno pueden obtenerse mediante el uso de tecnología de hibridoma convencional. Los transgenes de inmunoglobulina humana que albergan los ratones transgénicos se reconfiguran durante la diferenciación de linfocitos B y posteriormente experimentan un campo de clase y una mutación somática. De este modo, mediante el uso de dicha técnica, es posible producir anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE útiles desde el punto de vista terapéutico. Para un resumen de esta tecnología para la producción de anticuerpos humanos, véase Lonberg y Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13: 65-93). Para una exposición detallada de esta tecnología para la producción de anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales humanos y los protocolos para la producción de tales anticuerpos, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 5.625.126; 5.633.425; 5.569.825; 5.661.016; y 5.545.806.

20 Los anticuerpos humanos que reconocen un epítipo seleccionado también pueden generarse mediante el uso de una técnica que se conoce como "selección guiada". En este enfoque, se utiliza un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de ratón, para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconozca el mismo epítipo. (Véase, por ejemplo, Jaspers *et ál.*, 1994, *Biotechnology* 12: 899-903.) Los anticuerpos humanos también pueden producirse mediante el uso de diversos métodos conocidos en la técnica, que incluyen bibliotecas de expresión en fagos (véase, por ejemplo, Hoogenboom y Winter, 1991, *J. Mol. Biol.* 227: 381; Marks *et ál.*, 1991, *J. Mol. Biol.* 222: 581; Quan y Carter, 2002, "The rise of monoclonal antibodies as therapeutics," en *Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu, P. M. y Fick Jr., R. B, eds., Marcel Dekker, Nueva York, N.Y., capítulo 20, págs. 427-469).

30 En otras realizaciones, el anticuerpo es una proteína de fusión de un anticuerpo o un fragmento de este funcionalmente activo. Por ejemplo, un anticuerpo puede fusionarse mediante un enlace covalente (por ejemplo, un enlace peptídico) ya sea en el extremo N o en el extremo C a una secuencia de aminoácidos de otra proteína (o una parte de esta, tal como al menos una parte de 10, 20 o 50 aminoácidos de la proteína) que no es el anticuerpo.

35 Los anticuerpos también incluyen análogos y derivados que se encuentran modificados, es decir, mediante el acoplamiento covalente de cualquier tipo de molécula, siempre que tal unión covalente permita que el anticuerpo conserve su inmunoespecificidad de unión al antígeno. Por ejemplo, pero no de modo limitante, los derivados y análogos de los anticuerpos incluyen aquellos que se modificaron adicionalmente, por ejemplo, mediante glicosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivación mediante grupos protectores/de bloqueo conocidos, escisión proteolítica, unión a una unidad de anticuerpo celular u otra proteína, etc. Puede llevarse a cabo cualquier cantidad de modificaciones químicas mediante técnicas conocidas, que incluyen, pero no se limitan a una escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica en presencia de tunicamicina, etc. Adicionalmente, el análogo o derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

45 Los anticuerpos pueden tener modificaciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o adiciones) en residuos de aminoácidos que interactúan con los receptores Fc. En particular, los anticuerpos incluyen anticuerpos que tienen modificaciones en residuos de aminoácidos identificados por implicarse en la interacción entre el dominio anti-Fc y el receptor FcRn (véase, por ejemplo, la publicación internacional n.º WO 97/34631). Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno objetivo pueden obtenerse en el mercado o de otras fuentes o producirse mediante cualquier método conocido para el experto en la técnica, tal como, por ejemplo, técnicas de síntesis química o de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa puede obtenerse, por ejemplo, de GenBank o una base de datos similar, la bibliografía de publicaciones o mediante clonación y secuenciación habitual.

55 Los ejemplos de anticuerpos disponibles para el tratamiento del cáncer incluyen, pero no se limitan a, anticuerpo monoclonal anti HER2 humanizado, HERCEPTIN® (trastuzumab; Genentech); RITUXAN® (rituximab; Genentech) que es un anticuerpo monoclonal quimérico anti CD20 para el tratamiento de pacientes con linfoma no Hodgkin; OvaRex (AltaRex Corporation, MA) que es un anticuerpo murino para el tratamiento del cáncer de ovario; Panorex (Glaxo Wellcome, NC) que es un anticuerpo murino IgG2a para el tratamiento del cáncer colorrectal; Cetuximab Erbitux (Imclone Systems Inc., NY) que es un anticuerpo quimérico IgG anti-EGFR para el tratamiento de cánceres positivos para el factor de crecimiento epidérmico, tal como el cáncer de cuello y cabeza; Vitaxin (MedImmune, Inc., MD) que es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del sarcoma; Campath I/H (Leukosite, MA) que es un anticuerpo humanizado IgG1 para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL); Smart MI95 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado IgG anti-CD33 para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML); LymphoCide (Immunomedics, Inc., NJ) que es un anticuerpo humanizado IgG anti-CD22 para el tratamiento del linfoma no Hodgkin; Smart ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado anti-HLA-DR para el tratamiento del linfoma no Hodgkin; Oncolym (Techniclone, Inc., CA) que es un anticuerpo murino

radiomarcado anti-HLA-Dr10 para el tratamiento del linfoma no Hodgkin; Allomune (BioTransplant, CA) que es un mAb humanizado anti-CD2 para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin o el linfoma no Hodgkin; Avastin (Genentech, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado anti-VEGF para el tratamiento de los cánceres de pulmón y colorrectal; Epratuzamab (Immunomedics, Inc., NJ y Amgen, CA) que es un anticuerpo anti-CD22 para el tratamiento del linfoma no Hodgkin; y CEAcide (Immunomedics, NJ) que es un anticuerpo humanizado anti-CEA para el tratamiento del cáncer colorrectal.

Otros anticuerpos útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos contra los siguientes antígenos (los ejemplos de cáncer se indican entre paréntesis): CA125 (de ovario), CA15-3 (carcinomas), CA19-9 (carcinomas), L6 (carcinomas), Lewis Y (carcinomas), Lewis X (carcinomas), alfa fetoproteína (carcinomas), CA 242 (colorrectal), fosfatasa alcalina placentaria (carcinomas), antígeno específico de la membrana prostática (próstata), fosfatasa de ácido prostático (próstata), factor de crecimiento epidérmico (carcinomas), MAGE-1 (carcinomas), MAGE-2 (carcinomas), MAGE-3 (carcinomas), MAGE-4 (carcinomas), receptor de anti transferrina (carcinomas), p97 (melanoma), MUC1-KLH (cáncer de mama), CEA (colorrectal), gp100 (melanoma), MART1 (melanoma), antígeno prostático específico (PSA) (próstata), receptor de IL-2 (linfomas y leucemia de linfocitos T), CD20 (linfoma no Hodgkin), CD52 (leucemia), CD33 (leucemia), CD22 (linfoma), gonadotropina coriónica humana (carcinoma), CD38 (mieloma múltiple), CD40 (linfoma), mucina (carcinomas), P21 (carcinomas), MPG (melanoma) y el producto oncogén Neu (carcinomas). Algunos anticuerpos útiles específicos incluyen, pero no se limitan a, BR96 mAb (Trail *et al.*, 1993, *Science* 261: 212-215), BR64 (Trail *et al.*, 1997, *Cancer Research* 57: 100-105), mAb contra el antígeno CD40, tal como S2C6 mAb (Francisco *et al.*, 2000, *Cancer Res.* 60: 3225-3231) y variantes quiméricas y humanizadas de estos, mAb contra el antígeno cD33; mAb contra el antígeno EphA2; mAb contra el antígeno CD70, tal como mAb 1F6 y mAb 2F2 y variantes quiméricas y humanizadas de estos y mAb contra el antígeno CD30, tal como AC10 (Bowen *et al.*, 1993, *J. Immunol.* 151: 5896-5906; Wahl *et al.*, 2002, *Cancer Res.* 62 (13): 3736-42) y variantes quiméricas y humanizadas de estos. Muchos otros anticuerpos que pueden internalizarse que se unen a los antígenos asociados a tumores pueden utilizarse y se han descrito (véase, por ejemplo, Franke *et al.*, 2000, *Cancer Biother. Radiopharm.* 15: 459 76; Murray, 2000, *Semin. Oncol.* 27:64 70; Breitling *et al.*, *Recombinant Antibodies*, John Wiley, and Sons, Nueva York, 1998).

El anticuerpo también puede ser un anticuerpo que se une a un antígeno que se encuentra presente en una célula objetivo o una población celular objetivo. Por ejemplo, los polipéptidos transmembrana y otros marcadores pueden expresarse específicamente en la superficie de uno o más tipos particulares de células objetivo (por ejemplo, una célula cancerosa) en comparación con una o más normales (por ejemplo, una célula no cancerosa). Frecuentemente, tales marcadores se expresan de forma más abundante en la superficie de las células objetivo o exhiben mayor inmunogenicidad, en comparación con aquellos en la superficie de las células normales. La identificación de tales polipéptidos de antígenos de superficie celular ha dado lugar a la capacidad de elegir específicamente células para su destrucción mediante tratamientos basados en anticuerpos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos contra antígenos asociados a tumores (TAA, por su sigla en inglés). Tales antígenos asociados a tumores se conocen en la técnica y pueden prepararse para su uso en la generación de anticuerpos con métodos e información conocidos en la técnica.

Véanse también los documentos EP2552957, WO/2012/116453, WO/2012/032080. Véase también Zybody™, <http://www.zyngenia.com/science-technology/technology-approach.asp>. Véase también la tecnología de anticuerpos humanos únicamente de cadena pesada, <http://www.crescendobiologics.com/>. Ver también el documento WO2010001251, plataforma basada en levaduras para anticuerpos humanos basados en levaduras <http://www.adimab.com/platform-overview>, la plataforma mAbLogix™ <http://www.dna.com/OurApproach/ComplementaryTechnologies/AntibodyDiscovery>, la plataforma de descubrimiento monoclonal <http://www.igenica.com/science.php>, los documentos WO2009/157771, EP2560993, WO2013004842, WO2012166560.

Además de los anticuerpos, el resto de direccionamiento (T) de las composiciones de la presente incluye dentro de su alcance cualquier unidad de un (T) que se una o se asocie de forma reactiva o forme complejo con un receptor, antígeno u otro resto receptivo asociado a una población celular objetivo dada. (T) es una molécula que se une, forma complejos o reacciona con un resto de una población celular que se busca que sea objetivo. Por ejemplo, dentro de (T) se incluyen ligandos para receptores de la superficie celular derivados de diversas fuentes, que incluyen derivados de células humanas, ligandos derivados de bacterias y ligandos derivados de patógenos. Se conoce una amplia gama de restos de direccionamiento adecuados en la técnica. Ver, por ejemplo, WO2013117705.

Resto enlazador (L)

Las composiciones de la presente incluyen además opcionalmente un resto enlazador (L). (L) es un compuesto bifuncional que puede utilizarse para unir (D) con (T) para formar una composición conjugada, T-L-D. Dichos conjugados permiten la administración selectiva de fármacos a células objetivo (por ejemplo, células tumorales). (L) incluyen un sustituyente divalente, tales como un alquildiilo, un arildiilo, un heteroarildiilo, restos tales como: $-(CR2)_nO(CR2)_n-$, unidades de repetición de alquiloxi (por ejemplo, polietilenoxi, PEG, polimetilenoxi) y alquilamino (por ejemplo, polietilenoamino, Jeffamine™); y éster diácido y amidas que incluyen succinato, succinamida, diglicolato, malonato y caproamida.

Estas composiciones de la presente pueden prepararse mediante el uso de una unidad (L) que tenga un sitio reactivo para unirse a (D) y (T). En algunas realizaciones, (L) tiene un sitio reactivo que tiene un grupo electrófilo que reacciona a un grupo nucleófilo que se encuentra presente en (T). Los grupos nucleófilos útiles en (T) incluyen, pero no se limitan a, grupos sulfhidrilo, hidroxilo y amino. El heteroátomo del grupo nucleófilo de (T) reacciona a un grupo electrófilo en (L) y forma un enlace covalente con (L). Los grupos electrófilos útiles incluyen, pero no se limitan a, grupos maleimida y haloacetamida. El grupo nucleófilo en (T) proporciona un sitio conveniente para el acoplamiento con (L).

En otra realización, (L) tiene un sitio reactivo que tiene un grupo nucleófilo que es reactivo con un grupo electrófilo presente en (T). Los grupos electrófilos útiles en (T) incluyen, pero no se limitan a, grupos aldehído y cetona carbonilo. El heteroátomo de un grupo nucleófilo de (L) puede reaccionar con un grupo electrófilo en (T) y formar un enlace covalente con (T). Los grupos nucleófilos útiles en (L) incluyen, pero no se limitan a, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiosemicarbazona, hidrazina carboxilato y arilhidrazida. El grupo electrófilo en (T) proporciona un sitio conveniente para el acoplamiento con (L).

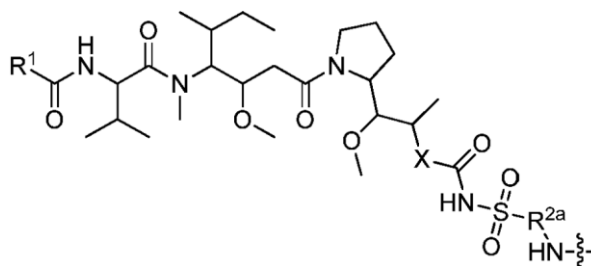
Los grupos funcionales de ácido carboxílico y los grupos funcionales de cloroformiato también son sitios reactivos útiles para (L) ya que pueden reaccionar con grupos amino de (D) para formar una unión amida. También es útil como sitio reactivo un grupo funcional carbonato en (L), tal como, pero no limitado a, carbonato de p-nitrofenilo, que puede reaccionar, por ejemplo, con un grupo amino de (D) para formar un enlace carbamato.

Se comprenderá que cualquier resto enlazador presentado en la técnica previa, y en particular aquellos presentados para su uso en el contexto de la administración de fármacos, puede utilizarse en la presente invención. Sin limitar el alcance de la declaración que antecede, en una realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2012/113847. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 8.288.352. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.028.697. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.006.652. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.094.849. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.053.394. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.122.368. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.387.578. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.547.667. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.622.929. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.708.146. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 6.468.522. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 6.103.236. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 6.638.509. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 6.214.345. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 6.759.509. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2007/103288. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2008/083312. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2003/068144. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2004/016801. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2009/134976. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2009/134952. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2009/134977. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2002/08180. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2004/043493. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2007/018431. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2003/026577. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2005/077090. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2005/082023. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2007/011968. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2007/038658. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2007/059404. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2006/110476. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2005/112919. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento WO 2008/103693. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 6.756.037. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 7.087.229. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 7.122.189. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 7.332.164. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.556.623. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.643.573. En otra realización, (L) comprende un resto enlazador divulgado en el documento U.S. 5.665.358.

En una realización preferida, (L) comprende un resto enlazador divulgado en la solicitud provisional estadounidense 61/921.242, presentada el 27 de diciembre de 2013. Por consiguiente, se proporcionan composiciones conjugadas de fórmula III:

(T)-(L¹)-(D¹) III

en donde (T) es un resto de direccionamiento capaz de enlazarse con una célula objetivo, en donde (D¹) tiene la estructura (IV) siguiente:



IV

5

en donde;

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, amino-heterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterociclilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

10

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

15

R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquiloxi C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde el alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquiloxi C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente seleccionado de alquilarilo C₁-C₄ hidroxilo y tio o

20

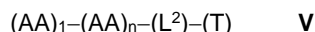
R^b y R^c tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidíolo;

X está ausente;

R^{2a} se selecciona de: alquildíolo C₂-C₆, arildíolo, cicloalquildíolo C₄-C₇, heteroarildíolo y heterociclidíolo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: alcoxi C₁-C₆, alcoxicarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆; y en donde (L¹)-(T) tiene la siguiente estructura (V):

25

30



en donde el grupo -NH- unido a R^{2a} en la fórmula IV forma un enlace peptídico (JPB) con (AA)₁ en la fórmula V, en donde el JPB se puede escindir de manera enzimática, en donde cada AA es independientemente un aminoácido, en donde n es un número entero de 0 a 25, en donde (L²) es opcionalmente la parte restante del enlazador (L¹), en donde (T) es el resto de direccionamiento y en donde (AA)₁-(AA)_n, tomados juntos comprenden una secuencia de aminoácidos capaz de facilitar la escisión enzimática del JPB.

35

También pueden utilizarse enlazadores (L) que comprenden un componente autodestructivo. Por ejemplo, véase la patente estadounidense n.º 6.214.345. Un ejemplo de un componente autodestructivo es p-aminobencilcarbamoilo (PABC).

40

Pueden utilizarse en la invención enlazadores disponibles en el mercado. Por ejemplo, pueden utilizarse el enlazador con capacidad de escisión 6-[3'(2-piridilditio)propionamido]hexanoato de sulfosuccinimidilo disponible en el mercado (sulfo-LC-SPDP: Thermo Pierce, n.º de catálogo 21650) y el enlazador sin capacidad de escisión 4-[N-maleimidometil]ciclohexan-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC: Thermo Pierc, n.º de catálogo 22360), tal como se demuestra en el presente documento.

45

Véase también, el documento WO2012171020, el documento WO2010138719, la gama de enlazadores comercialmente disponibles, por ejemplo, de Concortis <http://www.concortis.com/home>. Véase también Kim *et ál.*, Bioconjugate Chemistry, 21 (8): 1513-1519 agosto de 2010. Véase también el documento EP2326349. Véanse también los enlazadores de química clic sin cobre, Angew. Chem. Int. Ed., 2010, 49, p. 9422-9425, ChemBioChem, 2011, 12, p. 1309-1312, <http://www.synaffix.com/technology/>.

50

55

Resto de fármaco (D)

(D) es un compuesto de fórmula I, tal como se describe en el presente documento. El experto en la técnica reconocerá que los compuestos descritos en el presente documento se pueden modificar de manera adecuada para facilitar una reacción de conjugación con (L) o, si (L) no está presente, con (T) y formar un conjugado (T)-(L)-(D) o (T)-(D). Se puede utilizar cualquier punto de acoplamiento en (D). En una realización, el extremo C de (D) forma el punto de acoplamiento en un conjugado de (T)-(L)-(D). En otra realización, el extremo N de (D) forma el punto de acoplamiento en un conjugado de (T)-(L)-(D). En otra realización, la cadena lateral de (D) forma el punto de acoplamiento en un conjugado de (T)-(L)-(D).

Administración

A los efectos de la administración, los compuestos de la presente divulgación pueden administrarse como químicos en bruto o pueden formularse como composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación comprenden un compuesto descrito en el presente documento y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. El compuesto descrito en el presente documento se encuentra presente en la composición en una cantidad que es eficaz para tratar una enfermedad o afección de interés particular, por ejemplo, en una cantidad suficiente para tratar el crecimiento de células tumorales o el cáncer y preferentemente con una toxicidad aceptable para el paciente. El experto en la técnica puede determinar la actividad de los compuestos descritos en el presente documento, por ejemplo, tal como se describe en los ejemplos más adelante. El experto en la técnica puede determinar fácilmente las concentraciones y dosificaciones adecuadas.

La administración de los compuestos descritos en el presente documento o sus sales farmacéuticamente aceptables, en forma pura o en una composición farmacéutica apropiada, se puede llevar a cabo mediante cualquiera de los modos de administración de agentes aceptados para cumplir con utilidades similares. Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden prepararse mediante la combinación de un compuesto descrito en el presente documento con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado y puede formularse en preparaciones en formas sólida, semisólida, líquida o gaseosa, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, ungüentos, soluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes, geles, microesferas y aerosoles. Las vías de administración habituales para tales composiciones farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a, oral, tópica, transdérmica, por inhalación, parenteral, sublingual, bucal, rectal, vaginal e intranasal. El término parenteral tal como se utiliza en el presente documento incluye inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas, intramusculares e intraesternales o técnicas de infusión. Las composiciones farmacéuticas de la descripción se formulan de modo que permitan que los principios activos contenidos en estas se encuentren biodisponibles tras la administración de la composición a un paciente. Las composiciones que se administrarán a un sujeto o paciente toman la forma de una o más unidades de dosificación, en donde, por ejemplo, un comprimido puede ser una unidad de dosificación individual y un recipiente de un compuesto descrito en el presente documento en forma de aerosol puede contener múltiples unidades de dosificación. Los métodos reales de preparación de tales formas de dosificación son conocidos o serán evidentes, para los expertos en la técnica; por ejemplo, véase Remington: The Science and Practice of Pharmacy (22.^a ed.) eds. Loyd V. Allen, Jr., *et ál.*, Pharmaceutical Press, 2012. La composición a administrar, en cualquier caso, contendrá una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para el tratamiento de una enfermedad o afección de interés, de acuerdo con las indicaciones de la presente divulgación.

Una composición farmacéutica descrita en el presente documento puede encontrarse en forma de un sólido o un líquido. En un aspecto, el o los vehículos son particulados, de modo que las composiciones se encuentran, por ejemplo, en forma de comprimido o de polvo. Los vehículos pueden ser líquidos, en donde las composiciones son, por ejemplo, un jarabe para vía oral, un líquido inyectable o un aerosol, que es útil, por ejemplo, en la administración por inhalación.

Cuando se pretenden para administración oral, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación normalmente tienen forma sólida o líquida, en donde las formas semisólidas, semilíquidas, en suspensión y en gel se incluyen dentro de las formas consideradas en el presente documento como sólidas o líquidas.

Como composición sólida para administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden formularse como un polvo, gránulo, comprimido, píldora, cápsula, goma de mascar, oblea o formas similares. Tal composición sólida normalmente contendrá uno o más diluyentes inertes o vehículos comestibles. Además, uno o más de los siguientes pueden encontrarse presentes: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etil celulosa, celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes desintegrantes tales como ácido alginico, alginato de sodio, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes tales como estearato de magnesio o Sterotex; deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina; un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo o saborizante a naranja y un agente colorante.

Cuando la composición farmacéutica se encuentra en forma de cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina puede contener, además de los materiales del tipo antes mencionado, un vehículo líquido tal como polietilenglicol o aceite.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden encontrarse en forma de un líquido, por ejemplo, un elixir, un jarabe, una solución, una emulsión o una suspensión. El líquido puede ser para

administración oral o para administración mediante inyección, a modo de dos ejemplos. Cuando se destinan a la administración oral, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento normalmente contienen, además de los presentes compuestos, uno o más de un agente edulcorante, conservantes, tintes/colorantes y potenciadores de sabor. En una composición destinada a la administración por inyección, se pueden incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente de dispersión, agente de suspensión, amortiguador, estabilizante y agente isotónico.

Las composiciones farmacéuticas líquidas descritas en el presente documento, ya sea que sean soluciones, suspensiones u otra forma similar, pueden incluir uno o más de los siguientes adyuvantes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferentemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites no volátiles tales como mono o diglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfato de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; soluciones tamponadas tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. Las preparaciones parenterales pueden incluirse en ampollas, jeringas descartables o viales de múltiples dosis hechos de vidrio o plástico. La solución salina fisiológica se prefiere como adyuvante. Una composición farmacéutica inyectable es preferentemente estéril.

Una composición farmacéutica líquida descrita en el presente documento destinada a la administración parenteral u oral debe contener una cantidad de un compuesto descrito en el presente documento de modo que se obtenga una dosificación adecuada.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden destinarse a la administración tópica, en cuyo caso el vehículo puede comprender de forma adecuada una base de solución, una emulsión, un ungüento o un gel. La base, por ejemplo, puede comprender uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abeja, aceite mineral, diluyentes tales como agua y alcohol y emulsificantes y estabilizantes. Pueden encontrarse presentes agentes espesantes en una composición farmacéutica para la administración tópica. Si se destina a la administración transdérmica, la composición puede incluir un parche transdérmico o dispositivo de iontoforesis.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden destinarse a la administración rectal, por ejemplo, en forma de un supositorio, que se derretirá en el recto y liberará el fármaco. Las composiciones para administración rectal pueden contener una base oleaginosas como excipiente adecuado no irritante. Tales bases incluyen, pero no se limitan a, lanolina, manteca de cacao y polietilenglicol.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden incluir varios materiales, que modifican la forma física de una unidad de dosificación sólida o líquida. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que forman una cubierta protectora alrededor de los principios activos. Los materiales que forman la cubierta protectora normalmente son inertes y se pueden seleccionar, por ejemplo, de azúcar, laca y otros agentes de recubrimiento entéricos. De forma alternativa, los ingredientes activos pueden revestirse en una cápsula de gelatina.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden prepararse en unidades de dosificación que pueden administrarse como un aerosol. El término aerosol se utiliza para indicar una variedad de sistemas que varían de aquellos de naturaleza coloidal hasta sistemas que constan de empaques presurizados. La administración se puede dar mediante gas comprimido o licuado o mediante un sistema de bombas adecuado que suministra los principios activos. Los aerosoles de los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse en sistemas de fase simple, bifásicos o trifásicos para administrar el o los ingredientes activos. La administración del aerosol incluye el recipiente, los activadores, las válvulas, los recipientes secundarios y similares necesarios, los cuales, en conjunto, pueden formar un kit. El experto en la técnica, sin necesidad de experimentación innecesaria, puede determinar los aerosoles preferidos.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden prepararse mediante una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición farmacéutica que se destina a la administración mediante inyección puede prepararse mediante la combinación de un compuesto descrito en el presente documento con agua destilada esterilizada de modo que se forme una solución. Puede agregarse un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea. Los tensioactivos son compuestos que interactúan de forma no covalente con el compuesto descrito en el presente documento de modo que se facilite la disolución o suspensión homogénea del compuesto en el sistema de administración acuoso.

Los compuestos descritos en el presente documento o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz, la cual variará según una diversidad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado; la estabilidad metabólica y la duración de la acción del compuesto; la edad, el peso corporal, el estado de salud, el sexo y la dieta del paciente; el modo y el tiempo de administración; la tasa de excreción; la combinación del fármaco; la gravedad del trastorno o afección particular y el sujeto que se encuentre

en tratamiento.

Los compuestos descritos en el presente documento o sus derivados farmacéuticamente aceptables, se pueden administrar de forma simultánea, antes o después de la administración de uno o más de otros agentes terapéuticos. Dicha terapia de combinación incluye la administración de una formulación de dosificación farmacéutica única que contiene un compuesto descrito en el presente documento y uno o más agentes activos adicionales, así como la administración del compuesto descrito en el presente documento y de cada agente activo en su propia formulación de dosificación farmacéutica por separado. Por ejemplo, un compuesto descrito en el presente documento y otro agente activo pueden administrarse al paciente juntos en una composición de dosificación oral única, tal como un comprimido o cápsula o cada agente se puede administrar en formulaciones de dosificación oral por separado. Cuando se utilizan formulaciones de dosificación por separado, los compuestos descritos en el presente documento y uno o más de los agentes activos adicionales pueden administrarse básicamente al mismo tiempo, es decir, de forma simultánea, o de forma gradual en momentos separados, es decir, secuencialmente; se entiende que el tratamiento de combinación incluye todas estas pautas.

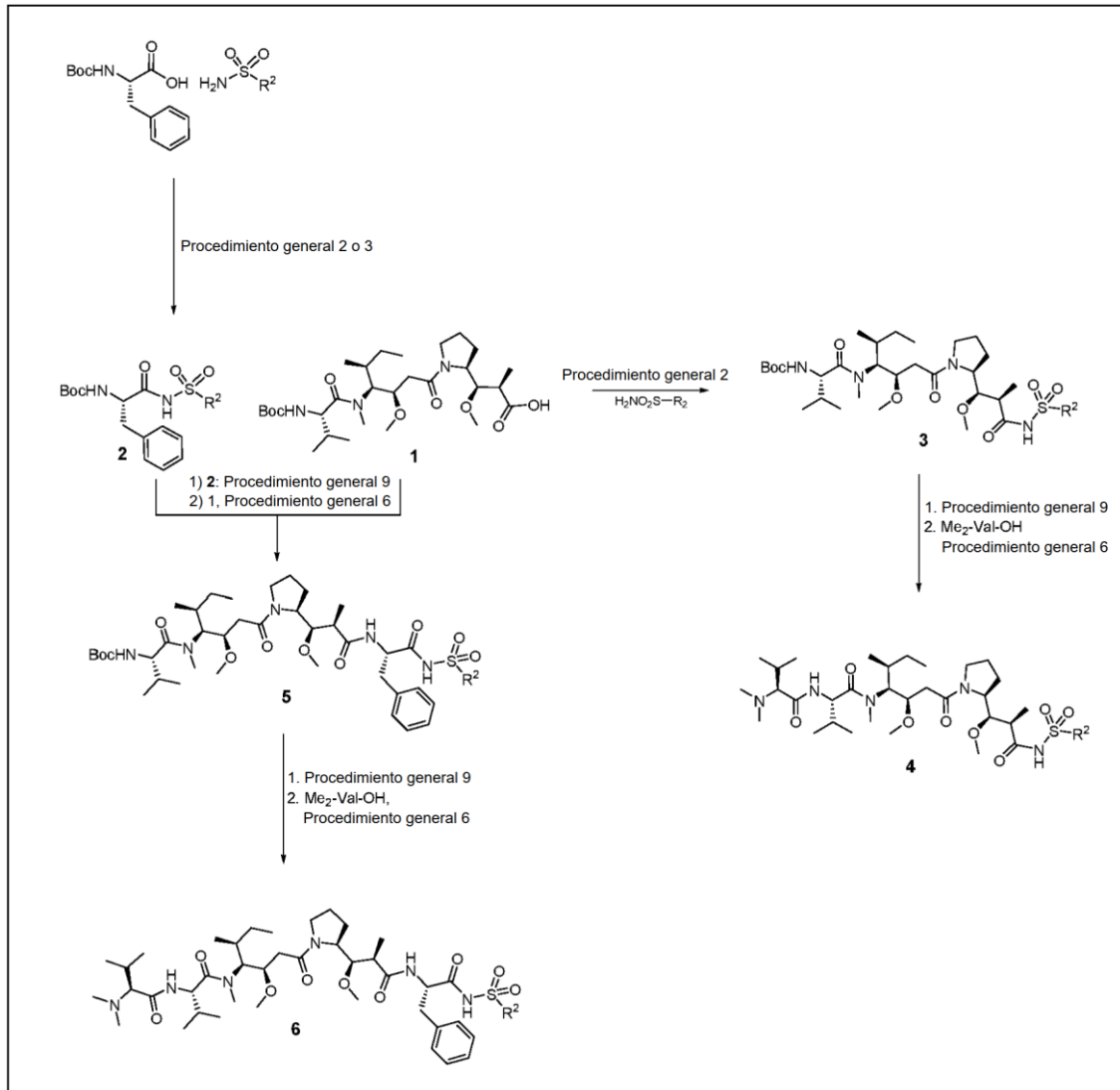
Los ejemplos que siguen ilustran varios métodos para elaborar los compuestos descritos en el presente documento, es decir, compuestos de fórmula I y las fórmulas relacionadas. Se entenderá que el experto en la técnica puede ser capaz de elaborar estos compuestos mediante métodos similares o mediante la combinación de otros métodos conocidos por el experto en la técnica. También se entenderá que el experto en la técnica podría ser capaz de elaborar, de una forma similar a la descrita a continuación, otros compuestos de fórmula I, que no se ilustran específicamente a continuación, mediante el uso de componentes de partida adecuados y la modificación de los parámetros de la síntesis, según se necesite. En general, los componentes de partida pueden obtenerse de fuentes tales como Sigma Aldrich, Lancaster Synthesis, Inc., Maybridge, Matrix Scientific, TCI y Fluorochem USA, etc. o sintetizarse de acuerdo con las fuentes conocidas para el experto en la técnica (véase, por ejemplo, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5ª edición (Wiley, diciembre de 2000)) o prepararse tal como se divulga en el presente documento.

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines ilustrativos, no limitativos. Algunos ejemplos son productos intermedios sintéticos o ejemplos de referencia (por ejemplo, el ejemplo 1.21, el ejemplo 1.24, el ejemplo 1.25, etc).

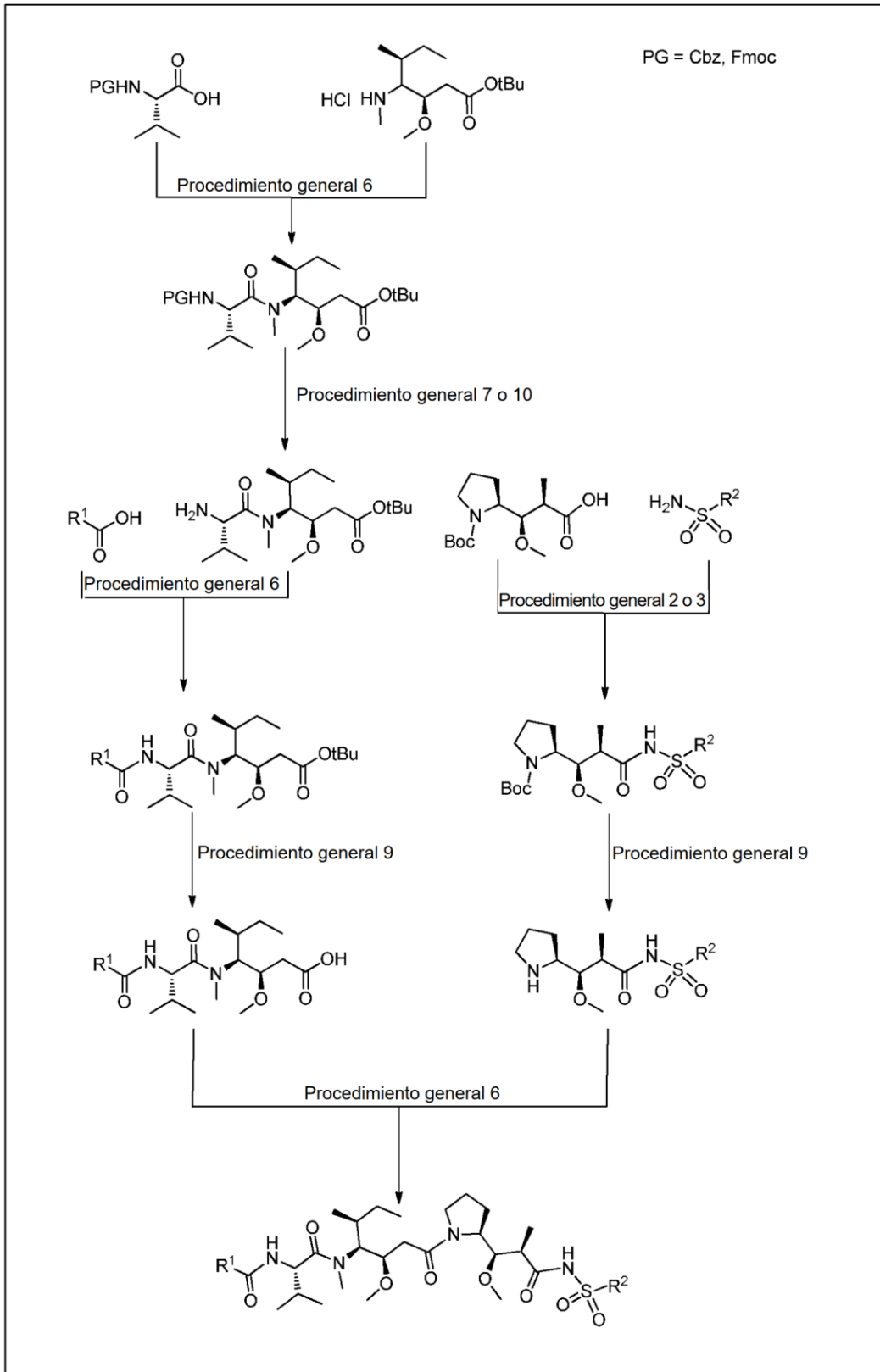
Ejemplos

Ejemplo 1: Procedimientos de síntesis generales:

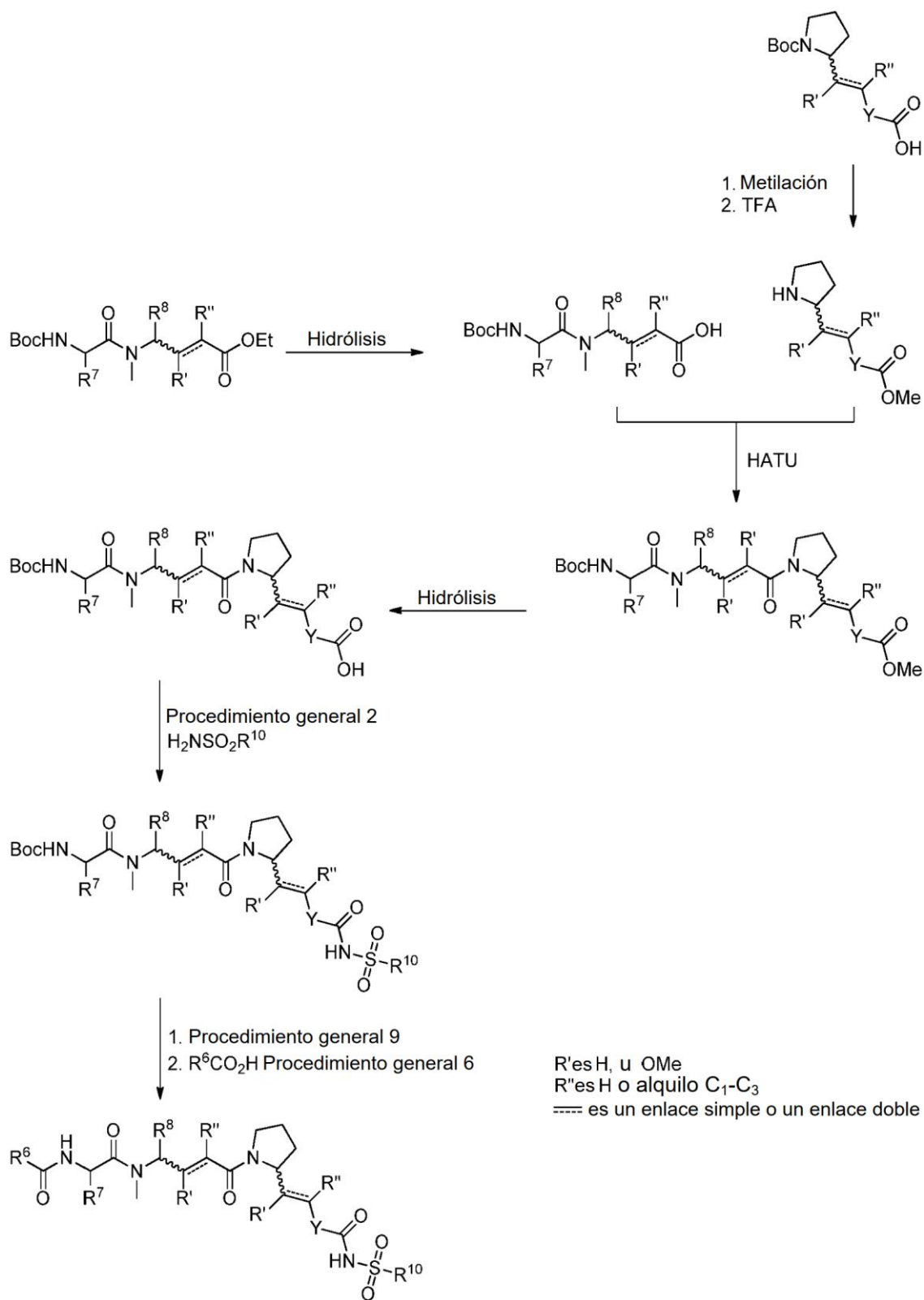
Esquema de síntesis A



Esquema de síntesis B



Esquema C



Ejemplo 1.1: Procedimiento General 1 - Instalación de trifluoroacetamida.

A una suspensión en agitación de amina en 1,4-dioxano se le agregó anhídrido trifluoroacético (1,1 equivalentes). La mezcla de reacción pasó de ser una suspensión a una solución y nuevamente a una suspensión. El avance de la reacción se controló mediante TLC y/o HPLC-MS para su finalización. Una vez que el material de partida se

consumió totalmente, se diluyó la reacción con hexanos o dietil éter, se filtró con un embudo Buchner y se secaron los sólidos resultantes a presión reducida para proporcionar la trifluoroacetamida pura.

Ejemplo 1.2: Procedimiento general 2:

Método A: Formación de *N*-acil sulfonamida mediada por DCC/DMAP

A una solución en agitación del ácido en diclorometano se le agregó una solución de la sulfonamida (1,3 equivalentes, en diclorometano, *N,N*-dimetilformamida o una mezcla de estos, si corresponde). Luego, se agregó dicitclohexilcarbodiimida (1,2 equivalentes) y posteriormente *N,N*-dimetilaminopiridina (1,2 equivalentes). Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS (normalmente 16 horas) y podrían precipitarse los excesos de subproductos mediante la adición de dietiléter. Se eliminaron los sólidos mediante filtración y lavado con 1:1 de dietiléter/diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice u opcionalmente HPLC preparativa para proporcionar la *N*-acil sulfonamida deseada.

Método B: Formación de *N*-acil sulfonamida mediada por EDCI/DMAP o DCC

A una solución en agitación del ácido en diclorometano, acetato de etilo o una mezcla de estos, se le agregó una solución de la sulfonamida (1,3 equivalentes, en diclorometano, acetato de etilo o *N,N*-dimetilformamida o una mezcla de estos, si corresponde). Luego, se agregó dicitclohexilcarbodiimida o EDCI (1,2 equivalentes) y posteriormente *N,N*-dimetilaminopiridina (1,2 equivalentes). Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS (normalmente 16 horas) y podrían precipitarse los excesos de subproductos mediante la adición de dietiléter. Se eliminaron los sólidos mediante filtración y lavado con 1:1 de dietiléter/diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice u opcionalmente HPLC preparativa para proporcionar la *N*-acil sulfonamida deseada.

Ejemplo 1.3: Procedimiento general 3 alternativo – Formación de *N*-acilo sulfonamida mediada por AcBt Este procedimiento se adaptó a partir de uno descrito en ARKIVOC 2004 (xii), 14-22.

Ejemplo 1.4: Procedimiento General 4 – Saponificación de trifluoroacetamida.

A una solución de la construcción que contiene trifluoroacetamida en 1,4-dioxano o metanol se le agregó hidróxido de litio (10 equivalentes) y agua (10 % v/v). Se dejó en agitación la reacción a temperatura ambiente o se calentó opcionalmente a 50 °C. Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS. Tras la finalización, se eliminaron los volátiles a presión reducida, se ajustó el pH de la capa acuosa, si fue necesario y se lavó sucesivamente con diclorometano o acetato de etilo. Las fases orgánicas se agruparon, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto de reacción se utilizó "tal como estaba" o se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, según fuese necesario.

Ejemplo 1.4.1: Procedimiento General 4.1 – Saponificación de éster/amida.

A una solución de la construcción que contenía éster/amida en 1,4-dioxano o metanol se le agregó hidróxido de litio (10 equivalentes) y agua (10 % v/v). Se dejó en agitación la reacción a temperatura ambiente o se calentó opcionalmente a 50 °C. Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS. Tras la finalización, se eliminaron los volátiles a presión reducida, se ajustó el pH de la capa acuosa, si fue necesario y se lavó sucesivamente con diclorometano o acetato de etilo. Las fases orgánicas se agruparon, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto de reacción se utilizó "tal como estaba" o se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, según fuese necesario.

Ejemplo 1.5: Procedimiento General 5 – Formación de enlaces peptídicos mediada por DIC/Cu (II)

A una solución en agitación de ácido carboxílico en una cantidad mínima de *N,N*-dimetilformamida al 30 % en diclorometano se le agregó 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (0,95 equivalente), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (1,0 equivalente), la amina (0,33 equivalentes) y cloruro de cobre (II) anhidro (1,0 equivalente) en secuencia con una breve pausa entre cada reactivo adicional. Se continuó la agitación a temperatura ambiente y se controló el avance de la reacción mediante HPLC-MS. Tras la finalización, se eliminaron los volátiles a presión reducida y se purificó el material residual mediante cromatografía en gel de sílice o HPLC de fase inversa para proporcionar la amida deseada con la pureza adecuada.

Ejemplo 1.6: Procedimiento General 6 – Formación de enlaces peptídicos mediada por HATU.

A una solución en agitación del ácido carboxílico en una cantidad mínima de diclorometano o *N,N*-dimetilformamida o mezcla de estos, a 0 °C se le agregó HATU (1,05-1,2 equivalentes) y *N,N*-diisopropilamina (2-4 equivalentes) o 2,4,6-colidina (2-4 equivalentes). Se continuó la agitación durante un breve período de inducción (5-20 minutos), en cuyo momento se cargó la reacción con una solución de la amina en diclorometano. Se dejó que la reacción se calentara a temperatura ambiente y se controló su evolución mediante HPLC-MS. Tras la finalización, se eliminaron

los volátiles a presión reducida y se purificó el material residual mediante cromatografía en gel de sílice o HPLC de fase inversa para proporcionar amida con una pureza adecuada.

Ejemplo 1.7: Procedimiento General 7 – Eliminación del grupo Fmoc.

La construcción peptídica protegida por Fmoc se disolvió en piperidina al 20 % en *N,N*-dimetilformamida. Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS. Cuando finalizó, se eliminaron todos los volátiles a presión reducida para proporcionar un residuo que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice o se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Ejemplo 1.8: Procedimiento General 8 – *N*-acilación de aminas mediante el uso de ésteres activados con NHS.

A una solución de la amina en una cantidad mínima de *N,N*-dimetilformamida se le agregó el correspondiente éster que contenía *N*-hidroxisuccinimida (1,5 equivalentes) y opcionalmente diisopropilamina (2-4 equivalentes). El progreso de la reacción se controló mediante HPLC-MS (habitualmente ~16 horas) y en ese momento se retiraron todos los volátiles a presión reducida. Luego se purificó el residuo por cromatografía en gel de sílice o por HPLC de fase inversa para proporcionar el producto amida deseado.

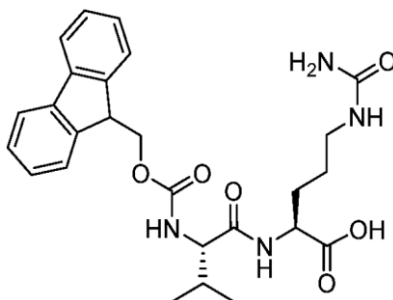
Ejemplo 1.9: Procedimiento General 9 – Eliminación del grupo Boc.

A una solución de la construcción protegida con Boc en diclorometano se le agregó ácido trifluoroacético al 10 % v/v. Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS. Después de que terminó, se retiraron los volátiles a presión reducida. Se purificó el material residual mediante HPLC de fase inversa, cromatografía en gel de sílice o precipitación a partir de una mezcla fría de metanol/diclorometano/dietiléter.

Ejemplo 1.9.1: Procedimiento General 9.1 – Eliminación del éster de *t*-Bu y grupo Boc.

A una solución de la amina protegida con Boc o éster de *t*-Bu en diclorometano se le agregó ácido trifluoroacético al 10-20% v/v. Se controló el transcurso de la reacción mediante HPLC-MS. Después de que terminó, se retiraron los volátiles a presión reducida. Se purificó el material residual mediante HPLC de fase inversa, cromatografía en gel de sílice o precipitación a partir de una mezcla fría de metanol/diclorometano/dietiléter.

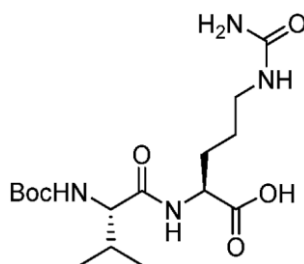
Ejemplo 1.10: Fmoc-Val-Cit-OH: Ácido (S)-2-((S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanoico, Fmoc-Valina-Citrulina-OH, Fmoc-VC-OH.



Se preparó el compuesto del título de acuerdo con Dubowchik *et al.*, Bioconjugate Chem., 2002, 13, 855-869.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,56 (s, 1H), 8,21 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,76 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 7,49 – 7,39 (m, 3H), 7,38 – 7,23 (m, 2H), 5,96 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 5,40 (s, 2H), 4,34 – 4,09 (m, 4H), 3,93 (dd, J = 9,1, 7,1 Hz, 1H), 3,39 (q, J = 7,0 Hz, 3H), 2,96 (q, J = 6,5 Hz, 2H), 1,97 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 1,86 – 1,63 (m, 1H), 1,57 (dtd, J = 13,9, 9,0, 5,4 Hz, 1H), 1,41 (dhept, J = 13,2, 6,9 Hz, 2H), 0,88 (dd, J = 13,3, 6,7 Hz, 6H). *m/z* calculado de C₂₆H₃₂N₄O₆ 497,23. hallado [M+H]⁺ 497,19.

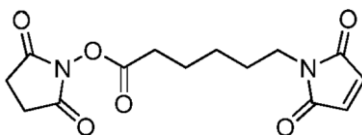
Ejemplo 1.11: Ácido (S)-2-((S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanoico, Boc-Valina-Citrulina-OH, Boc-VC-OH.



El compuesto del título se sintetizó de acuerdo con el documento US2010/0233190 A1, con los datos espectroscópicos correspondientes.

5

Ejemplo 1.12: MC-NHS: 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



A una solución en agitación de ácido 6-aminocaproico (10,0 g, 76,2 mmol, 1,0 eq) en ácido acético (75 ml), se le agregó anhídrido maleico (7,85 g, 80,0 mmol, 1,05 eq). Los sólidos tardaron unos pocos minutos en disolverse, después de aprox. 5 min, comenzaron a aparecer sólidos de color blanco. Después de una hora, la suspensión se espesó a una torta de color blanco. Este material se retiró en un embudo vitrificado y se lavó con tolueno y se secó al vacío con calor para eliminar todo rastro de ácido acético.

15

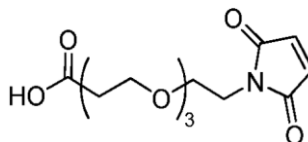
El polvo intermedio se absorbió en tolueno (250 ml), se agregó trietilamina (21,3 ml, 152 mmol, 2,0 eq) y la mezcla se calentó a reflujo con una trampa Dean-Stark. Después de 5 horas de reflujo, se enfrió la mezcla y se decantó la capa clara de tolueno del resto del residuo pegajoso en el matraz. Se eliminó el tolueno al vacío para proporcionar una sal de trietilamina de 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoato. Se volvió a disolver la sal en tolueno, y se le agregó una pequeña cantidad de ácido acético, entonces se concentró. Luego, la mezcla se absorbió en bicarbonato de sodio saturado al 50 % y se agregó HCl 1 M para ajustar el pH a 3, lo que formó un precipitado lechoso. Este se extrajo tres veces con EtOAc, los elementos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoato puro (3,08 g, 19 %).

25

A una solución en agitación de 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoato (3,08 g, 14,6 mmol, 1,0 eq) y *N*-hidroxisuccinimida (1,76 g, 15,3 mmol, 1,05 eq) en EtOAc (30 ml) a 0 °C, se le agregó diciclohexilcarbodiimida (3,16 g, 15,3 mmol, 1,05 eq). Luego se dejó que la reacción se calentara a ta. Después de 20 h, se filtró la reacción y se lavó con EtOAc y se concentró el filtrado. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto del título (2,16 g, 48 %) en forma de un aceite transparente que se solidificó lentamente hasta un sólido ceroso de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,71 (s, 2H), 3,56 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,86 (s, 4H), 2,63 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,80 (p, J = 7,4 Hz, 2H), 1,73 – 1,57 (m, 2H), 1,50 – 1,35 (m, 2H). *m/z* calculado para C₁₄H₁₆N₂O₆ = 308,10. Hallado [M+H]⁺ = 309,13. R_f = 0,28 (EtOAc al 50 %/Hex).

35

Ejemplo 1.13: MT-OH: Ácido 3-(2-(2-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)etoxi)etoxi)etoxi)propanoico



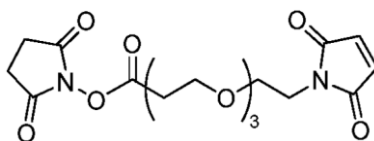
Se preparó el compuesto del título de acuerdo con Warnecke, A., Kratz, F. Bioconjugate Chemistry 2003, 14, 377-387.

40

RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,74 (s, 2H), 3,87 – 3,72 (m, 4H), 3,72 – 3,62 (m, 10H), 2,73 – 2,64 (m, 2H). *m/z* calculado para C₁₃H₂₉NO₇ = 301,12. Hallado [M+H]⁺ = 302,14.

45

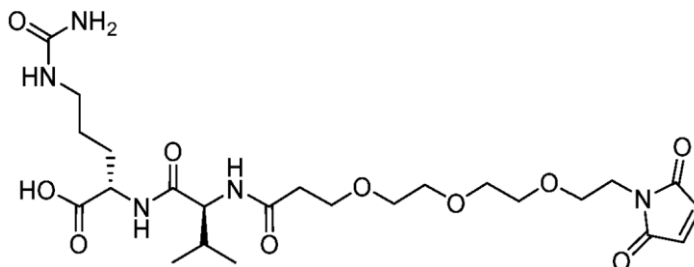
Ejemplo 1.14: MT-NHS: 3-(2-(2-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi)etoxi)etoxi)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo.



Se trató MT-OH (2,6 g, 8,6 mmol, 1,0 eq) con dicitclohexilcarbodiimida (1,87 g, 9,06 mmol, 1,05 eq) y *N*-hidroxisuccinimida (1,04 g, 6,06 mmol, 1,05 eq) en 30 ml de 5:1 de EtOAc/dioxano a ta. Después de 36 horas, la mezcla se filtró, se lavó con EtOAc y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para proporcionar el compuesto del título (309 mg, 9,0 %) en forma de un aceite transparente junto con el material de partida (1,31 g, recuperado al 50 %).

RMN ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,72 (s, 2H), 3,87 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,74 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,70 – 3,58 (m, 10H), 2,93 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,86 (s, 4H), 1,32 – 1,19 (m, 2H). *m/z* calculado para C₁₇H₂₂N₂O₉ = 398,13. Hallado [M+H]⁺ = 399,15, [M+Na]⁺ = 421,14. R_f = 0,59 (10 % (AcOH al 5 %/MeOH)/Hex al 10 %/CH₂Cl₂).

Ejemplo 1.15: MT-VC-OH: Ácido (14*R*,17*R*)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12,15-dioxo-17-(3-ureidopropil)-3,6,9-trioxa-13,16-diazaoctadecan-18-oico.



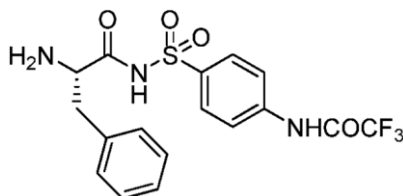
Método A

A una solución de ácido (*R*)-2-((*R*)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanoico (Boc-VC-OH, 0,600 g, 1,602 mmol) en diclorometano (2,5 ml) se le agregó ácido trifluoroacético (2,5 ml). El transcurso de la reacción se monitoreó mediante HPLC para verificar el consumo del material de partida y luego se concentró a presión reducida, se volvió a suspender en tolueno, se concentró a presión reducida y se dejó al alto vacío durante 4 horas. Una parte del producto (H-VC-OH, TFA, 0,5 g, 1,287 mmol) se suspendió en 1,4-dioxano (0,5 ml) y se agregó MT-NHS (0,512 g, 1,287 mmol) en una sola porción, seguido por diisopropiletilamina (0,90 ml, 4 equiv) y la reacción se dejó en agitación durante la noche. La reacción se llevó a cabo hasta sequedad y el aceite resultante se disolvió en metanol antes de ser purificado mediante HPLC preparativa. La liofilización de las fracciones deseadas proporcionó el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco (0,351 g).

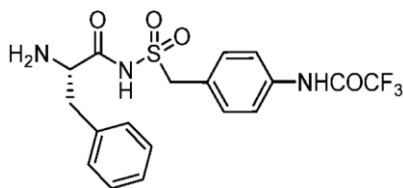
Método B

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento establecido en el documento WO 2015095953 A1.

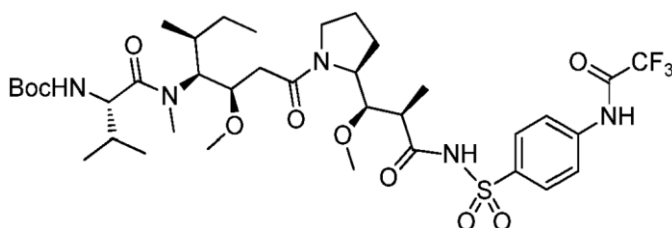
Ejemplo 1.16: (S)-2-amino-3-fenil-N-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonil)propanamida (Compuesto 1)



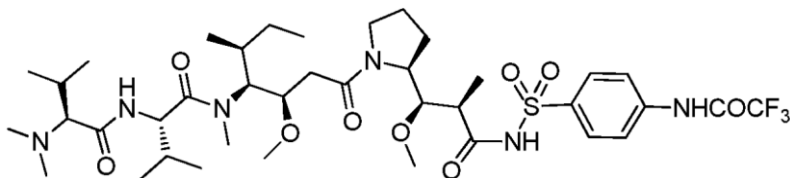
Se preparó a partir de Boc-fenilalanina y 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-sulfamoilfenil)acetamida, de acuerdo con los procedimientos generales 2 y 9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,42 (s, 1H), 7,84 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,73 - 7,64 (m, 1H), 7,69 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,24 - 7,14 (m, 3H), 7,13 - 7,06 (m, 2H), 3,65 - 3,60 (m, 1H), 3,06 (dd, J = 14,2, 5,1 Hz, 1H), 2,91 (dd, J = 14,1, 7,1 Hz, 1H). *m/z* calculado de C₁₇H₁₆F₃N₃O₄S = 415,08, hallado [M+H]⁺ = 416,5.

Ejemplo 1.17: (S)-2-amino-3-fenil-N-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)benzil)sulfonil)propanamida (Compuesto 2)

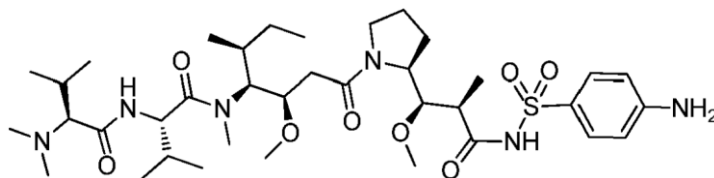
Se preparó a partir de Boc-fenilalanina y 2,2,2-trifluoro-N-(4-sulfamoilfenil)acetamida (Ejemplo 1.39), de acuerdo con los procedimientos generales 3 y 9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,76 – 7,71 (m, 2H), 7,58 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,36 – 7,21 (m, 8H), 4,34 (d, J = 13,1 Hz, 1H), 4,30 (d, J = 13,1 Hz, 1H), 3,62 (dd, J = 8,2, 4,6 Hz, 1H), 3,21 – 3,09 (m, 1H), 2,89 (dd, J = 14,3, 8,3 Hz, 1H). *m/z* calculado de C₁₈H₁₈F₃N₃O₄S = 429,10, hallado [M+H]⁺ = 430,7.

Ejemplo 1.18: (S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 3).

Se sintetizó el compuesto del título a partir de Boc-Val-Dip-Dap-OH (0,08 g) disponible en el mercado y 2,2,2-trifluoro-N-(4-sulfamoilfenil)acetamida mediante el uso del procedimiento general 2. *m/z* calculado de C₃₇H₅₈F₃N₅O₁₀S = 821,39, hallado [M+H]⁺ = 823,04.

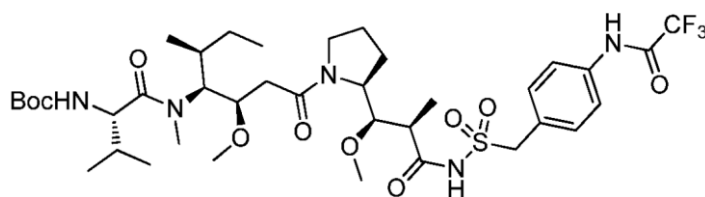
Ejemplo 1.19: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 4).

Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 3 y *N,N*-dimetil valina, mediante el uso de los procedimientos generales 9 y 6. *m/z* calculado de C₃₉H₆₃F₃N₆O₉S = 848,43, hallado [M+H]⁺ = 850,11.

Ejemplo 1.20: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-aminofenilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 5)

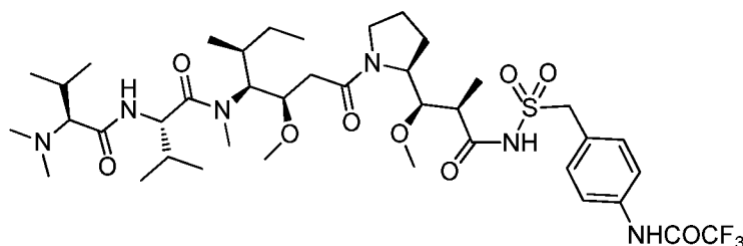
Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 4, mediante el uso del procedimiento general 4. *m/z* calculado de C₃₇H₆₄N₆O₈S = 752,45, hallado [M+H]⁺ = 754,16.

Ejemplo 1.21: (S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)metilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 6).



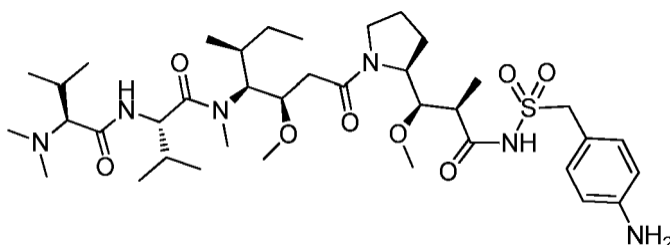
Se preparó el compuesto del título a partir de Boc-Val-Dil-Dap-OH disponible en el mercado, mediante el procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{38}H_{60}F_3N_5O_{10}S$ = 835,40, hallado $[M+H]^+$ = 836,7.

Ejemplo 1.22: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)metilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 7).



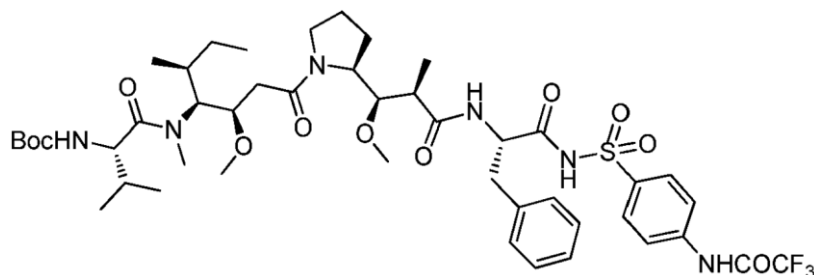
El compuesto del título se preparó a partir del compuesto 6, mediante el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{40}H_{65}F_3N_6O_9S$ = 862,45, hallado $[M+H]^+$ = 863,2.

Ejemplo 1.23: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)metilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 8)



El compuesto del título se preparó a partir del compuesto 7, mediante el procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{38}H_{66}N_6O_8S$ = 766,47, hallado $[M-C_7H_8O_2S+H]^+$ = 599,0 (fragmentación de metida quinona y pérdida de 4-aminobencilsulfonato).

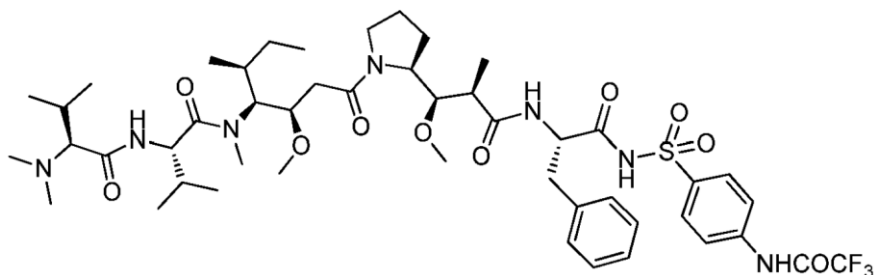
Ejemplo 1.24: (S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de *terc*-butilo (Compuesto 9).



Se sintetizó el compuesto del título a partir de Boc-Val-Dip-Dap-OH disponible en el mercado (0,07 g) y el Compuesto 1, mediante el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{46}H_{67}F_3N_6O_{11}S$ = 968,45, hallado $[M+Na]^+$ = 992,1.

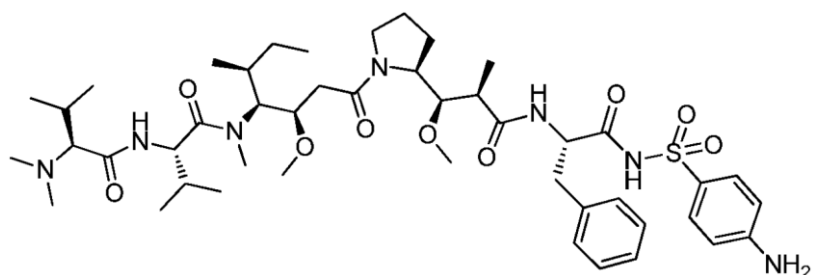
Ejemplo 1.25: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilsulfonamido)propan-2-

ilamino)propil)pirrolidín-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 10).



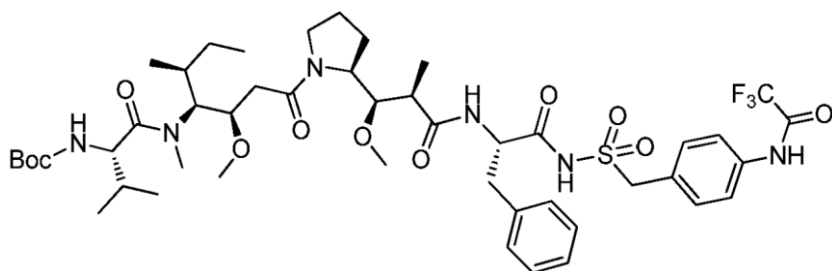
5 Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 9 (110 mg) y *N,N*-dimetil valina, mediante el uso de los procedimientos generales 9 y 6. *m/z* calculado de $C_{48}H_{72}F_3N_7O_{10}S$ = 995,50, hallado $[M+H]^+$ 997,3.

Ejemplo 1.26: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-aminofenilsulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidín-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 11).



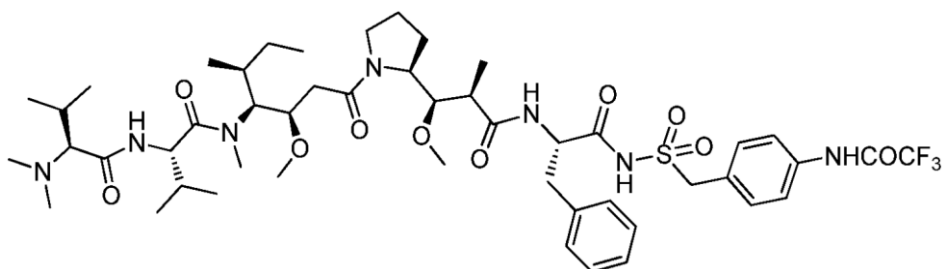
15 Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 10 (100 mg), mediante el uso del procedimiento general 4. *m/z* calculado de $C_{46}H_{73}N_7O_9S$ = 899,52, hallado $[M+H]^+$ 901,3.

Ejemplo 1.27: (S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilmetilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidín-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de *tert*-butilo (Compuesto 12).



25 Se preparó el compuesto del título a partir de Boc-Val-Dil-Dap-OH disponible en el mercado y el compuesto 2, mediante el procedimiento general 6. *m/z* calculado de $C_{47}H_{69}F_3N_6O_{11}S$ = 982,47, hallado $[M+Na]^+$ = 1006,2.

Ejemplo 1.28: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenilmetilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidín-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 13).

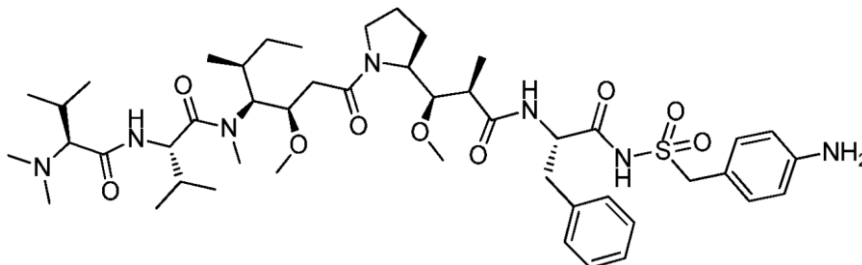


30

v

El compuesto del título se preparó a partir del compuesto 12, mediante el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{49}H_{74}F_3N_7O_{10}S = 1009,52$ hallado $[M+H]^+ = 1011,0$.

Ejemplo 1.29: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-aminofenilmetilsulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 14).



El compuesto se preparó a partir del compuesto 13, mediante el procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{47}H_{75}N_7O_9S = 913,53$ hallado $[M-C_7H_8O_2S+Na]^+ = 768,1$ (fragmentación de metida quinona y pérdida de 4-aminobencilsulfonato)

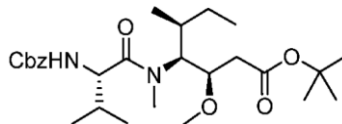
Ejemplo 1.30: Procedimiento general 10 – Hidrogenación

A una solución de la muestra que se reduciría en metanol, etanol, ácido acético, acetato de etilo, una mezcla de estos u otro disolvente adecuado, se le agregó un agitador magnético. El matraz que contenía la solución en agitación se equipó con un adaptador de línea de gas de dos vías y se evacuó a presión reducida y se cargó con nitrógeno. Este proceso se repitió 3 veces. Se agregó Pd al 10 % /C ya sea como un sólido o una suspensión, habitualmente paladio al 10 % molar en relación con el reactivo. El recipiente se evacuó nuevamente a presión reducida y se cargó con un globo que contenía hidrógeno. La reacción se monitoreó para verificar su finalización mediante HPLC-MS y, al finalizar, se filtró a través de una almohadilla de celite en un embudo de filtrado. EL filtrado se concentró a presión reducida y se utilizó como estaba o se purificó por medio de cromatografía de HPLC preparativa o gel de sílice.

Ejemplo 1.31: 3-(2-(2-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi)etoxi)etoxi)propanoato de perfluorofenilo.

A una solución en agitación de ácido 3-(2-(2-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi)etoxi)etoxi)propanoico (Ejemplo 1.13) (2,28 g, 7,57 mmol) en diclorometano (100 ml) se le agregó clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (1,59 g, 1,1 equiv) y pentafluorofenol (1,53 g, 1,1 equiv). Se dejó en agitación la reacción durante la noche, en cuyo momento la HPLC-MS indicó que ya no quedaba material de partida ($R_t = 5,30$ min, 490,4 m/z , gradiente completo). La mezcla de reacción en bruto se diluyó con bicarbonato de sodio saturado (~ 20 ml) y la mezcla se transfirió a un embudo de separación. La fase orgánica se lavó con salmuera (~ 50 ml), se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró para dar un aceite de color ligeramente amarillo. El aceite se disolvió en una cantidad mínima de diclorometano y se cargó en una columna de gel de sílice de 100 g para la purificación (Isolera, EtOAc al 10-100% en hexanos en 12 volúmenes de columna). Las fracciones que contenían el material deseado se agruparon y se concentraron a presión reducida para proporcionar un aceite incoloro (3,32 g, 94 %).

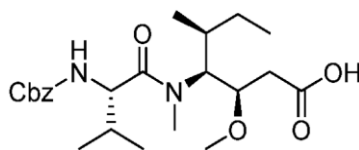
Ejemplo 1.32: 4-((S)-2-(benciloxycarbonilamino)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoato de (3R,4S,5S)-terc-butilo, Cbz-Val-Dil-OtBu.



Se preparó el compuesto del título a partir de H-Dil-OtBu • HCl y Cbz-Val-OH disponible en el mercado, mediante el procedimiento general 6.

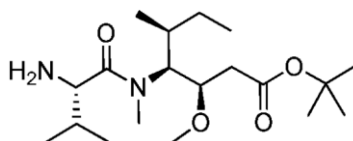
RMN 1H (400 MHz, cloroformo-d) δ 7,40 – 7,30 (m, 5H), 5,54 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 5,12 (s, 2H), 4,73 (s, 1H), 4,54 (dd, $J = 9,2, 5,6$ Hz, 1H), 3,91 (s, 1H), 3,37 (s, 3H), 2,98 (s, 3H), 2,47 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 2,33 (dd, $J = 15,6, 9,1$ Hz, 1H), 2,07 – 1,96 (m, 1H), 1,84 – 1,60 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 1,45 – 1,32 (m, 2H), 1,04 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,98 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,94 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,86 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H). m/z calculado de $C_{27}H_{44}N_2O_6 = 492,32$ hallado $[M+H]^+ = 515,8$ $[M+Na]^+$. $R_f = 0,78$ (EtOAc al 50 %/Hex).

Ejemplo 1.33: Ácido (3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoico, Cbz-Val-Dil-OH.



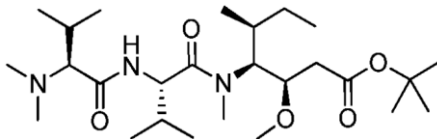
5 Se preparó el compuesto del título a partir de Cbz-Val-Dil-OtBu (Ejemplo 1.32), mediante el uso del procedimiento general 9. *m/z* calculado de $C_{23}H_{36}N_2O_6$ = 436,26 hallado $[M+Na]^+$ 459,81. RMN 1H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 7,47 – 7,22 (m, 5H), 5,21 – 4,99 (m, 2H), 4,83 – 4,54 (m, 1H), 4,39 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,96 (s, 1H), 3,43 – 3,33 (s, 3H), 3,07 (s, 3H), 2,63 (dd, *J* = 15,9, 2,9 Hz, 1H), 2,38 (dd, *J* = 15,8, 9,3 Hz, 1H), 2,15 – 1,95 (m, 1H), 1,83 (s, 1H), 1,52 – 1,30 (m, 1H), 1,07 – 0,91 (m, 9H), 0,85 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

10 **Ejemplo 1.34:** 4-((*S*)-2-amino-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoato de (3*R*,4*S*,5*S*)-*tert*-butilo, H-Val-Dil-OtBu.



15 El compuesto del título se generó a partir de Cbz-Val-Dil-OtBu (438 mg, 0,889 mmol) de acuerdo con el procedimiento general 10, para obtener el producto deseado (288 mg, 90 %) en forma de una película fina. RMN 1H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 4,76 (s, 1H), 3,92 (s, 1H), 3,50 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,92 (s, 3H), 2,48 (dd, *J* = 15,7, 3,1 Hz, 1H), 2,35 (dd, *J* = 15,6, 8,8 Hz, 1H), 1,93 (dq, *J* = 10,9, 6,5 Hz, 1H), 1,82 – 1,60 (m, 1H), 1,51 – 1,46 (m, 11H), 1,05 – 0,85 (m, 12H). *m/z* calculado de $C_{19}H_{38}N_2O_4$ = 358,28 hallado $[M+Na]^+$ = 381,8.

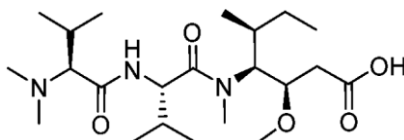
20 **Ejemplo 1.35:** 4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoato de (3*R*,4*S*,5*S*)-*tert*-butilo, Dov-Val-Dil-OtBu.



25 Se preparó el compuesto del título a partir de H-Val-Dil-OtBu y *N,N*-dimetilvalina, mediante el uso del procedimiento general 6.

30 RMN 1H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,09 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,79 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,00 – 3,81 (m, 1H), 3,75 (s, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,26 (s, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,74 (s, 6H), 2,49 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 2,38 – 2,20 (m, 2H), 2,13 – 2,05 (m, 1H), 1,81 – 1,62 (m, 1H), 1,51 – 1,43 (m, 10H), 1,33 (s, 1H), 1,18 – 0,89 (m, 15H), 0,83 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). *m/z* calculado de $C_{26}H_{51}N_3O_5$ = 485,38 hallado $[M+Na]^+$ = 508,9. *R*_f = 0,36 (MeOH al 5 %/CH₂Cl₂).

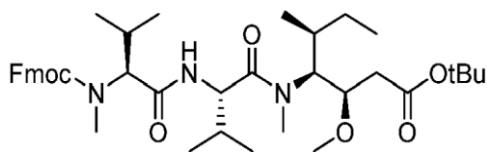
35 **Ejemplo 1.36:** Ácido 4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoico de (3*R*,4*S*,5*S*)-*tert*-butilo, Dov-Val-Dil-OH.



40 Se preparó el compuesto del título a partir de Dov-Val-Dil-OtBu, mediante el uso del procedimiento general 9.

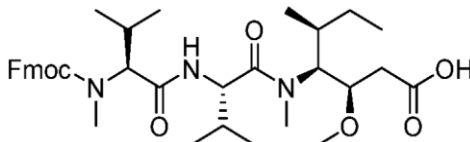
45 RMN 1H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 4,98 (t, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,65 (dd, *J* = 9,3, 3,1 Hz, 1H), 4,08 (d, *J* = 10,6 Hz, 1H), 3,61 – 3,53 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 3,24 (s, 3H), 3,13 (s, 3H), 2,93 (s, 3H), 2,77 (dd, *J* = 17,0, 9,8 Hz, 1H), 2,66 (dd, *J* = 17,3, 1,9 Hz, 1H), 2,31 – 2,26 (m, 1H), 2,07 (dt, *J* = 10,8, 5,5 Hz, 1H), 1,97 – 1,85 (m, 1H), 1,29 – 1,24 (m, 1H), 1,13 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,08 – 1,01 (m, 6H), 1,01 – 0,95 (m, 6H), 0,90 – 0,81 (m, 1H), 0,77 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H) *m/z* calculado de $C_{22}H_{43}N_3O_5$ = 429,32, hallado $[M+H]^+$ = 430,8.

Ejemplo 1.37: (5*S*,8*S*,11*S*,12*R*)-11-((*S*)-*sec*-butil)-1-(9*H*-fluoren-9-il)-5,8-diisopropil-12-metoxi-4,10-dimetil-3,6,9-trioxo-2-oxa-4,7,10-triazatetradecan-14-oato de *tert*-butilo, Fmoc-(Me)Val-Val-Dil-OtBu.



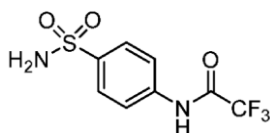
El compuesto del título se preparó a partir de Fmoc-(Me)-(L)-Valina-OH y H-Val-Dil-OtBu, mediante el procedimiento general 6. *m/z* calculado de C₄₀H₅₉N₃O₇ = 693,44, hallado [M+H]⁺ 694,98.

Ejemplo 1.38: Ácido (5*S*,8*S*,11*S*,12*R*)-11-((*S*)-*sec*-butil)-1-(9*H*-fluoren-9-il)-5,8-diisopropil-12-metoxi-4,10-dimetil-3,6,9-trioxo-2-oxa-4,7,10-triazatetradecan-14-oico, Fmoc-(Me)Val-Val-Dil-OH.



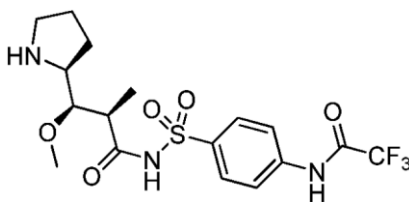
Se preparó el compuesto del título a partir de Fmoc-(Me)Val-Val-Dil-OtBu, mediante el uso del procedimiento general 9. *m/z* calculado de C₃₆H₅₁N₃O₇ = 637,37, hallado [M+H]⁺ 638,91.

Ejemplo 1.39: 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-sulfamoilfenil)acetamida.



A una suspensión en agitación de sulfanilamida (1,72 g, 10 mmol) en dioxano (20 ml) se le agregó anhídrido trifluoroacético (1,69 ml, 1,2 eq). Los sólidos se disolvieron lentamente para crear una solución uniforme y después de un breve periodo de tiempo, se formó un nuevo conjunto de sólidos. La reacción se diluyó con éter dietílico (100 ml) y la suspensión resultante se filtró en un embudo Büchner. Los sólidos se recogieron y se secaron a presión reducida para proporcionar el compuesto del título con pureza adecuada para su uso (2,60 g, 97 %).

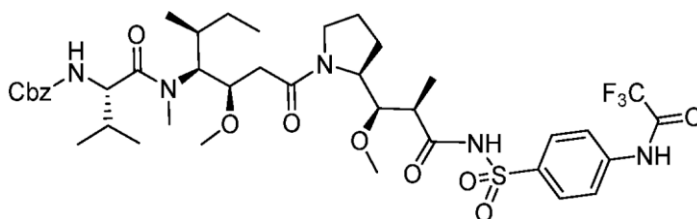
Ejemplo 1.40: (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-((*S*)-pirrolidin-2-il)-*N*-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonil)propanamida.



El compuesto del título se preparó a partir de Boc-Dap-OH disponible en el mercado y 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-sulfamoilfenil)acetamida, mediante los procedimientos generales 2 y 9.

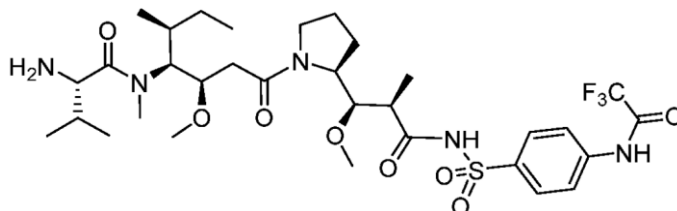
RMN ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 8,06 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 7,92 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 3,69 (dd, J = 6,6, 3,0 Hz, 1H), 3,48 (s, 3H), 3,51 – 3,39 (m, 1H), 3,33 – 3,14 (m, 2H), 2,64 (p, J = 7,0 Hz, 1H), 2,06 – 1,68 (m, 4H), 1,19 (d, J = 7,1 Hz, 3H). *m/z* calculado de C₁₇H₂₂F₃N₃O₅S = 437,12, hallado [M+H]⁺ = 438,6.

Ejemplo 1.41: ((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de bencilo



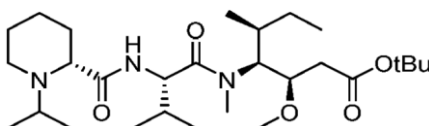
Se preparó el compuesto del título a partir de Cbz-Val-Dil-OH y el producto del ejemplo 1.40, de acuerdo con el procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{40}H_{56}F_3N_5O_{10}S = 855,37$, hallado $[M+H]^+ 857,07$.

Ejemplo 1.42: (S)-2-amino-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida.



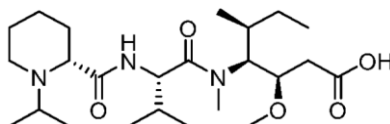
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.41, de acuerdo con el procedimiento general 10. m/z calculado de $C_{32}H_{50}F_3N_5O_8S = 721,33$, hallado $[M+H]^+ 722,70$.

Ejemplo 1.43: (3R,4S,5S)-4-((S)-2-((R)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoato de *tert*-butilo.



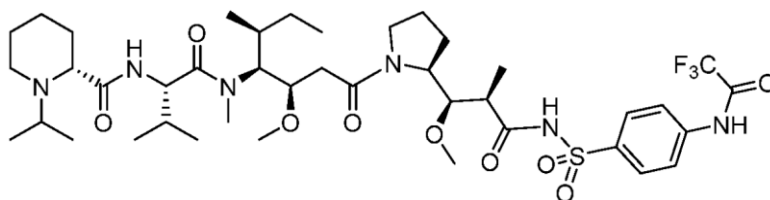
El compuesto del título se preparó a partir de ácido (R)-1-isopropilpiperidin-2-carboxílico y H-Val-Dil-OtBu, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{28}H_{53}N_3O_5 = 511,40$, hallado $[M+H]^+ 512,77$.

Ejemplo 1.44: Ácido (3R,4S,5S)-4-((S)-2-((R)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoico.



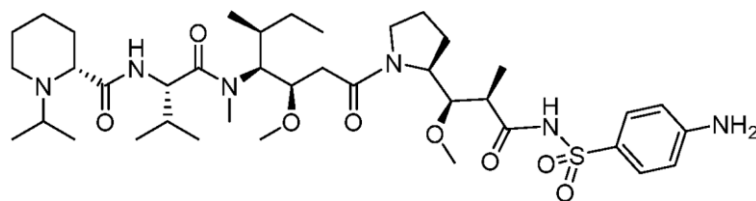
Se preparó el compuesto del título a partir de *tert*-butilo, el producto del ejemplo 1.43, de acuerdo con el procedimiento general 9. m/z calculado de $C_{24}H_{45}N_3O_5 = 455,34$, hallado $[M+H]^+ 456,70$.

Ejemplo 1.45: (R)-1-isopropil-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)piperidin-2-carboxamida (Compuesto 15).



Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.40 y el producto del ejemplo 1.44, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{41}H_{65}F_3N_6O_9S = 874,45$, hallado $[M+H]^+ 876,0$.

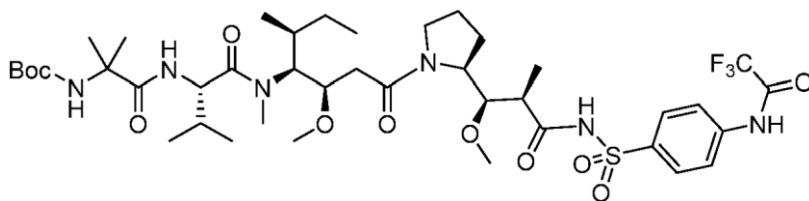
Ejemplo 1.46: (*R*)-*N*-((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamida (Compuesto 16).



El compuesto del título se preparó a partir del compuesto 15, de acuerdo con el procedimiento general 4. *m/z* calculado de $C_{39}H_{66}N_6O_8S = 778,47$, hallado $[M+H]^+ 780,06$.

5

Ejemplo 1.47: (1-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)carbamato de *tert*-butilo

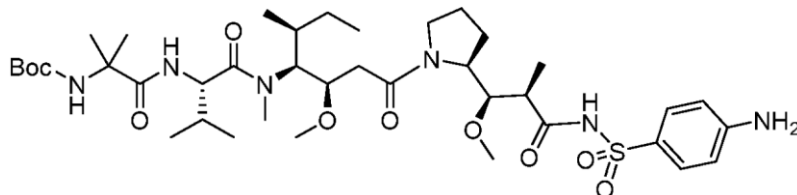


10

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.42 y ácido α -(Boc-amino)isobutírico disponible en el mercado, de acuerdo con el procedimiento general 6. *m/z* calculado de $C_{41}H_{65}F_3N_6O_{11}S = 906,44$, hallado $[M+H]^+ 907,80$.

15

Ejemplo 1.48: 1-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)carbamato de *tert*-butilo.

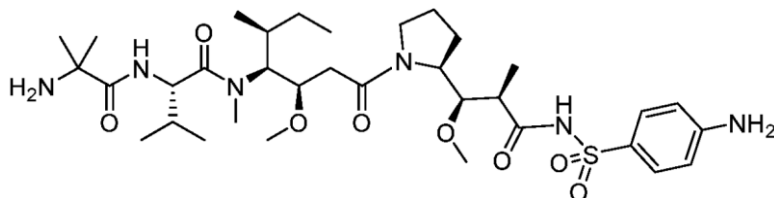


20

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.47, de acuerdo con el procedimiento general 4. *m/z* calculado de $C_{39}H_{66}N_6O_{10}S = 810,46$, hallado $[M+H]^+ 811,84$.

25

Ejemplo 1.49: (*S*)-2-(2-amino-2-metilpropanamido)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 17).

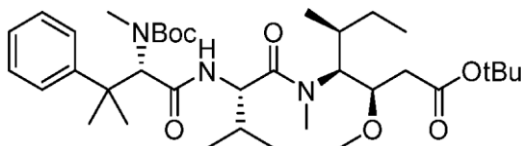


30

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.48, de acuerdo con el procedimiento general 9. *m/z* calculado de $C_{34}H_{58}N_6O_8S = 710,40$, hallado $[M+H]^+ 711,77$.

35

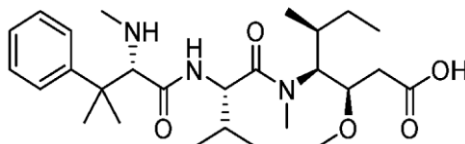
Ejemplo 1.50: (6*S*,9*S*,12*S*,13*R*)-12-((*S*)-*sec*-butil)-9-isopropil-13-metoxi-2,2,5,11-tetrametil-4,7,10-trioxa-6-(2-fenilpropan-2-il)-3-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oato de *tert*-butilo.



El compuesto del título se preparó a partir de ácido (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)(metil)amino)-3-metil-3-fenilbutanoico (preparado de acuerdo con el documento WO 2015095953 A1) y H-Val-Dil-OtBu, mediante el uso del procedimiento general 6. *m/z* calculado de C₃₆H₆₁N₃O₇ = 647,45, hallado [M+H]⁺ 649,12.

5

Ejemplo 1.51: Ácido (3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-*N*,3-dimetil-2-((*S*)-3-metil-2-(metilamino)-3-fenilbutanamido)butanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoico.

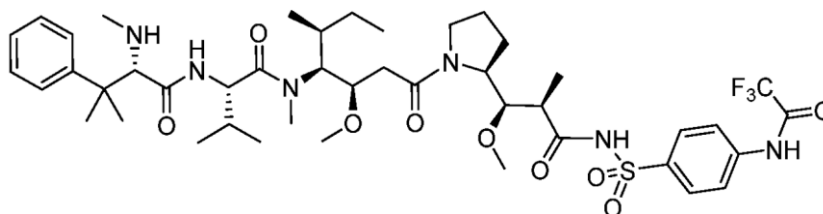


10

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.50, de acuerdo con el procedimiento general 9. *m/z* calculado de C₂₇H₄₅N₃O₅ = 491,34, hallado [M+H]⁺ 492,73.

Ejemplo 1.52: (1-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)carbamato de *tert*-butilo (Compuesto 18).

15

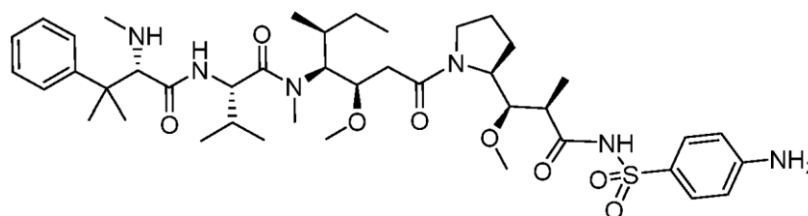


20

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.51 y el producto del ejemplo 1.42, de acuerdo con el procedimiento general 6. *m/z* calculado de C₄₄H₆₅F₃N₆O₉S = 910,45, hallado [M+H]⁺ 911,91.

Ejemplo 1.53 (*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*,3-dimetil-2-((*S*)-3-metil-2-(metilamino)-3-fenilbutanamido)butanamida (Compuesto 19).

25

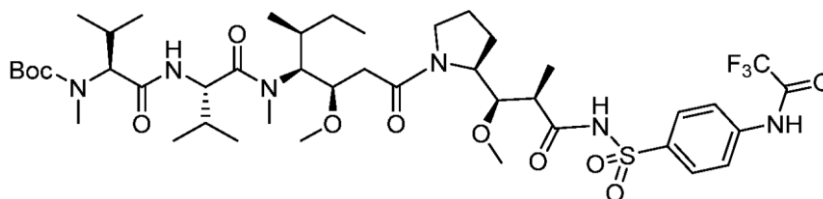


Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.52, mediante el uso del procedimiento general 4. *m/z* calculado de C₄₂H₆₆N₆O₈S = 814,47, hallado [M+H]⁺ 816,08.

30

Ejemplo 1.54: (((*S*)-(-1-(((*S*)-1-(((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbomato de *tert*-butilo

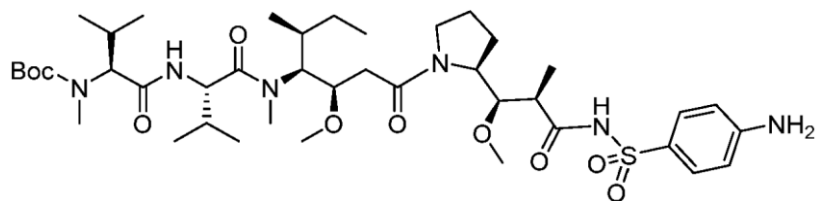
35



Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.42 y Boc-(Me)-(L)-Valina-OH disponible en el mercado, mediante el uso del procedimiento general 6. *m/z* calculado de C₄₃H₆₉F₃N₆O₁₁S = 934,47, hallado [M+H]⁺ 935,87.

40

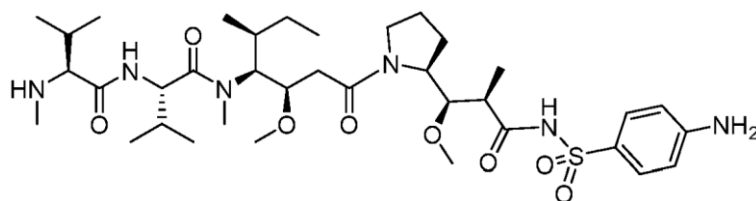
Ejemplo 1.55: ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de *terc*-butilo.



5

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.54, mediante el uso del procedimiento general 4. *m/z* calculado de $C_{41}H_{70}N_6O_{10}S$ = 838,49, hallado $[M+H]^+$ 839,85.

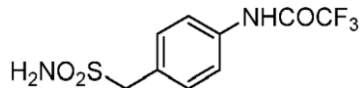
Ejemplo 1.56: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)butanamido)butanamida (Compuesto 20).



15

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.54, mediante el uso del procedimiento general 9. *m/z* calculado de $C_{36}H_{62}N_6O_8S$ = 738,43, hallado $[M+H]^+$ 739,84.

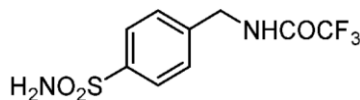
Ejemplo 1.57: 2,2,2-Trifluoro-N-(4-(sulfamoilmetil)fenil)acetamida.



20

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el documento WO 2015095953 A1.

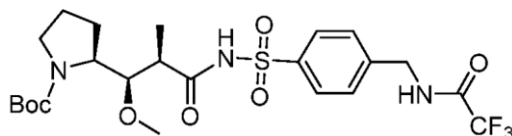
Ejemplo 1.58: 2,2,2-Trifluoro-N-(4-sulfamoilbencil)acetamida.



25

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el documento WO 2015095953 A1.

Ejemplo 1.59: (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo.

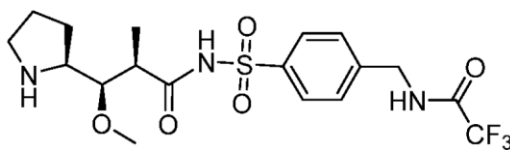


35

El compuesto del título se preparó a partir de Boc-dolaprolina-OH disponible en el mercado y 2,2,2-trifluoro-N-(4-sulfamoilbencil)acetamida, mediante el uso del procedimiento general 2. *m/z* calculado de $C_{23}H_{32}F_3N_3O_7S$ = 551,19, hallado $[M+Na]^+$ 574,92.

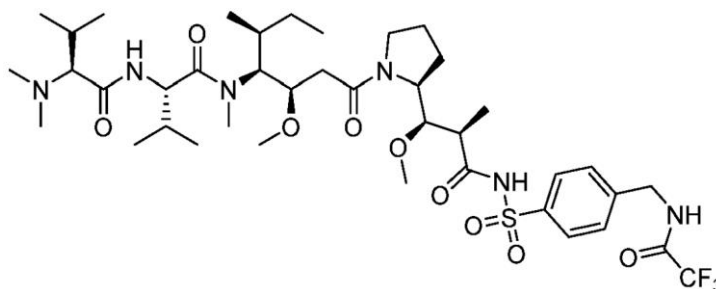
40

Ejemplo 1.60: (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-((*S*)-pirrolidin-2-il)-*N*-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonil)propanamida.



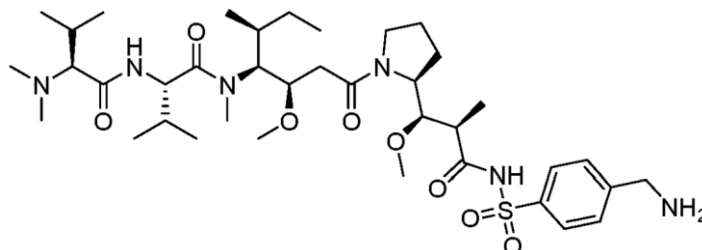
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.59, mediante el uso del procedimiento general 9. *m/z* calculado de $C_{18}H_{24}F_3N_3O_5S = 451,14$, hallado $[M+H]^+ 452,71$.

Ejemplo 1.61: (*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 21).



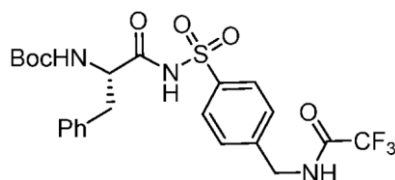
Se preparó el compuesto del título a partir de Dov-Val-Dil-OH (Ejemplo 1.36) y el producto del ejemplo 1.60, mediante el uso del procedimiento general 6. *m/z* calculado de $C_{40}H_{65}F_3N_6O_9S = 862,45$, hallado $[M+H]^+ 863,80$.

Ejemplo 1.62: (*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-((4-(aminometil)fenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 22).

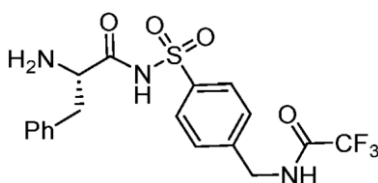


El compuesto del título se preparó a partir del compuesto 51, de acuerdo con el procedimiento general 4. *m/z* calculado de $C_{38}H_{66}N_6O_8S = 766,47$, hallado $[M+H]^+ 767,85$.

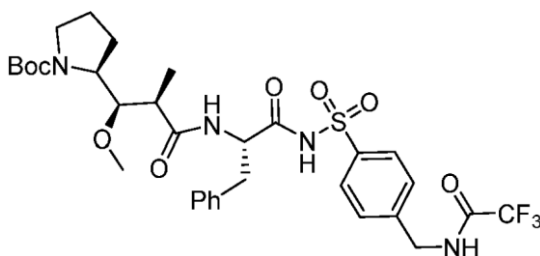
Ejemplo 1.63: (*S*)-(1-oxo-3-fenil-1-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propan-2-il)carbamato de *tert*-butilo (Compuesto 63)



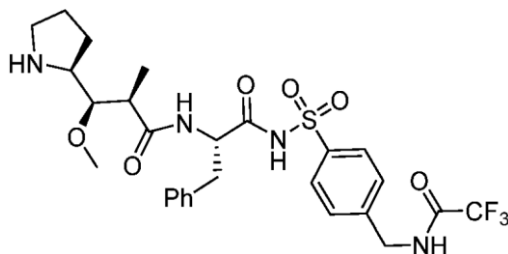
El compuesto del título se preparó a partir de Boc-(*L*)-Phe-OH y 2,2,2-trifluoro-*N*-(4-sulfamoylbencil)acetamida (Ejemplo 1.58), mediante el uso del procedimiento general 2. *m/z* calculado de $C_{23}H_{26}F_3N_3O_6S = 529,15$, hallado $[M+Na]^+ 552,52$.

Ejemplo 1.64: (S)-2-amino-3-fenil-N-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonil)propanamida.

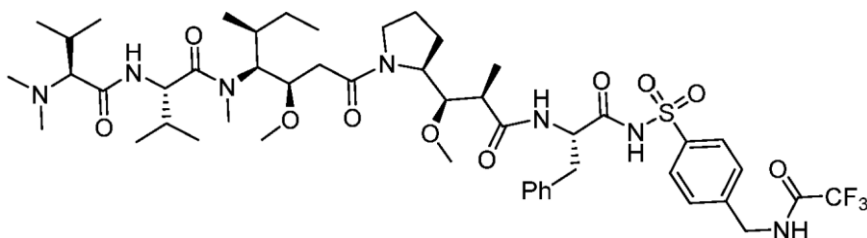
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.63, mediante el uso del procedimiento general 9. $C_{18}H_{18}F_3N_3O_4S$ m/z calculado de = 429,10, hallado $[M+H]^+$ 430,51. RMN 1H (400 MHz, metanol- d_4) δ 8,05 – 7,98 (m, 2H), 7,56 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,33 – 7,22 (m, 3H), 7,09 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 4,59 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 4,06 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,15 (dd, J = 14,1, 6,3 Hz, 1H), 3,03 (dd, J = 14,2, 7,4 Hz, 1H).

Ejemplo 1.65: (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-1-oxo-3-fenil-1-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propan-2-il)amino)propil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo.

Se preparó el compuesto del título a partir de Boc-dolaprolina-OH disponible en el mercado y el producto del ejemplo 1.64, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{32}H_{41}F_3N_4O_8S$ = 698,26, hallado $[M+Na]^+$ 721,62.

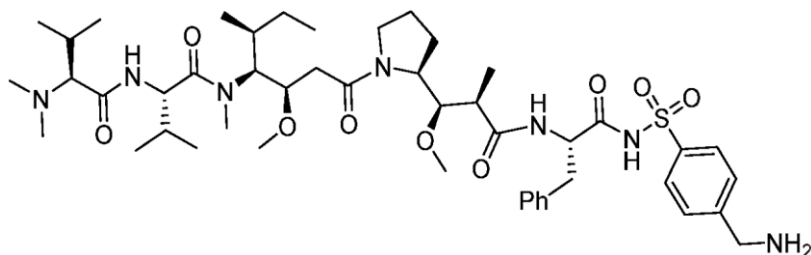
Ejemplo 1.66: (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-(((S)-1-oxo-3-fenil-1-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propan-2-il)-3-((S)-pirrolidin-2-il)propanamida.

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.65, mediante el uso del procedimiento general 9. m/z calculado de $C_{27}H_{33}F_3N_4O_6S$ = 598,21, hallado $[M+H]^+$ 599,62.

Ejemplo 1.67: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-1-oxo-3-fenil-1-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propan-2-il)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 23).

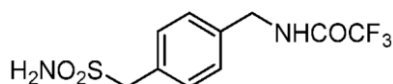
Se preparó el compuesto del título a partir de Dov-Val-Dil-OH (Ejemplo 1.36) y el producto del ejemplo 1.66, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{49}H_{74}F_3N_7O_{10}S$ = 1009,52, hallado $[M+H]^+$ 1011,04.

Ejemplo 1.68: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((S)-1-((4-(aminometil)fenil)sulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 24).



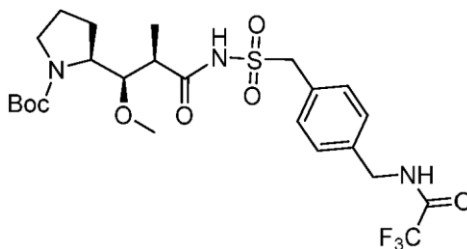
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.67, de acuerdo con el procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{47}H_{75}N_7O_9S$ = 913,53, hallado $[M+H]^+$ 915,09.

Ejemplo 1.69: 2,2,2-Trifluoro-N-(4-(sulfamoilmetil)encil)acetamida.



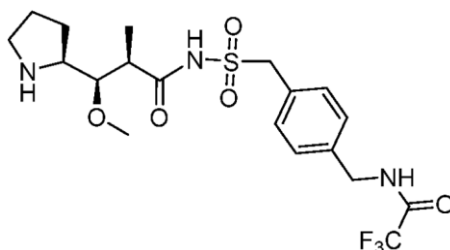
El compuesto del título se preparó de acuerdo con el documento WO 2015095953 A1.

Ejemplo 1.70: (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo.



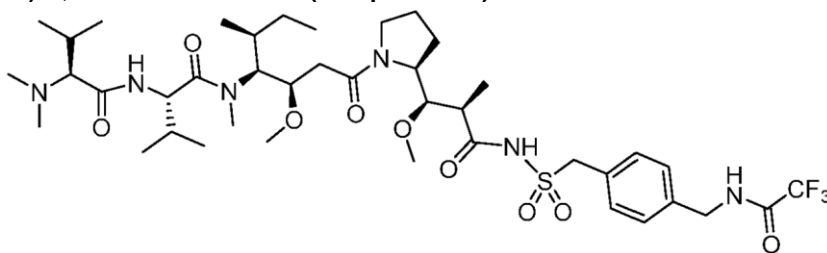
El compuesto del título se preparó a partir de Boc-dolaprolina-OH disponible en el mercado y 2,2,2-trifluoro-N-(4-(sulfamoilmetil)encil)acetamida (Ejemplo 1.69), mediante el uso del procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{24}H_{34}F_3N_3O_7S$ = 565,21, hallado $[M+Na]^+$ 588,75.

Ejemplo 1.71: (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-((S)-pirrolidin-2-il)-N-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)encil)sulfonyl)propanamida.



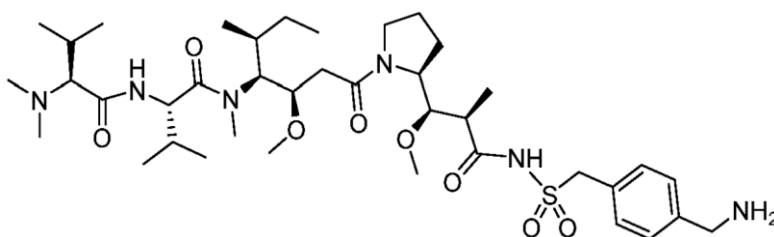
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.69, de acuerdo con el procedimiento general 9. m/z calculado de $C_{19}H_{26}F_3N_3O_5S$ = 465,15, hallado $[M+H]^+$ 466,77.

Ejemplo 1.72: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 25).



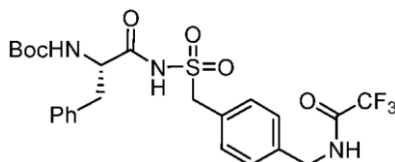
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.36 y el producto del ejemplo 1.71, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{41}H_{67}F_3N_6O_9S$ = 876,46, hallado $[M+H]^+$ 878,22.

Ejemplo 1.73: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((4-(aminometil)fenil)metil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 26).



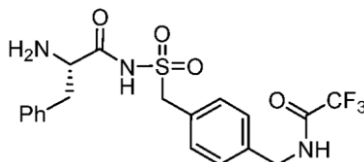
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.72, de acuerdo con el procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{39}H_{68}N_6O_8S$ = 780,48, hallado $[M+H]^+$ 782,20.

Ejemplo 1.74: (S)-(1-oxo-3-fenil-1-(((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propan-2-il)carbamato de *terc*-butilo.



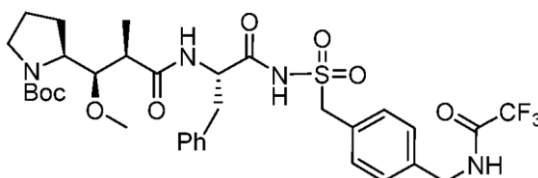
El compuesto del título se preparó a partir de Boc-(L)-Phe-OH y 2,2,2-trifluoro-N-(4-(sulfamoilmetil)bencil)acetamida (Ejemplo 1.69), de acuerdo con el procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{24}H_{28}F_3N_3O_6S$ = 543,17, hallado $[M+Na]^+$ 566,78.

Ejemplo 1.75: (S)-2-amino-3-fenil-N-((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)bencil)sulfonil)propanamida.



Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.74, mediante el uso del procedimiento general 9. m/z calculado de $C_{19}H_{20}F_3N_3O_4S$ = 443,11, hallado $[M+H]^+$ 444,55. RMN 1H (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,46 – 7,27 (m, 9H), 4,51 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 3,84 (dd, J = 9,3, 4,3 Hz, 1H), 3,29 (dd, 1H), 2,95 (dd, J = 14,5, 9,4 Hz, 1H).

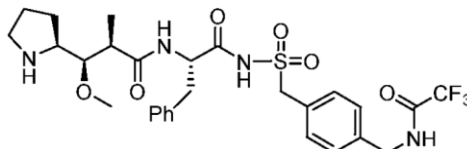
Ejemplo 1.76: (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((S)-1-oxo-3-fenil-1-(((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propan-2-il)amino)propil)pirrolidin-1-carboxilato.



Se preparó el compuesto del título a partir de Boc-dolaprolina-OH disponible en el mercado y el producto del ejemplo 1.75, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{33}H_{43}F_3N_4O_8S$ = 712,28, hallado $[M+Na]^+$ 735,65.

5

Ejemplo 1.77: (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-*N*-((*S*)-1-oxo-3-fenil-1-(((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propan-2-il)-3-((*S*)-pirrolidin-2-il)propanamida.

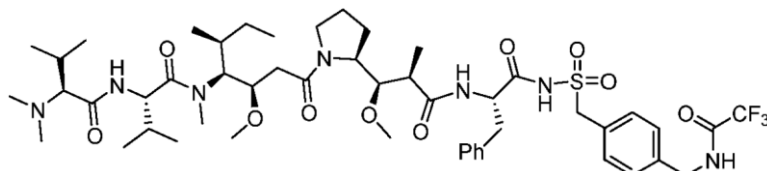


10

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.76, mediante el uso del procedimiento general 9. m/z calculado de $C_{28}H_{35}F_3N_4O_6S$ = 612,22, hallado $[M+H]^+$ 613,58.

15

Ejemplo 1.78: (*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(((*S*)-1-oxo-3-fenil-1-(((4-((2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propan-2-il)amino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 27).

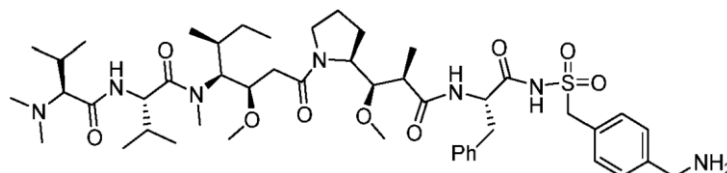


20

Se preparó el compuesto del título a partir de Dov-Val-Dil-OH (Ejemplo 1.36) y el producto del ejemplo 1.77, mediante el uso de los procedimientos generales 9 y 6. m/z calculado de $C_{50}H_{76}F_3N_7O_{10}S$ = 1023,53, hallado $[M+H]^+$ 1024,94.

25

Ejemplo 1.79: (*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(((*S*)-1-(((4-(aminometil)fenil)metil)sulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 28)

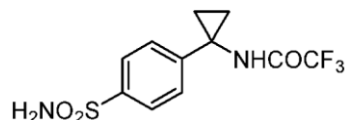


30

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.78, mediante el uso del procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{48}H_{77}N_7O_9S$ = 927,55, hallado $[M+H]^+$ 928,92.

35

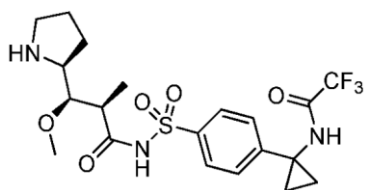
Ejemplo 1.80: 2,2,2-trifluoro-*N*-(1-(4-sulfamoilfenil)ciclopropil)acetamida.



40

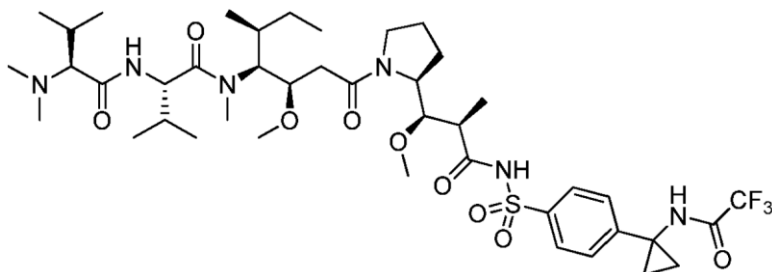
El compuesto del título se preparó de acuerdo con el documento WO 2015095953 A1.

Ejemplo 1.81: (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-((*S*)-pirrolidin-2-il)-*N*-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonil)propanamida.



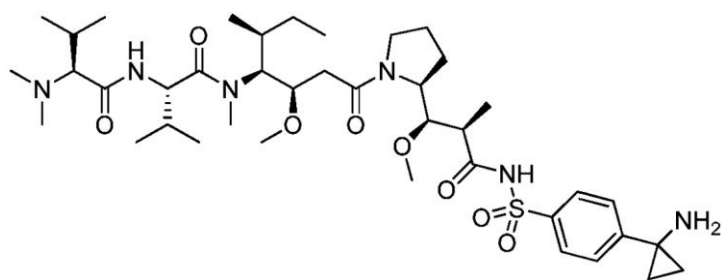
El compuesto del título se preparó a partir de Boc-Dap-OH disponible en el mercado y 2,2,2-trifluoro-*N*-(1-(4-sulfamoifenil)ciclopropil)acetamida (Ejemplo 1.80), mediante los procedimientos generales 2 y 9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*⁶) δ 12,19 (s, 1H), 10,32 (s, 1H), 7,86 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,31 (s, 1H), 3,58 (dd, *J* = 5,7, 3,7 Hz, 1H), 3,28 (s, 3H), 3,11 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,59 (dq, *J* = 13,0, 6,5 Hz, 1H), 1,90 – 1,68 (m, 3H), 1,63 – 1,56 (m, 1H), 1,44 – 1,35 (m, 4H), 1,04 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H). C₂₀H₂₆F₃N₃O₅ *m/z* calculado de = 477,15 hallado [M+H]⁺ = 478,6.

Ejemplo 1.82: (*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 29).



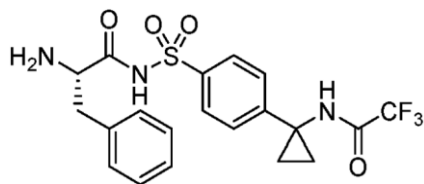
Se preparó el compuesto del título a partir de Dov-Val-Dil-OH (Ejemplo 1.36) y el producto del ejemplo 1.81, de acuerdo con el procedimiento general 6. *m/z* calculado de C₄₂H₆₇F₃N₆O₉S = 888,46, hallado [M+H]⁺ = 889,3.

Ejemplo 1.83: (*S*)-*N*-((3*R*,4*S*,5*S*)-1-((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-3-(4-(1-aminociclopropil)fenilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamida (Compuesto 30)



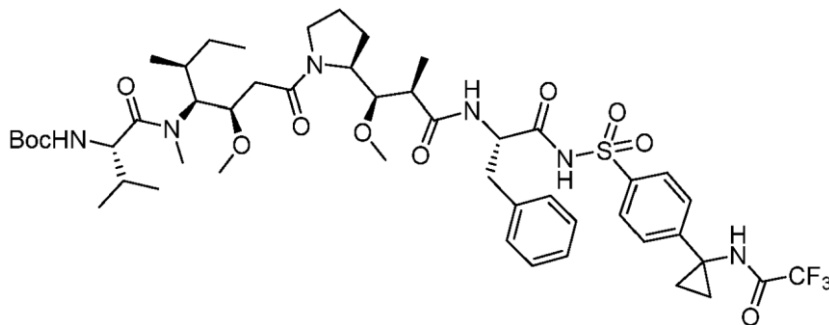
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.82, de acuerdo con el procedimiento general 4. *m/z* calculado de C₄₀H₆₈N₆O₈S = 792,48, hallado [M+Na]⁺ = 815,9.

Ejemplo 1.84: (*S*)-2-amino-3-fenil-*N*-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonil)propanamida.



El compuesto del título se preparó a partir de Boc-Phe-OH y 2,2,2-trifluoro-*N*-(1-(4-sulfamoifenil)ciclopropil)acetamida (Ejemplo 1.80), mediante los procedimientos generales 2 y 9. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*⁶) δ 10,30 (s, 1H), 7,87 (b, 3H), 7,79 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,25 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,23 – 7,16 (m, 3H), 7,08 (dd, *J* = 6,6, 2,9 Hz, 2H), 3,78 (s, 1H), 3,06 (dd, *J* = 14,2, 5,3 Hz, 1H), 2,93 (dd, *J* = 14,1, 7,2 Hz, 1H), 1,36 (dd, *J* = 6,6, 3,0 Hz, 4H). C₂₀H₂₀F₃N₃O₄ *m/z* calculado de = 455,11 hallado [M+H]⁺ = 456,6.

Ejemplo 1.85: (S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de *tert*-butilo.



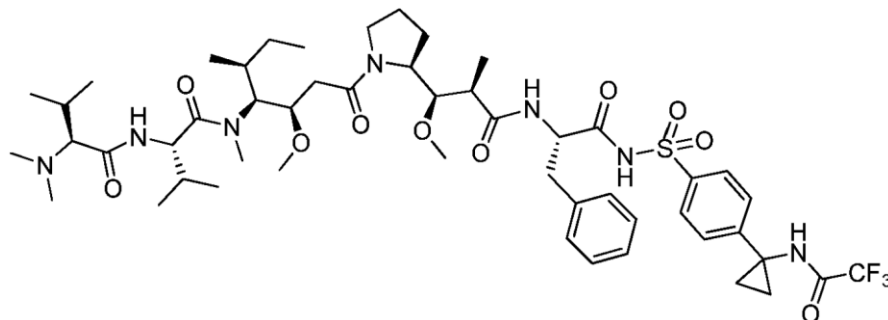
5

Se preparó el compuesto del título a partir de Boc-Val-Dil-Dap-OH disponible en el mercado y el producto del ejemplo 1.84, mediante el procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{49}H_{71}F_3N_6O_{11}S = 1008,49$, hallado $[M+Na]^+ = 1031,9$.

10

Ejemplo 1.86: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((S)-1-oxo-3-fenil-1-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)ciclopropil)fenilsulfonamido)propan-2-ilamino)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 31).

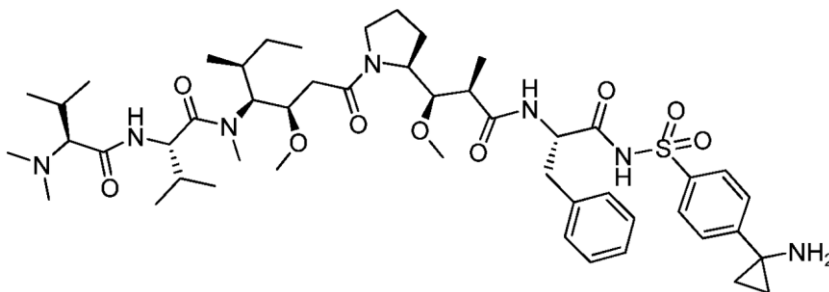
15



El compuesto del título se preparó a partir del producto del ejemplo 1.85 y *N,N*-dimetilvalina, mediante los procedimientos generales 9 y 6. m/z calculado de $C_{51}H_{76}F_3N_7O_{10}S = 1035,53$, hallado $[M+H]^+ = 1036,5$.

20

Ejemplo 1.87: (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((S)-1-(4-(1-aminociclopropil)fenilsulfonamido)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 32).

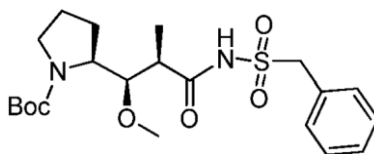


25

Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.86, de acuerdo con el procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{49}H_{77}N_7O_9S = 939,55$, hallado $[M+H]^+ = 940,5$.

30

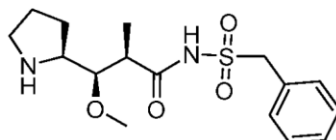
Ejemplo 1.88: (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((fenilmetil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo.



El compuesto del título se preparó a partir de Boc-dolaprolina-OH disponible en el mercado y bencilsulfonamida, mediante el uso del procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{21}H_{32}N_2O_6S = 440,20$, hallado $[M+H]^+ 463,71$.

5

Ejemplo 1.89: (2R,3R)-N-(bencilsulfonyl)-3-metoxi-2-metil-3-((S)-pirrolidin-2-il)propanamida.

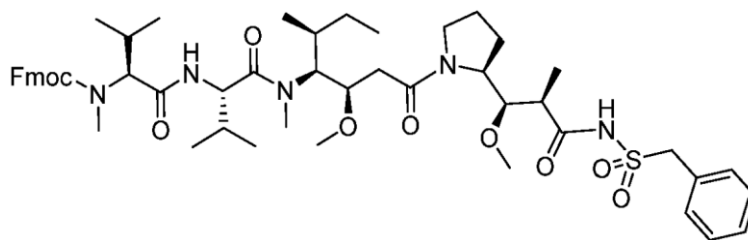


Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.88, mediante el uso del procedimiento general 9. m/z calculado de $C_{16}H_{24}N_2O_4S = 340,15$, hallado $[M+H]^+ 341,75$.

10

Ejemplo 1.90: ((S)-1-(((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((fenilmetil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)(metil)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo.

15

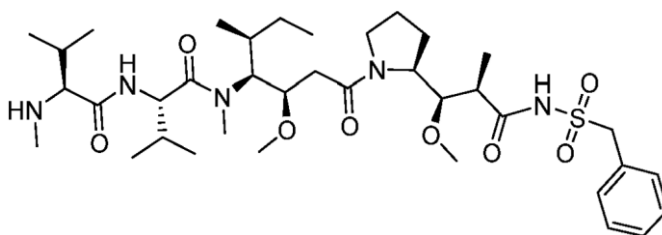


Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.89 y el producto del ejemplo 1.38, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{52}H_{73}N_5O_{10}S = 959,51$, hallado $[M+H]^+ 961,15$.

20

Ejemplo 1.91: (S)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((fenilmetil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)butanamido)butanamida (Compuesto 33).

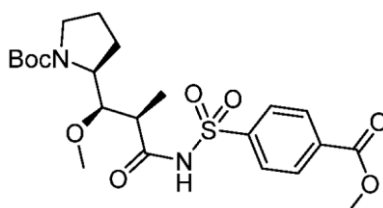
25



Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.90, de acuerdo con el procedimiento general 7. m/z calculado de $C_{37}H_{63}N_5O_8S = 737,44$, hallado $[M+H]^+ 739,07$.

30

Ejemplo 1.92: (S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-3-((4-(metoxicarbonil)fenil)sulfonamido)-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo.

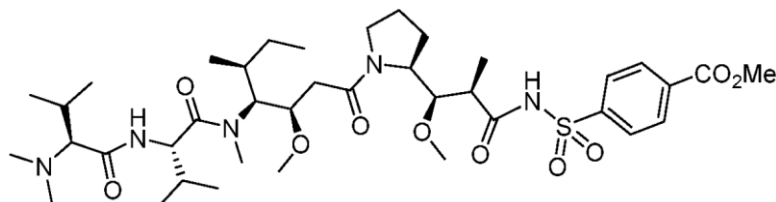


35

El compuesto del título se preparó a partir de 4-sulfamoilbenzoato de metilo y Boc-Dap-OH, de acuerdo con el

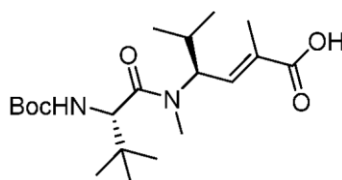
procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{22}H_{32}N_2O_8S$ = 484,19. Hallado, $[M+Na]^+$ = 507,6.

Ejemplo 1.93: 4-(*N*-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)benzoato de metilo (Compuesto 34).



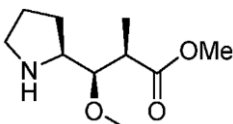
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.92 y Dov-Val-Dil-OH (Ejemplo 1.36), de acuerdo con los procedimientos generales 9 y 6. m/z calculado de $C_{22}H_{32}N_2O_8S$ = 795,45. hallado $[M+Na]^+$ = 818,8.

Ejemplo 1.94: Ácido (*S*,*E*)-4-((*S*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-*N*,3,3-trimetilbutanamido)-2,5-dimetilhex-2-enoico (Compuesto 83)



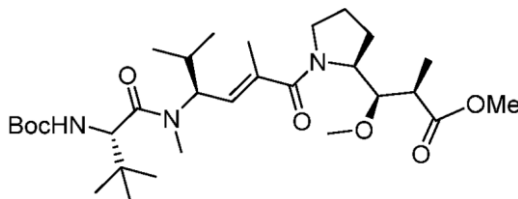
El compuesto del título se preparó a partir de (*S*,*E*)-4-((*S*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-*N*,3,3-trimetilbutanamido)-2,5-dimetilhex-2-enoato de etilo, de acuerdo con el procedimiento general 4. m/z calculado de $C_{20}H_{36}N_2O_5$ = 384,26, hallado $[M+H]^+$ = 407,71. RMN 1H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 6,80 (dd, J = 9,6, 1,8 Hz, 1H), 5,29 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 5,16 (t, J = 10,0 Hz, 1H), 4,46 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 3,03 (s, 3H), 1,95 (d, J = 1,5 Hz, 3H), 1,44 (s, 9H), 0,99 (s, 9H), 0,92 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

Ejemplo 1.95: (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-((*S*)-pirrolidin-2-yl)propanoato de metilo.



A una solución en agitación de Boc-Dap-OH (0,635 g, 2,21 mmol) en diclorometano/metanol (95:5, v/v, 10 ml) se le agregó TMS-diazometano (2 M en hexanos, 1,35 ml, 1,2 equiv). La reacción se monitoreó y en el momento en el que se detuvo la efervescencia, el análisis mediante HPLC-MS indicó la conversión completa del éster. EL TMS-diazometano restante se inactivó mediante la adición de ácido acético y al desaparecer todo el color amarillo, la reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en diclorometano y se retiró el grupo protector de Boc, de acuerdo con el procedimiento general 9.1. El material se utilizó "tal cual", sin purificación adicional. m/z calculado de $C_{10}H_{19}NO_3$ = 201,14, hallado $[M+H]^+$ = 202,56. RMN 1H (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 3,88 (dd, J = 6,0, 3,6 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,73 – 3,62 (m, 1H), 3,52 (s, 3H), 3,32 – 3,26 (m, 2H), 2,88 – 2,74 (m, 1H), 2,15 – 1,87 (m, 4H), 1,29 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

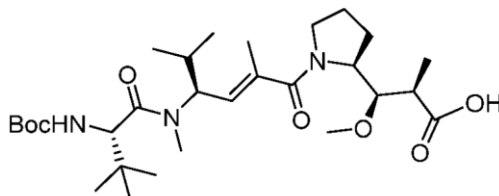
Ejemplo 1.96: (2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((*S*,*E*)-4-((*S*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-*N*,3,3-trimetilbutanamido)-2,5-dimetilhex-2-enoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoato de metilo.



Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.94 y el producto del ejemplo 1.95, de acuerdo con el procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{30}H_{53}N_3O_7$ = 567,39, hallado $[M+Na]^+$ = 590,85. RMN 1H (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 5,53 (dd, J = 9,0, 1,8 Hz, 1H), 5,18 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 5,02 (dd, J = 10,6, 8,8 Hz, 1H), 4,37

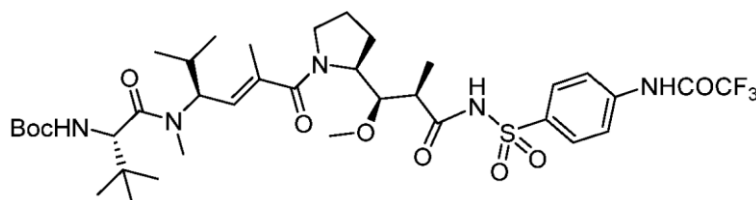
(d, $J = 10,1$ Hz, 1H), 4,11 – 4,01 (m, 1H), 3,92 (dd, $J = 8,2, 2,8$ Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,51 – 3,42 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 3,34 – 3,23 (m, 1H), 2,89 (s, 3H), 2,54 – 2,43 (m, 1H), 1,86 (s, 3H), 1,95 – 1,77 (m, 3H), 1,70 – 1,52 (m, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,21 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,88 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,78 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

5 **Ejemplo 1.97: Ácido (2*R*,3*R*)-3-(((*S*)-1-(((*S*,*E*)-4-(((*S*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-*N*,3,3-trimetilbutanamido)-2,5-dimetilhex-2-enoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoico.**



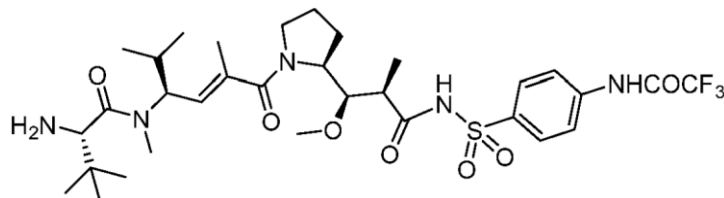
10 Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.96, de acuerdo con el procedimiento general 4.1. m/z calculado de $C_{29}H_{51}N_3O_7 = 553,37$, hallado $[M+Na]^+ = 576,81$. RMN 1H (400 MHz, cloroformo- d) δ 5,64 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 5,37 (d, $J = 10,1$ Hz, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,42 (d, $J = 10,1$ Hz, 1H), 4,23 – 4,17 (m, 1H), 4,02 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1H), 3,53 – 3,46 (m, 1H), 3,45 (s, 3H), 3,39 – 3,27 (m, 1H), 2,93 (s, 3H), 2,51 – 2,36 (m, 1H), 2,08 – 1,77 (m, 4H), 1,90 (s, 3H), 1,73 – 1,60 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,25 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 0,95 (s, 9H), 0,91 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,82 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H).

15 **Ejemplo 1.98: ((*S*)-1-(((*S*,*E*)-6-(((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)(metil)amino)-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il)carbamato de *tert*-butilo.**



20 Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.97 y el producto del ejemplo 1.39, de acuerdo con el procedimiento general 2. m/z calculado de $C_{37}H_{56}F_3N_5O_9S = 803,38$, hallado $[M+Na]^+ = 826,69$. RMN 1H (400 MHz, cloroformo- d) δ 9,66 (s, 1H), 8,03 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,82 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 5,62 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 5,54 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 5,10 – 4,98 (m, 1H), 4,45 (d, $J = 10,1$ Hz, 1H), 4,01 (dd, $J = 7,2, 2,4$ Hz, 1H), 3,94 – 3,83 (m, 1H), 3,48 – 3,43 (m, 1H), 3,41 (s, 3H), 3,35 – 3,22 (m, 1H), 2,95 (s, 3H), 2,66 – 2,55 (m, 1H), 1,87 (s, 3H), 1,91 – 1,75 (m, 2H), 1,67 – 1,53 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,14 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,96 (s, 9H), 0,89 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,82 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H).

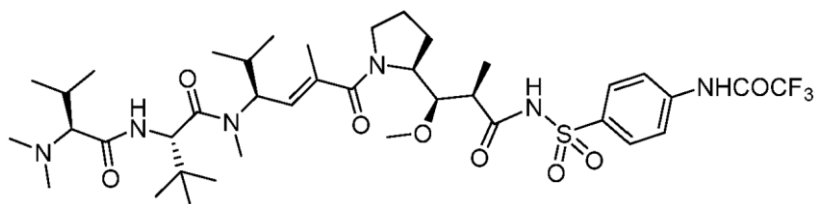
25 **Ejemplo 1.99: (*S*)-2-amino-*N*-(((*S*,*E*)-6-(((*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)-*N*,3,3-trimetilbutanamida.**



30 Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.98, de acuerdo con el procedimiento general 9.1. m/z calculado de $C_{32}H_{48}F_3N_5O_7S = 703,32$, hallado $[M+H]^+ = 704,68$. RMN 1H (400 MHz, metanol- d_4) δ 8,06 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,90 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 5,71 (dd, $J = 9,5, 1,9$ Hz, 1H), 5,10 – 5,00 (m, 2H), 4,30 (s, 1H), 3,85 (dd, $J = 8,1, 2,7$ Hz, 1H), 3,79 – 3,71 (m, 1H), 3,55 – 3,48 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 3,40 – 3,28 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,52 – 2,39 (m, 1H), 2,09 – 1,96 (m, 1H), 1,91 (s, 3H), 1,95 – 1,83 (m, 1H), 1,79 – 1,69 (m, 1H), 1,69 – 1,51 (m, 1H), 1,14 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,10 (s, 9H), 0,97 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 0,93 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H).

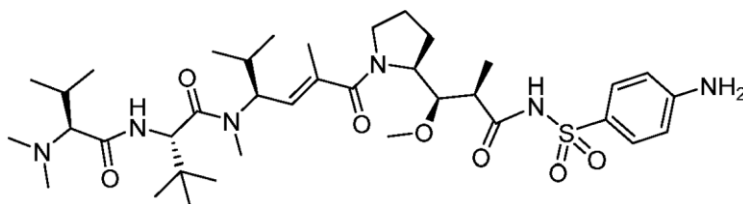
45

Ejemplo 1.100: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)-N,3,3-trimetilbutanamida (Compuesto 35).



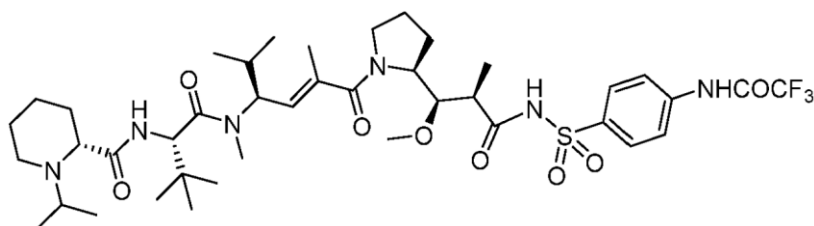
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.99 y *N,N*-dimetilvalina, de acuerdo con el procedimiento general 6. *m/z* calculado de $C_{39}H_{61}F_3N_6O_8S = 830,42$, hallado $[M+H]^+ = 831,75$.

Ejemplo 1.101: (S)-N-((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3,3-trimetilbutanamida (Compuesto 36).



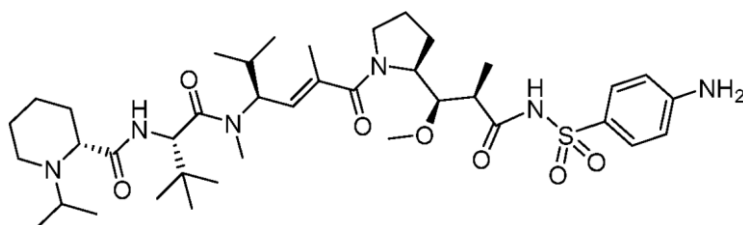
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.100, de acuerdo con el procedimiento general 4.1. *m/z* calculado de $C_{37}H_{62}N_6O_7S = 734,44$, hallado $[M+H]^+ = 735,72$.

Ejemplo 1.102: (S)-1-isopropil-N-((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)(metil)amino)-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il)piperidin-2-carboxamida (Compuesto 37).



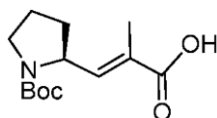
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.99 y ácido (*R*)-1-isopropilpiperidin-2-carboxílico, de acuerdo con el procedimiento general 6. *m/z* calculado de $C_{41}H_{63}F_3N_6O_8S = 856,44$, hallado $[M+H]^+ = 857,80$.

Ejemplo 1.103 (S)-N-((S)-1-(((S,E)-6-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2,5-dimetil-6-oxohex-4-en-3-il)(metil)amino)-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamida (Compuesto 38).



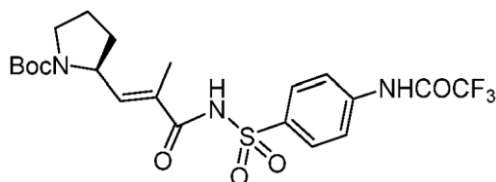
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.102, de acuerdo con el procedimiento general 4.1. *m/z* calculado de $C_{39}H_{64}N_6O_7S = 760,46$, hallado $[M+H]^+ = 761,77$.

Ejemplo 1.104: Ácido (S,E)-3-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)-2-metilacrílico.



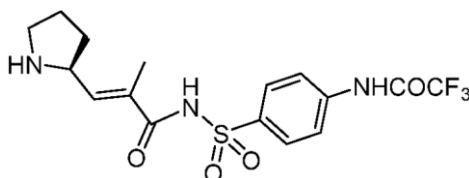
El compuesto del título se sintetizó a partir de (*S,E*)-2-(3-etoxi-2-metil-3-oxoprop-1-en-1-il)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (preparado de acuerdo con J. Org. Chem., 2003, 68 (16), págs. 6459–6462) de acuerdo con el procedimiento general 4.1. *m/z* calculado de C₁₃H₂₁NO₄ = 255,15, hallado [M-Boc+H]⁺ = 156,5, [M-Boc+MeCN]⁺ = 197,5.

Ejemplo 1.105: (*S,E*)-2-(2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)prop-1-en-1-il)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo.



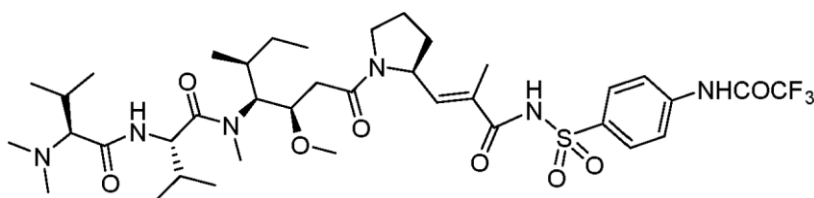
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.104 y el producto del ejemplo 1.39, de acuerdo con el procedimiento general 2. *m/z* calculado de C₂₁H₂₆F₃N₃O₆S = 505,15, hallado [M-Boc+H]⁺ = 406,5, [M+Na]⁺ = 528,5.

Ejemplo 1.106: (*S,E*)-2-metil-3-(pirrolidin-2-il)-N-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonil)acrilamida.



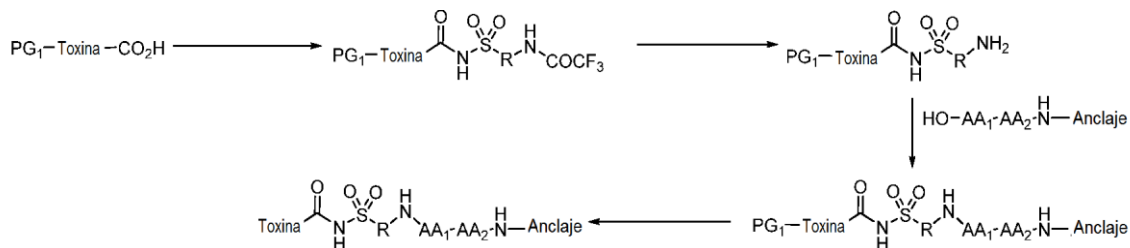
Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.105, de acuerdo con el procedimiento general 9.1. *m/z* calculado de C₁₆H₁₈F₃N₃O₄S = 405,10, hallado [M+H]⁺ = 406,5.

Ejemplo 1.107: (*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-1-((*S*)-2-((*E*)-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)prop-1-en-1-il)pirrolidin-1-il)-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 39).



Se preparó el compuesto del título a partir del producto del ejemplo 1.106 y el producto del ejemplo 1.36, de acuerdo con el procedimiento general 6. *m/z* calculado de C₃₈H₅₉F₃N₆O₈S = 816,41, hallado [M+H]⁺ = 817,7.

Ejemplo 2: Síntesis de conjugados de enlazador y fármaco de la presente invención.

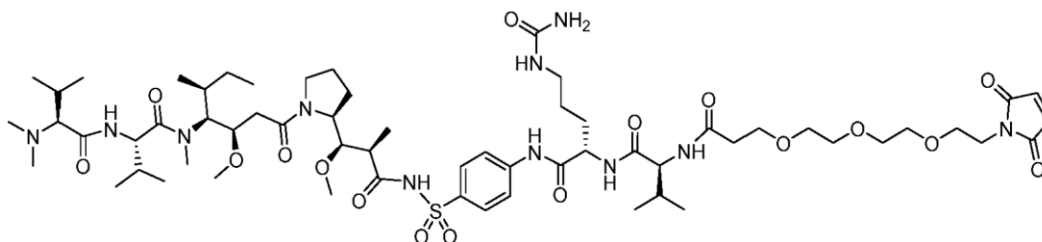


Esquema 1

El Esquema 1 ilustra una realización particular de un esquema general para la síntesis de un complejo D-L. En realizaciones adicionales de la invención, el grupo protector (PG₁) se elimina de la toxina (o fármaco) antes de la adición del aminoácido (por ejemplo, AA₁-AA₂). En determinadas realizaciones de la invención, el anclaje incluye un grupo funcional que puede formar una unión covalente con el Objetivo. En otras realizaciones de la invención, el

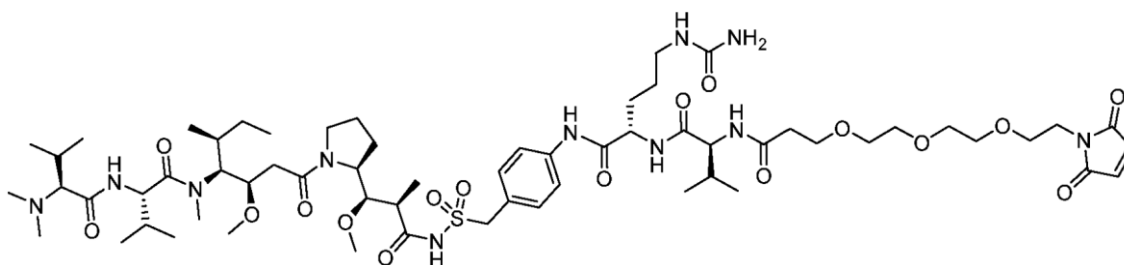
anclaje comprende un extensor.

Ejemplo 2.1: (S)-N-(4-(N((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)fenil)-2-((S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecan-15-amido)-5-ureidopentanamida.



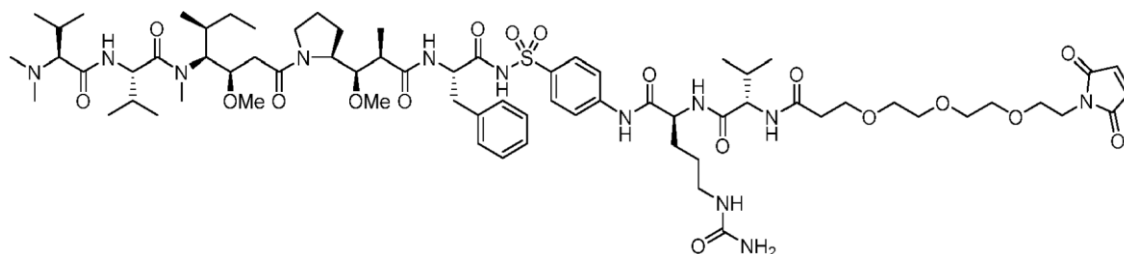
Se sintetizó el compuesto del título utilizando el procedimiento general 5 a partir de MT-VC-OH y el Compuesto 5 y se purificó mediante cromatografía HPLC preparativa. m/z calculado de $C_{61}H_{101}N_{11}O_{17}S = 1291,71$, hallado $[M+H]^+ = 1292,89$.

Ejemplo 2.2: (S)-N-(4-((N((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)metil)fenil)-2-((S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecan-15-amido)-5-ureidopentanamida.



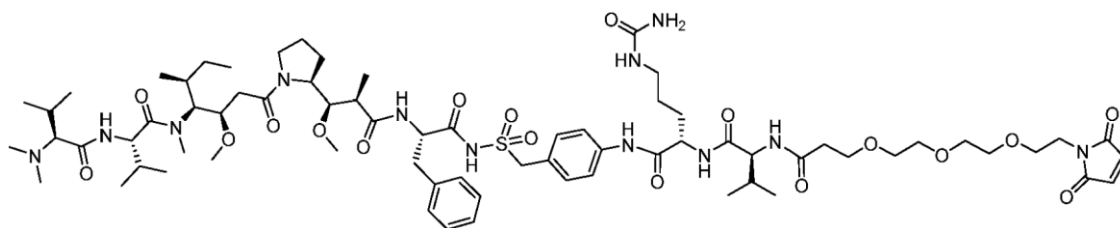
Se sintetizó el compuesto del título utilizando el procedimiento general 5 a partir de MT-VC-OH y el compuesto 8 y se purificó mediante cromatografía HPLC preparativa. m/z calculado de $C_{61}H_{101}N_{11}O_{17}S = 1305,73$, hallado $[M+H]^+ = 1306,9$.

Ejemplo 2.3: (S)-N-(4-(N(((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)-L-fenilalanil)sulfamoil)fenil)-2-((S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecan-15-amido)-5-ureidopentanamida.



El compuesto del título se preparó a partir MT-VC-OH y del compuesto 11, de acuerdo con el procedimiento general 5. m/z calculado de $C_{70}H_{110}N_{12}O_{18}S = 1438,8$ amu; hallado $[M+H]^+ = 1440,2$, $[(M+2H)/2]^{2+} = 720,5$.

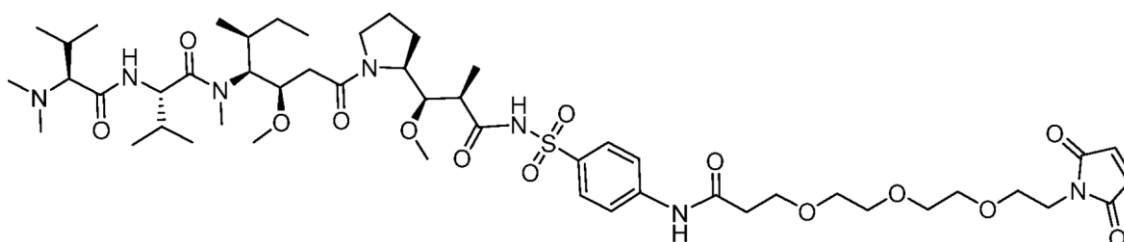
Ejemplo 2.4: (S)-N-(4-((N(((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)-L-fenilalanil)sulfamoil)metil)fenil)-2-((S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecan-15-amido)-5-ureidopentanamida.



Se preparó a partir del compuesto 14 y MT-VC-OH, de acuerdo con el procedimiento general 5 y se purificó mediante HPLC preparativa. m/z calculado de $C_{71}H_{112}N_{12}O_{18}S = 1452,80$ amu; hallado $[M+H]^+ = 1453,7$.

5

Ejemplo 2.5: (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(3-(2-(2-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi)etoxi)propanamido)fenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida.

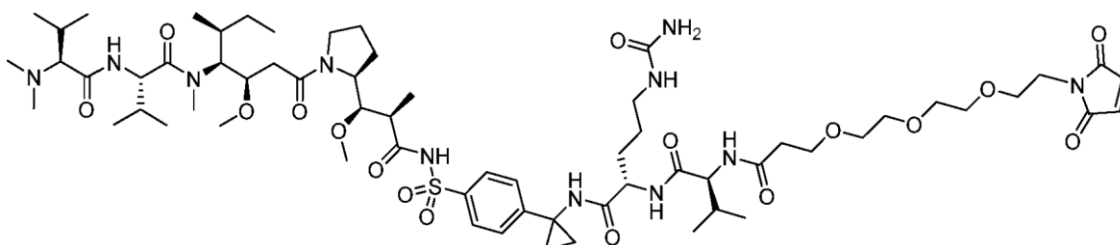


10

Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 5 y MT-OH, mediante el uso del procedimiento general 6. m/z calculado de $C_{50}H_{81}N_7O_{14}S = 1035,56$, hallado $[M+H]^+ = 1037,97$.

15

Ejemplo 2.6: (S)-N-(1-(4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)fenil)ciclopropil)-2-((S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecan-15-amido)-5-ureidopentanamida.

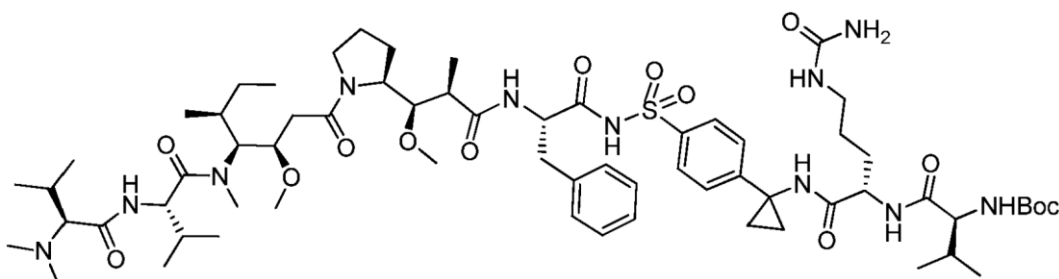


20

Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 30, Boc-VC-OH y MT-NHS, mediante el uso del procedimiento general 8. m/z calculado de $C_{64}H_{105}N_{11}O_{17}S = 1331,74$, hallado $[M+H]^+ = 1332,8$.

25

Ejemplo 2.7: ((S)-1-(((S)-1-((1-(4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)-L-fenilalanil)sulfamoil)fenil)ciclopropil)amino)-1-oxo-5-ureidopentan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato de *terc*-butilo.



30

Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 32 y Boc-VC-OH, mediante el uso del procedimiento general 5. m/z calculado de $C_{65}H_{105}N_{11}O_{14}S = 1295,76$, hallado $[M+H]^+ = 1297,2$.

Tabla 2

Línea celular	Compuesto	EC ₅₀ (nM)
Jurkat	4	18,1
	5	16,8
	7	29,9
	10	45,3
	11	52
	13	20,9
HCC1954	5	8,9

Ejemplo 3.1: Evaluación de la citotoxicidad celular de los compuestos de fórmula I en líneas celulares Jurkat, HCC1954, NCI-N87, BxPC-3, SK-OV-3 y JIMT-1

Los compuestos se evaluaron sobre una o más líneas celulares de leucemia de linfocitos T humanos Jurkat (ATCC: TIB-152); líneas celulares de cáncer de mama humano HCC1954 (ATCC: CRL-2338) y JIMT-1 (DSMZ: ACC 589); línea celular pancreática humana BxPC-3 (ATCC: CRL. 1687), línea celular de adenocarcinoma de ovario humano SK-OV-3 (ATCC: HTB-77) y línea celular de carcinoma gástrico humano NCI-N87 (ATCC: CRL. 5822); para evaluar su citotoxicidad.

En resumen, se obtuvieron células de fuentes comerciales y se cultivaron tal como se describe en el folleto del producto proporcionado. Las células se retiraron de sus recipientes de cultivo y la suspensión celular resultante se contó mediante el uso de un ViCell (Beckman Coulter), luego se colocaron en placas a 25 000 células/ml (2500 células/pocillo) en placas de 96 pocillos de fondo plano y paredes negras Costar 3904 (las células se colocaron en los 60 pocillos internos de las placas TC de 96 pocillos y los pocillos del borde exterior se llenaron con agua). Se incubaron líneas celulares adherentes durante una noche a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5 % para permitir que las células se unieran a la superficie de la placa de microtitulación, mientras que las células en suspensión (Jurkat) se colocaron en las placas inmediatamente antes de su uso. Se disolvieron las citotoxinas y se diluyeron en serie en dimetil sulfoxido y luego las soluciones se agregaron a medio de cultivo completo a cinco veces la concentración final máxima deseada. Las citotoxinas se titularon en medio de cultivo, normalmente 1:3 en ocho etapas. Se incluyó un control sin artículo de prueba presente (medio de cultivo solo) en cada placa de microtitulación por seis. Las titulaciones de toxina preparadas se agregaron (25 µl/pocillo) por triplicado a cada línea celular evaluada. Se incubaron las células y las titulaciones a 37 °C/CO₂ al 5 % durante tres noches (Jurkat) y cinco noches (todas las demás líneas celulares). Después de la incubación, se midió la disponibilidad celular utilizando CellTiter-Glo® al agregar 30 µl de CellTiter-Glo® preparado a cada pocillo del ensayo. Se incubaron las muestras durante al menos veinte minutos en la oscuridad antes de medir la luminiscencia emitida utilizando un luminómetro de microplacas (500 ms de tiempo de integración). Las unidades de luminiscencia relativa (RLU, por sus siglas en inglés) recogidas se convirtieron a % de citotoxicidad utilizando solo el medio de cultivo de control mencionado anteriormente (% de citotoxicidad = 1 - [RLU de pocillo/RLU de promedio medio control solo] x 100 %). Se representaron gráficamente los datos (% citotoxicidad en func. de la concentración de ADC (log₁₀(nM)) y se ajustaron a curvas mediante métodos de regresión no lineal mediante el uso del software GraphPad Prism v. 5.02 para obtener estimados de EC₅₀. La citotoxina de control, normalmente HTI-286 (véase, por ejemplo, el documento U.S. 7.579.323) mató satisfactoriamente todas las líneas celulares a la concentración esperada.

Los resultados se muestran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1

Compuesto	EC ₅₀ (nM)					
	NCI-N87	Jurkat	BxPC-3	HCC-1954	SKOV-3	JIMT-1
4		18,1				
5	12,0	13,6	18,2	8,9	23,7	9,3
10		45,3				
11		52				
15	11,7	10,1	14,5			
16	14,4	11,5	17,0			
17	>100	30,5	>100			
18	0,9	1,5	2,3			
19	12,8	2,2	10,2			
20	*	>100	*			
7		29,9				
13		20,9				

(continuación)

Compuesto	EC ₅₀ (nM)					
	NCI-N87	Jurkat	BxPC-3	HCC-1954	SKOV-3	JIMT-1
21	*	~100	>100			
23	11,3	11,8	17,2			
24	>100	~100	>100			
25	>100	34,3	>100			
27	17,4	24,2	19,0			
28	>100	~100	>100			
29		22,1				
30		>100				
31		31,1				
32		>100				
34	*	>100	*			

*No citotóxico a 300 nM

Ejemplo 4: Ensayos biológicos.

5 Líneas celulares: Línea celular de leucemia de linfocitos T humanos Jurkat (ATCC: TIB-152); HCC1954 (ATCC: CRL. 2338); líneas celulares pancreáticas humanas: AsPC-1 (ATCC: CRL-1682), BxPC-3 (ATCC: CRL.1687), HPAF-II (ATCC: CRL.1997), MiaPaCa2 (ATCC: CRL.1420), PANC-1 (ATCC: CRL.1469), Capan-1 (ATCC: HTB-79), Capan-2 (ATCC: HTB-80) y la línea celular de carcinoma gástrico humano NCI-N87 (ATCC: CRL. 5822); AML-193 (ATCC: CRL.9589), CCRF-CEM (ATCC: CCL-119), DU145 (ATCC: HTB-81), PC-3 (ATCC: CRL.1435), A-431 (ATCC: CRL.1555), HT-29 (ATCC: HTB-38), A-172 (ATCC: CRL.1620), NCI-H358 (ATCC: CRL.5807), A549 (ATCC: CCL-185), Colo-205 (ATCC: CCL-222), MDA-MB-231 (ATCC: HTB-26), OVCAR-3 (ATCC: HTB-161), OV-90 (ATCC: CRL.11732), OE19 (Sigma: 96071721), RT112/84 (Sigma: 85061106).

15 El día anterior a agregar los compuestos, se agregaron células HCC1954 AsPC-1, BxPC-3, HPAF-II, MiaPaCa2, PANC-1, Capan-1, Capan-2 y NCI-N87 a placas de microtitulación tratadas con cultivo de tejido de 96 pocillos con paredes opacas mediante el uso de medio de cultivo completo a una densidad de 2500 células/100 microlitros (µl) de medio. Estas líneas celulares adherentes se incubaron durante la noche a 37 °C/CO₂ al 5% para permitir que las células se acoplen a la superficie de la placa de microtitulación. El día que se agregaron los compuestos, se agregaron células Jurkat para separar las placas de microtitulación de 96 pocillos a 2500 células/100 µl mediante el uso del mismo medio de cultivo que para HCC1954. Los compuestos primero se diluyeron en serie en dimetil sulfóxido y luego las diluciones preparadas se agregaron a medio de cultivo completo a cinco veces la concentración final máxima deseada. Los compuestos entonces se titularon 1:3, ocho etapas. Un control sin compuesto (medio de crecimiento solo) se incluyó en cada placa de microtitulación por sextuplicado. Las titulaciones de compuestos preparadas se agregaron (25 µl/pocillo) por triplicado. Las titulaciones de compuestos y células se incubaron a 37 °C/CO₂ al 5% durante tres noches. Después de la incubación, la viabilidad celular se midió utilizando el reactivo CellTiter-Glo® al agregar 30 µl de CellTiter-Glo® preparado a cada pocillo de ensayo. Se incubó el ensayo durante al menos veinte minutos en la oscuridad antes de medir la luminiscencia emitida utilizando un luminómetro de microplacas (500 ms de tiempo de integración). Las unidades de luminiscencia relativa (RLU, por sus siglas en inglés) recogidas se convirtieron a % de citotoxicidad utilizando solo el medio de cultivo de control mencionado anteriormente (% citotoxicidad = 1 - [RLU de pocillo/RLU de promedio medio control solo]).

Se utilizó GraphPad Prism® para la generación de valores de EC₅₀ mediante el uso de ajuste de curva de regresión no lineal de tres parámetros.

Ejemplo 5: Ejemplos de conjugados de fármaco y anticuerpo.**1. Ejemplos de enlazadores**

40 Tal como reconocerá un experto en la técnica, el enlazador en particular utilizado para la formación del conjugado dependerá del grupo reactivo del compuesto reactivo utilizado para la formación del enlace. A modo de ejemplo, y dentro del alcance de la presente invención, los compuestos que tienen un resto de tiol pueden utilizarse para la formación del conjugado. En algunos de los ejemplos presentes, puede utilizarse el enlazador con capacidad de escisión 6-[3'(2-piridilditio)-propionamido]hexanoato de sulfosuccinimidilo disponible en el mercado (sulfo-LC-SPDP: Thermo Pierce, n.º de catálogo 21650) y el enlazador sin capacidad de escisión 4-[N-maleimidometil]ciclohexan-1-carboxilato de succinimidilo (SMCC: Thermo Pierce, n.º de catálogo 22360) para las reacciones de conjugación del fármaco y el anticuerpo. El procedimiento de acoplamiento se lleva a cabo en dos etapas principales: 1) incorporación de los enlazadores en el anticuerpo por medio de reacción con grupos amina principales del anticuerpo (residuos de lisina) y el resto de éster de N-hidroxisuccinimida (NHS) de los enlazadores y 2) reacción con los grupos de maleimida (SMCC) incorporados o grupo 2-piridilditio (LC-SPDP) con compuestos que contienen tiol.

2. Activación del anticuerpo con enlazadores escindibles (LC-SPDP) o no escindibles (SMCC)

Se diluyó anticuerpo (Herceptin®) ya sea en fosfato de potasio con pH 8 (sulfo-LC-SPDP) o D-PBS (Invitrogen) con pH 7,4 (SMCC) hasta 5 mg/ml. Al anticuerpo diluido se le agregó enlazador recientemente diluido, mediante el uso de agua ultrapura para sulfo-LC-SPDP o *N,N*-dimetilacetamida (DMA) anhidra para SMCC. 10-14 veces de exceso molar de SMCC:anticuerpo o sulfo-LC-SPDP:anticuerpo da como resultado la incorporación de 5-7 enlazadores/anticuerpo. La reacción de "activación" del anticuerpo y enlazador se incubó a 28 °C durante 2 horas. Después de la incubación, el enlazador sin reaccionar se retira de cada muestra de anticuerpo mediante el uso de columnas de destilación/cromatografía de exclusión por tamaño Zeba™ de 40 kda (Thermo Pierce, n.º de catálogo 87771 o 87772, dependiendo de la escala). Durante la misma etapa de cromatografía, se intercambia el amortiguador en preparación para la siguiente reacción: ya sea amortiguador de fosfato/EDTA con pH 6,5 (LC-SPDP) o amortiguador de citrato/EDTA con pH 5 (SMCC). Las preparaciones purificadas entonces se analizaron para verificar el contenido de proteína total en función de una curva de anticuerpo estándar mediante el uso del ensayo de BCA adaptado de microplacas (Thermo Pierce, n.º de catálogo 23225). Para estimar la extensión de la incorporación del enlazador, se llevó a cabo una reacción a baja escala con exceso de cisteína (~10 veces en comparación con la concentración de proteína). Después de 10 minutos de incubación, la cisteína sin reaccionar se detecta mediante el uso de ácido 5,5-ditio-bis-(2-nitrobenzoico) (reactivo de Ellman, Thermo Pierce, n.º de catálogo 22582). Al interpolar la concentración de una curva estándar de cisteína, la concentración del enlazador se determinó mediante la sustracción del valor determinado de la concentración conocida de cisteína utilizada.

3. Reacción de compuestos que contienen tiol con anticuerpo activado por enlazador

En la segunda etapa de la reacción de acoplamiento, el anticuerpo activado se utilizó primero al diluir la preparación hasta 2 mg/ml, mediante el uso ya sea de amortiguador de fosfato/EDTA con pH 6,5 (LC-SPDP) o amortiguador de citrato/EDTA con pH 5 (SMCC). Antes del uso, los compuestos de *N*-acil sulfonamida que contienen tiol se reducen mediante el uso de perlas de TCEP-agarosa para asegurar que el grupo tiol esté disponible para reaccionar con los enlazadores incorporados. En resumen, se diluyeron los compuestos hasta 5 mM mediante el uso de amortiguador de fosfato/EDTA con pH 6,5. En las instancias donde la solubilidad acuosa es un problema, se agrega un volumen pequeño de HCl al 37 % (1:300) y esto es suficiente para solubilizar los compuestos a 5 mM. Se equilibran perlas de TCEP-agarosa (Thermo Pierce, n.º de catálogo 77712) con amortiguador de fosfato/EDTA/DMA al 10 % antes del uso. Las diluciones del compuesto se rotan con perlas de TCEP-agarosa durante al menos 0,5 horas o hasta 3 horas. Los compuestos reducidos se recogen mediante centrifugado con un filtro que excluye la TCEP-agarosa. La extensión de la reducción y concentración de tiol se mide mediante el uso de un reactivo de Ellman (en comparación con una curva estándar de cisteína). Los compuestos que contienen tiol reducidos se agregan entonces a las muestras de anticuerpo activado con un exceso molar de ~ 2 veces en comparación con las concentraciones de enlazador determinadas anteriormente. Para monitorear la efectividad de la reacción de acoplamiento, se prepara un control de conjugación "durante la noche" mediante la dilución de cada compuesto en amortiguador de fosfato/EDTA con pH 6,5 o amortiguador de citrato/EDTA con pH 5 con el mismo factor de dilución que se utiliza en la reacción de conjugación. Las soluciones madre de compuesto restantes se congelan a -80 °C. Las reacciones y los controles durante la noche se incuban a temperatura ambiente durante la noche. A la mañana siguiente, las soluciones madre congeladas se descongelan y se prepara otro control para cada compuesto exactamente como el control "durante la noche" – este es el control "fresco". Se compara un pequeño volumen de cada conjugación con los controles de compuesto durante la noche y fresco mediante el uso del reactivo de Ellman. El compuesto que no reaccionó se purificó y extrajo del ADC mediante el uso de columnas de destilación/exclusión por tamaño Zeba™ de 40 kda; durante la misma etapa, se intercambia el amortiguador por D-PBS con pH 7,4 (Invitrogen). Los ADC purificados se analizan entonces para verificar: contenido total de proteína (ensayo BCA, protocolo Pierce microBCA), afinidad relativa por la unión al antígeno (unión natural de equilibrio) y muerte citotóxica selectiva de células HER2 positivas (HCC1954) en comparación con células HER2 negativas (Jurkat).

4. Ensayo de citotoxicidad

En el día antes de agregar artículos de prueba, se agregan las células HCC1954 a placas de microtitulación tratadas con cultivo de tejido de 96 pocillos de fondo transparente y paredes opacas mediante el uso de medio de cultivo completo con una densidad de 2500 células/100 µl de medio. Las células HCC1954 se incuban durante la noche a 37 °C/CO₂ al 5% para permitir que las células se acoplen a la superficie de la placa de microtitulación. El día que se agregan los artículos de prueba, se agregan células Jurkat para separar las placas de microtitulación de 96 pocillos a 2500 células/100 µl mediante el uso del mismo medio de cultivo que para HCC1954. Para comparar la muerte celular por ADC con la obtenida con los compuestos libres, los compuestos de *N*-acil sulfonamida primero se diluyen en serie mediante el uso de dimetil sulfóxido o DMA y luego las diluciones preparadas se agregan a medio de cultivo completo a cinco veces la concentración final. Los compuestos entonces se titulan 1:3, ocho etapas. Para evaluar los ADC, se diluyen directamente en medio de cultivo a cinco veces la concentración final. Los ADC entonces se titulan 1:3, ocho etapas. Se incluye un control sin artículo de prueba presente (medio de cultivo solo) en cada placa de microtitulación por seis. Se le agrega el compuesto/titulaciones de ADC (25 µl/pocillo) por triplicado tanto a las células HCC1954 como a las células Jurkat. Las titulaciones y células se incuban a 37 °C/CO₂ al 5% durante tres noches. Después de la incubación, la viabilidad celular se mide utilizando el reactivo CellTiter-Glo® al agregar 30 µl de CellTiter-Glo® preparado a cada pocillo de ensayo. Se incuba el ensayo durante al menos veinte minutos en la

oscuridad antes de medir la luminiscencia emitida utilizando un luminómetro de microplacas (500 ms de tiempo de integración). Las unidades de luminiscencia relativa (RLU, por sus siglas en inglés) recogidas se convierten a % de citotoxicidad utilizando solo el medio de cultivo de control mencionado anteriormente (% de citotoxicidad = 1 - [RLU de pocillo/RLU de promedio medio control solo]).

5

5. Análisis de conjugado de fármaco y anticuerpo (ADC) mediante espectrometría de masas EsiToF

Se utiliza un instrumento de espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés) de ionización por electropulverización y tiempo de vuelo (EsiToF) (QStar XL Hybrid quadrupole-TOF LC/MSMS; AB Sciex) para determinar el peso molecular de los ADC y para evaluar la proporción entre anticuerpo y fármaco (DAR, por sus siglas en inglés). El instrumento de MS EsiToF se equipa con una fuente de pulverización turbo de ionización por electropulverización. La recogida de datos se realiza en el modo iónico positivo y la corriente iónica total de la muestra se adquiere en un intervalo de masa de 2000 m/z a 4000 m/z mediante el uso del software Analyst QS 1.1. La fuente de iones se hace funcionar con un voltaje de aguja de pulverización iónico de 5,2 KV, una nebulización (gas 1) de 25 (unidades arbitrarias), una cortina de gas de 30 (unidades arbitrarias), un potencial de desaglomeración de 150 V y una temperatura de 150 °C. Las soluciones de muestra de prueba de ADC se introducen a 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ en la fuente de iones mediante infusión directa por medio de capilaridad de sílice condensada con la ayuda de una jeringa y una bomba de jeringa. Típicamente, DAR oscila entre 0 y 4.

10

15

20

6. Preparación de la muestra de ADC para análisis de MS ESI-ToF

Todas las muestras de ADC de desglucosilan mediante el uso de endoglucosidasa EndoS(IgGZERO)[™] y el amortiguador se intercambia por agua antes del análisis de MS EsiToF. En resumen, la muestra de ADC original se pasa a través de un concentrador Amicon MWCO de 100 K para el intercambio de amortiguador por amortiguador de fosfato de sodio. La muestra con intercambio de amortiguador se trata entonces con IgGZERO[™] (1 unidad/1 μg de anticuerpo) en amortiguador de escisión de fosfato de sodio, que contiene NaCl 150 mM y se incuba durante 30 minutos a 37 °C. Al ADC desglucosilado resultante se le vuelve a intercambiar el amortiguador por agua mediante el uso de un concentrador Amicon MWCO de 100 K, y se diluye con ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo/agua (50/50 % v/v) hasta una concentración de 3,0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ antes del análisis.

25

30

Ejemplo 6: Ejemplos de conjugados de fármaco y anticuerpo

1. Preparación de conjugados de fármaco y anticuerpo a partir de toxinas MCvcPABC, métodos generales

A una solución de anticuerpo (1-10 mg/ml) en borato de sodio 25 mM, cloruro de solución 25 mM, DTPA 1 mM (pH 8,0) se le agrega TCEP de una solución madre recién preparada (1-10 mM) en el mismo amortiguador (2,0-3,0 equivalentes molares). La solución se mezcla completamente y se incuba a 37 °C durante 2 horas antes de enfriarla en hielo. En algunas instancias, la solución reducida de anticuerpo se diluye adicionalmente ya sea en solución salina amortiguada con fosfato helada que contiene DTPA 1 mM (concentración final de proteína de 2,0 mg/ml) o cloruro de sodio 25 mM, DTPA 1 mM (pH 8,0), borato de sodio 25 mM helado, para obtener una solución con una concentración final de proteína de entre 1 y 4 mg/ml. A la solución reducida de proteína almacenada en hielo se le agrega toxina funcionalizada con maleimida (10-12 equivalentes molares) de una solución madre de DMSO 10 mM. La reacción de conjugación se mezcla inmediatamente por completo mediante inversión y se deja continuar la conjugación durante un período de aproximadamente 1 hora antes de la purificación mediante pasaje por columnas centrífugas desalinizantes Zeba[™] (40 KDa MWCO; Peirce) preequilibradas con solución salina amortiguada con fosfato o citrato de sodio 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, pH 5,5. El eluato se agrupa, se esteriliza por filtro (Steriflip®, Millipore) y se almacena a 4 °C. Los ADC purificados se analizan para verificar el contenido de proteína total (ensayo de ácido bicínico, protocolo microBCA de Pierce, n° de catálogo 23225). El producto de ADC se caracteriza mediante PAGE reductora y no reductora, HPLC-HIC, SEC y RP-UPLC-MS. La distribución de fármaco y DAR promedio se derivan de la interpretación de los datos de HIC y LC-MS con referencia a PAGE no reductora. Los estimados de DAR están normalmente en el intervalo de 3,5-4,5. La afinidad relativa de ADC por la unión al antígeno (unión natural de equilibrio) se realiza de la forma descrita (anteriormente/posteriormente). La citotoxicidad selectiva de los conjugados de fármaco y anticuerpo se evalúa al probar la muerte de líneas celulares tanto positivas al antígeno como negativas al antígeno.

35

40

45

50

55

2. Ensayo de citotoxicidad *in vitro* selectiva de células positivas al antígeno mediante conjugados de fármaco y anticuerpo.

Se demuestra la muerte selectiva de una línea celular positiva al antígeno (que incluye las líneas celulares HCC1954, NCI-N87, HPAF-II y BxPC-3) en comparación con células Jukart negativas al antígeno para cada conjugado preparado. En resumen, se obtienen células de la ATCC y se cultivan tal como se describe en el folleto del producto proporcionado. Se colocan 25 000 células/ml (2500 células/pocillo) en placas de 96 pocillos de fondo plano con paredes oscuras Costar 3904. Se incuban células de líneas celulares adherentes durante una noche a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 % para permitir que las células se unieran a la superficie de la placa de microtitulación, mientras que las células en suspensión (Jurkat) se colocan en las placas inmediatamente antes de su uso. Se diluyen ADC directamente en el medio de cultivo celular adecuado a cinco veces la concentración final

60

65

deseada. Estos ADC se titulan normalmente 1:3 durante ocho etapas. Se incluye un control sin artículo de prueba presente (medio de cultivo solo) en cada placa de microtitulación por seis. Las titulaciones de ADC preparadas se agregan (25 µl/pocillo) por triplicado a cada línea celular evaluada. Se incuban las células y las titulaciones a 37 °C/CO₂ al 5 % durante tres noches (Jurkat) y cinco noches (todas las demás líneas celulares). Después de la incubación, la viabilidad celular se mide utilizando el reactivo CellTiter-Glo® al agregar 30 µl de CellTiter-Glo® preparado a cada pocillo de ensayo. Se incuban las muestras durante al menos veinte minutos en la oscuridad antes de medir la luminiscencia emitida utilizando un luminómetro de microplacas (500 ms de tiempo de integración). Las unidades de luminiscencia relativa (RLU, por sus siglas en inglés) recogidas se convierten a % de citotoxicidad utilizando solo el medio de cultivo de control mencionado anteriormente (% de citotoxicidad = 1 - [RLU de pocillo/RLU de promedio medio control solo]). Se representan gráficamente los datos (% citotoxicidad en func. de la concentración de ADC (log₁₀ (nM)) y se analizan mediante métodos de regresión no lineal utilizando el software GraphPad Prism v. 5.02 para obtener estimados de EC₅₀.

3. Estimación de la proporción entre anticuerpo y fármaco (DAR)

El grado promedio de conjugado de enlazador y toxina respecto al anticuerpo se evalúa mediante cromatografía de interacción hidrofóbica y espectrometría de masas-cromatografía líquida de alto rendimiento. Estas técnicas se describen en *Antibody Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology* vol. 1045, 2013. págs. 275-284. L. Ducry, Ed., y Asish B. Chakraborty, Scott J. Berger y John C. Gebler, *Characterization of an IgG1 Monoclonal Antibody and related Sub-structures by LC/ESI-TOF/MS: Application note*, Waters Corporation. Marzo de 2007. 720002107EN, Habitualmente, el DAR oscila entre 0 y 4.

Método 1. Cromatografía de interacción hidrofóbica

Los conjugados de anticuerpo se someten a cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC, por sus siglas en inglés) en una columna de butilo-NPR TSKgel® (Tosoh Bioscience; 4,6 mm x 35 mm i.d.; 2,5 µm de tamaño de partícula) conectada a un HPLC serie 1100 de Agilent. Las muestras se inyectan (5 µl) a o por encima de 4 mg/ml. Cuando sea necesario, se concentran los ADC antes de la inyección mediante el uso de dispositivo de concentración centrífuga PALL Nanosep Omega (n.º de parte OD010C34). Se emplea una elución de gradiente lineal comenzando a una fase móvil A al 95 %/fase móvil B al 5 %, pasando a una fase móvil A al 5 %/fase móvil B al 95 % durante un período de 12 minutos (fase móvil A: sulfato de amonio 1,5 M + fosfato de sodio 25 mM con pH 6,95, y fase móvil B: isopropanol al 25 %, fosfato de sodio 25 mM al 75 % con pH 6,95). La inyección de anticuerpo sin modificar proporcionó un medio para identificar el pico con DAR = 0. Los anticuerpos se detectan basándose en una absorbancia a 280 nm.

Método 2. Cromatografía líquida de ultra-rendimiento-espectrometría de masas para estimar la DAR

Se utiliza cromatografía líquida de ultra-rendimiento de fase inversa en tándem con ESI-QToF-espectrometría de masas (UPLC-ESI-QToF-MS) para caracterizar conjugados de fármaco y anticuerpo para la extensión de la conjugación del fármaco después de la reducción con ditiotreitól. La caracterización se lleva a cabo utilizando un Bio Acquity-UPLC® (clase H) acoplado a un espectrómetro de masas QToF Quattro-Premier™ con una fuente iónica de electropulverización (WATERS Corporation). El análisis de UPLC de la muestra de ADC reducido se lleva a cabo a 70 °C con una columna de 50 x 2,0 mm 5 u PR-1 100A PolymerX™ (Phenomenex, Inc.) y con una fase móvil compuesta por el disolvente A: acetonitrilo/agua/ácido trifluoroacético/ácido fórmico (10/90/0,1/0,1, % v/v) y el disolvente B: acetonitrilo/ácido fórmico (100/0,1, v/v). Los componentes de la muestra de ADC reducido se eluyen con un gradiente lineal comenzando con disolvente A/disolvente B (80/20 v/v) y una velocidad de caudal de 0,3 ml/min hasta disolvente A/disolvente B (40/60, v/v) durante 25 minutos y luego hasta disolvente A/disolvente B (10/90, % v/v) durante 2 minutos antes de equilibrar de vuelta a las condiciones iniciales. El tiempo total de ejecución es de 30 minutos. Los datos de corriente iónica total (TIC, por sus siglas en inglés) de MS ESI-ToF se recogen con un intervalo de 500-4500 m/z mediante el uso del software de adquisición de datos MassLynx™ (Waters Corporation). Los datos de masa del componente de muestra se recogen en el modo V iónico positivo y la fuente de ESI se hace funcionar a temperatura de fuente: 150 °C, temperatura de desolvatación: 350 °C, gas de desolvatación: 800 l/h, voltaje de cono de muestra: 60 V, voltaje capilar: 3,0 kV, gas de desolvatación: nitrógeno y gas de colisión: argón. Los espectros de TIC sumados para cada pico se desconvolucionaron mediante el algoritmo Maximum Entropy™ 1 (Max-Ent1) para generar los datos de masa neutra del componente de pico.

4. Preparación de muestras de ADC reducido para el análisis de UPLC/ESI-ToF MS

La reducción de los enlaces disulfuro en el anticuerpo del ADC (~ 1 µg/µl de solución) para generar las cadenas ligera y pesada se lleva a cabo mediante el uso de DTT 20 mM a 60 °C durante 20 minutos. Se emplea un volumen de inyección de 5-10 µl de la muestra de ADC reducido para el análisis de UPLC/ESI-ToF-MS.

Ejemplo 6.1 Ejemplos de conjugados de fármaco y anticuerpo

1. Preparación de conjugados de fármaco y anticuerpo a partir de enlazadores de fármacos funcionalizados con maleimida, métodos generales

A una solución de anticuerpo (1-10 mg/ml) en solución salina amortiguada con fosfato (pH 7,4) se le agregó TCEP de una solución madre recién preparada (1-10 mM) en el mismo amortiguador (2,0-3,0 equivalentes molares). La solución se mezcló completamente y se incubó a 37 °C durante 2 horas antes de enfriarla en hielo. En algunas instancias, la solución reducida de anticuerpo se diluyó adicionalmente con solución salina amortiguada con fosfato helada que contenía DTPA 1 mM para obtener una solución con una concentración final de proteína de entre 1 y 5 mg/ml. A la solución reducida de proteína almacenada en hielo se le agregó enlazador de fármaco funcionalizado con maleimida (8-10 equivalentes molares) de una solución madre de DMSO 10-20 mM. La reacción de conjugación se mezcló inmediatamente por completo mediante inversión y se dejó continuar la conjugación durante un período de aproximadamente 1 hora antes de la purificación mediante pasaje por columnas centrífugas desalinizantes Zeba™ (40 KDa MWCO; Peirce) preequilibradas con solución salina amortiguada con fosfato. El eluato se agrupó, se esterilizó por filtro (Steriflip®, Millipore) y se almacenó a 4 °C. El ADC purificado se analizó para verificar el contenido de proteína total (ensayo de ácido bicínico, protocolo microBCA de Pierce, n° de catálogo 23225). El producto de ADC se caracterizó mediante PAGE reductora y no reductora, HPLC-HIC, SEC y RP-UPLC-MS. La distribución de fármaco y DAR promedio se derivaron de la interpretación de los datos de HIC y LC-MS con referencia a PAGE no reductora. Los estimados de DAR estuvieron normalmente en el intervalo de 3,5-4,2. La afinidad relativa de ADC por la unión al antígeno (unión natural de equilibrio) se realizó de la forma descrita (posteriormente). La citotoxicidad selectiva de los conjugados de fármaco y anticuerpo se evaluó al probar la muerte de líneas celulares tanto positivas al antígeno como negativas al antígeno en un ensayo de citotoxicidad celular.

2. Ensayo de citotoxicidad *in vitro* selectiva de conjugados de fármaco y anticuerpo sobre células positivas al antígeno

Los conjugados de fármaco y anticuerpo se evaluaron para verificar la citotoxicidad en líneas celulares cultivadas que incluyen la línea celular de leucemia de linfocitos T humanos (ATCC: TIB-152); líneas celulares de cáncer de mama humano HCC1954 (ATCC: CRL-2338) y JIMT-1 (DSMZ: ACC 589), línea celular de adenocarcinoma de ovario humano SK-OV-3 (ATCC: HTB-77); línea celular de carcinoma gástrico humano NCI-N87 (ATCC: CRL-5822); línea celular de linfoma no Hodgkin humano Karpas299 (Health Protection Agency Culture Collections: 06072604) y línea celular de linfoma de Burkitt humano Ramos (ATCC: n.º de catálogo CRL-1596). Se demostró la muerte selectiva de una línea celular positiva al antígeno (que incluye las líneas celulares HCC1954, NCI-N87, SK-OV-3 y JIMT-1 para conjugados a base de Trastuzumab; línea celular Ramos para conjugados a base de Rituximab; Karpas 299 para conjugados a base de brentuximab (cAC-10) respecto a una o más líneas celulares negativas al antígeno (Jurkat, Karpas299 y Ramos para conjugados a base de Trastuzumab; NCI-N87 para conjugados a base de brentuximab (cAC-10) y Rituximab) para cada conjugado preparado. En resumen, se obtuvieron células de fuentes comerciales y se cultivaron tal como se describe en el folleto del producto proporcionado. Se sembraron las células a 25.000 células/ml (2.500 células/pocillo) en placas de 96 pocillos de fondo plano, con paredes oscuras Costar 3904. Se incubaron líneas celulares adherentes durante una noche a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5 % para permitir que las células se unieran a la superficie de la placa de microtitulación, mientras que las células en suspensión (Jurkat) se colocaron en las placas inmediatamente antes de su uso. Se diluyeron ADC directamente en el medio de cultivo celular adecuado a cinco veces la concentración máxima final deseada. Estos ADC se titularon normalmente 1:3 durante ocho etapas. Se incluyó un control sin artículo de prueba presente (medio de cultivo solo) en cada placa de microtitulación por seis. Cada una de las titulaciones de ADC preparadas se agregó (25 µl/pocillo) por triplicado a cada línea celular evaluada. Se incubaron las células y las titulaciones a 37 °C/CO₂ al 5 % durante tres noches (Jurkat) y cinco noches (todas las demás líneas celulares). Después de la incubación, se midió la disponibilidad celular utilizando CellTiter-Glo® al agregar 30 µl de CellTiter-Glo® preparado a cada pocillo del ensayo. Se incubaron las muestras durante al menos veinte minutos en la oscuridad antes de medir la luminiscencia emitida utilizando un luminómetro de microplacas (500 ms de tiempo de integración). Las unidades de luminiscencia relativa (RLU, por sus siglas en inglés) recogidas se convirtieron a % de citotoxicidad utilizando solo el medio de cultivo de control mencionado anteriormente (% de citotoxicidad = 1 - [RLU de pocillo/RLU de promedio medio control solo]). Se representaron gráficamente los datos (% citotoxicidad en func. de la concentración de ADC (log₁₀(nM)) y se ajustaron a curvas mediante métodos de regresión no lineal mediante el uso del software GraphPad Prism v. 5.02 para obtener estimados de EC₅₀.

3. Examen de la proporción entre anticuerpo y fármaco (DAR)

El grado promedio de conjugado de enlazador y toxina respecto al anticuerpo se evaluó mediante cromatografía de interacción hidrofóbica y espectrometría de masas-cromatografía líquida de alto rendimiento. Estas técnicas se describen en *Antibody Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology* vol. 1045, 2013, págs. 275-284. L. Ducry, Ed., y Asish B. Chakraborty, Scott J. Berger y John C. Gebler, *Characterization of an IgG1 Monoclonal Antibody and related Sub-structures by LC/ESI-TOF/MS: Application note*, Waters Corporation. Marzo de 2007. 720002107EN,

Método 1. Cromatografía de interacción hidrofóbica

Los conjugados de anticuerpo se sometieron a cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC, por sus siglas en inglés) en una columna de butilo-NPR TSKgel® (Tosoh Bioscience; 4,6 mm x 35 mm i.d.; 2,5 µm de tamaño de partícula) conectada a un HPLC serie 1100 de Agilent. Las muestras se inyectaron (5 µl) a o por encima de 4 mg/ml.

Se empleó una elución de gradiente lineal comenzando a una fase móvil A al 95 %/fase móvil B al 5 %, pasando a una fase móvil A al 5 %/fase móvil B al 95 % durante un período de 12 minutos (fase móvil A: sulfato de amonio 1,5 M + fosfato de sodio 25 mM con pH 6,95, y fase móvil B: isopropanol al 25 %, fosfato de sodio 25 mM al 75 % con pH 6,95). Los gradientes alternativos que utilizaban los mismos componentes de fase móvil ofrecieron una resolución mejorada de algunos conjugados. La inyección de anticuerpo sin modificar proporcionó un medio para identificar el pico con DAR = 0. Los anticuerpos fueron detectados basándose en una absorbancia a 280 nm.

Método 2. Cromatografía líquida de ultra-rendimiento-espectrometría de masas para estimar la DAR

Se utilizó cromatografía líquida de ultra-rendimiento de fase inversa en tándem con ESI-QToF-espectrometría de masas (UPLC-ESI-QToF-MS) para caracterizar conjugados de fármaco y anticuerpo para la extensión de la conjugación del fármaco después de la reducción con ditiotreitól. La caracterización se llevó a cabo utilizando un Bio Acquity-UPLC® (clase H) acoplado a un espectrómetro de masas QToF Quattro-Premier™ con una fuente iónica de electropulverización (WATERS Corporation). El análisis de UPLC de la muestra de ADC reducido se llevó a cabo a 70 °C con una columna de 50 x 2,0 mm 5 u PR-1 100A PolymerX™ (Phenomenex, Inc.) y con una fase móvil compuesta por disolvente A: acetonitrilo/agua/ácido trifluoroacético/ácido fórmico (10/90/0,1/0,1, % v/v) y disolvente B: acetonitrilo/ácido fórmico (100/0,1, v/v). Los componentes de la muestra de ADC reducido se eluyeron con un gradiente lineal comenzando con disolvente A/disolvente B (80/20 v/v y una velocidad de caudal de 0,3 ml/min hasta disolvente A/disolvente B (40/60, v/v) durante 25 minutos y luego hasta disolvente A/disolvente B (10/90, % v/v) durante 2 minutos antes de equilibrar de vuelta a las condiciones iniciales. El tiempo total de ejecución fue de 30 minutos. Los datos de corriente iónica total (TIC, por sus siglas en inglés) de MS ESI-ToF se adquirieron con un intervalo de 500-4500 m/z mediante el uso del software de adquisición de datos MassLynx™ (Waters Corporation). Los datos de masa del componente de muestra se adquirieron en el modo V iónico positivo y la fuente de ESI se hace funcionar a temperatura de fuente: 150 °C, temperatura de desolvatación: 350 °C, gas de desolvatación: 800 l/h, voltaje de cono de muestra: 60 V, voltaje capilar: 3,0 kV, gas de desolvatación: nitrógeno y gas de colisión: argón. Los espectros de TIC sumados para cada pico se desconvolucionaron mediante el algoritmo Maximum Entropy™ 1 (Max-Ent1) para generar los datos de masa neutra del componente de pico.

4. Preparación de muestras de ADC reducido para el análisis de UPLC/ESI-ToF MS

La reducción de los enlaces disulfuro en el anticuerpo del ADC (~ 1 µg/µl de solución) para generar las cadenas ligera y pesada se llevó a cabo mediante el uso de DTT 20 mM a 60 °C durante 20 minutos. Se empleó un volumen de inyección de 5-10 µl de la muestra de ADC reducido para el análisis de UPLC/ESI-ToF-MS.

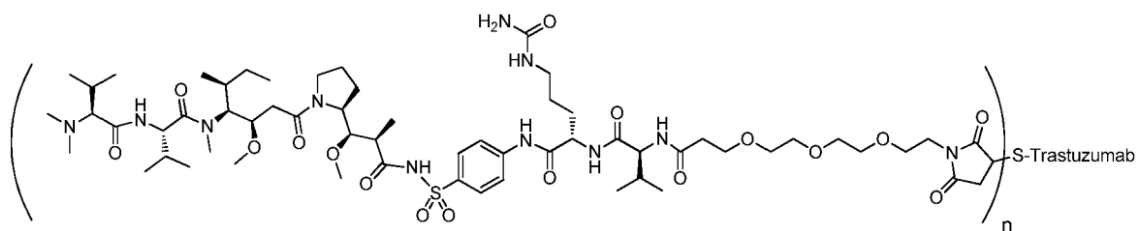
5. Determinación de la afinidad relativa de ADC para el antígeno mediante el uso de un ensayo de unión natural de equilibrio

La unión de anticuerpos y conjugados de estos se clasificó mediante el uso de un ensayo de unión natural de equilibrio. El experimento se llevó a cabo para comparar la unión de Trastuzumab y conjugados de fármaco y anticuerpo a base de Trastuzumab a la línea celular MDA-MB-231 (ATCC: HTB-26). Las células MDA-MB-231 se cultivaron tal como se describe en el folleto del producto proporcionado por el proveedor. Se lavaron las células (~ 60 % de confluencia) con PBS y se retiraron del matraz de cultivo mediante el uso de amortiguador de disociación (Sigma 5914), luego se volvieron a suspender en medio de cultivo celular y se transfirieron a una placa con fondo en forma de V de 96 pocillos (Sartstedt 82.1583.001; 50000 células por pocillo) antes de sedimentar las células (400 x g, 3 min) y descartar el sobrenadante. El anticuerpo y conjugados de fármaco y anticuerpo se titularon en medio de cultivo celular helado, 1:3 a partir de una concentración inicial de 60 µg/ml. Estas titulaciones (20 µl) se utilizaron para resuspender los sedimentos celulares y luego se incubaron con células durante la noche para alcanzar el equilibrio. El anticuerpo no unido se lavó y extrajo mediante sedimentación dos veces y resuspensión de las células en amortiguador FACS (200 µl; PBS pH 7,4 que contenía FBS al 1 %), luego se sedimentaron y resuspendieron en el mismo amortiguador (200 µl) que contenía 2 µg/ml de IgG antihumana Gt-Fc-Alexa647 (Jackson Immuno, n.º de catálogo 109-605-098) y 2,5 µg/ml de 7-actinomicina D (Sigma, n.º de catálogo A9400) e incubación en hielo durante 30 minutos. Las células se lavaron como se indicó anteriormente, se volvieron a suspender en 50 µl de amortiguador FACS y se analizaron mediante citometría de flujo (BD Accuri) y excluyendo eventos 7-AAD positivos. Se utilizó GraphPad para ajustar las curvas a los datos mediante el uso de análisis de regresión no lineal con 4 parámetros y pendiente variable. Los datos de un experimento de clasificación relativa representativo se muestran en la figura 6.

Ejemplo 7: Conjugados de fármaco y anticuerpo de compuestos de fórmula I.

Mediante el uso de métodos similares a los descritos en los ejemplos 5 y 6, se prepararon los siguientes ADC de trastuzumab, en donde n = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8. El promedio de n fue ~ 4.

T-MTvc-Compuesto 5



5 La citotoxicidad de T-MTvc-Compuesto 5 sobre líneas celulares NCI-N87 y HCC1954 Her2 positivas y sobre la línea celular Jurkat Her2 negativa se muestra en la tabla 3 y las figuras 3-5.

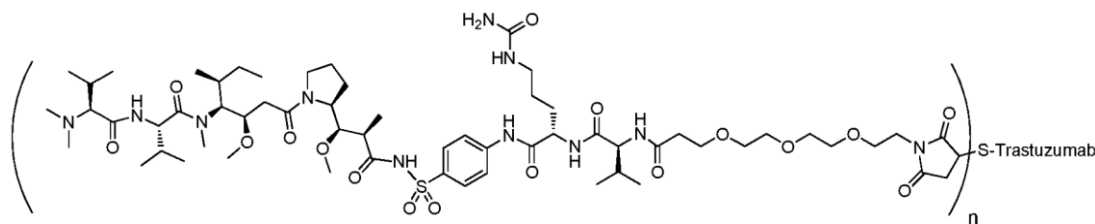
Tabla 3

Línea celular	Compuesto	EC ₅₀ (nM)
NCI-N87	T-MTvc-Compuesto 5	0,17
HCC1954	T-MTvc-Compuesto 5	0,09

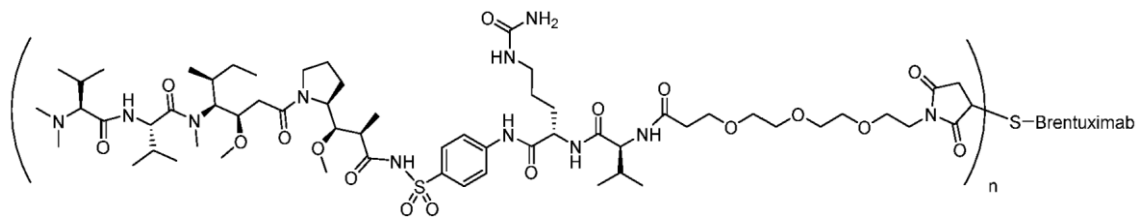
Ejemplo 7.1: Conjugados de fármaco y anticuerpo de compuestos de fórmula I.

Mediante el uso de métodos similares a los descritos en el ejemplo 6.1, se prepararon los siguientes conjugados de fármaco y anticuerpo a partir de Trastuzumab (Herceptin, Roche), Rituximab (Rituxan, Roche) y brentuximab (cAC-10) donde, en promedio, n es aproximadamente 4.

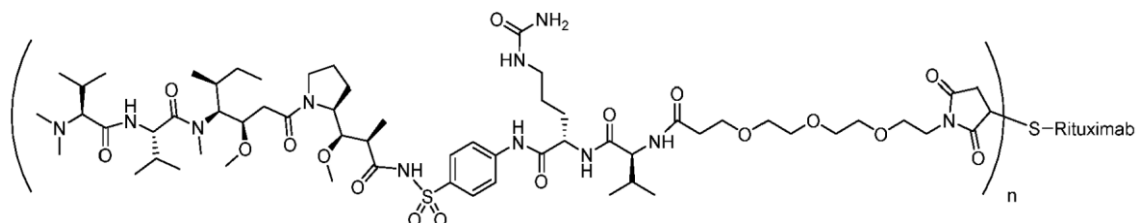
T-MTvc-Compuesto 5



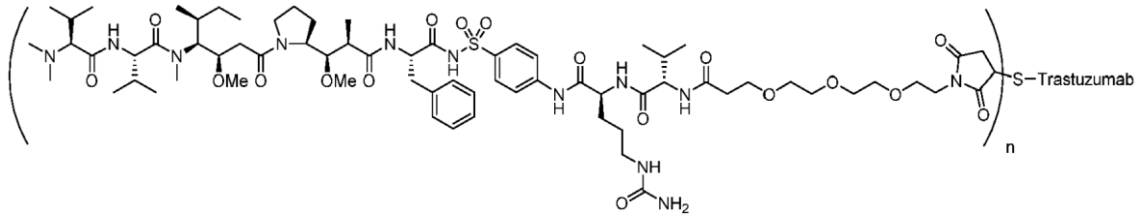
B-MTvc-Compuesto 5



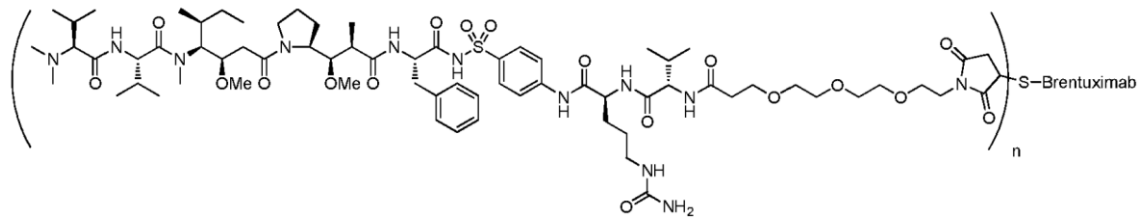
R-MTvc-Compuesto 5



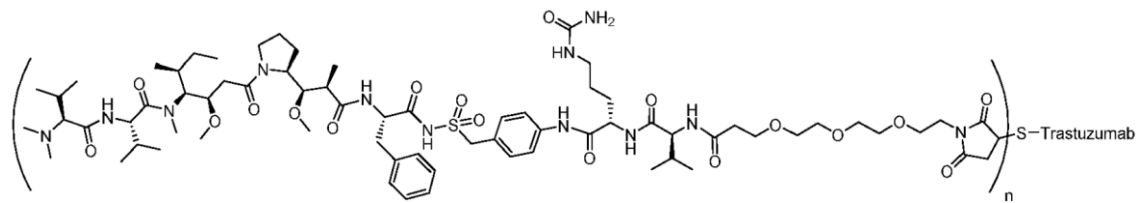
T-MTvc-Compuesto 11



5 **B-MTvc-Compuesto 11**

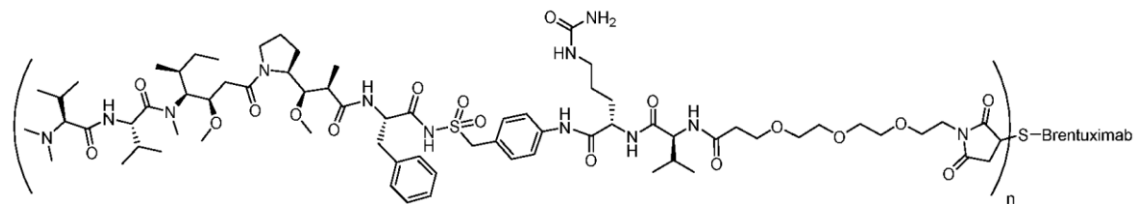


10 **T-MTvc-Compuesto 14**



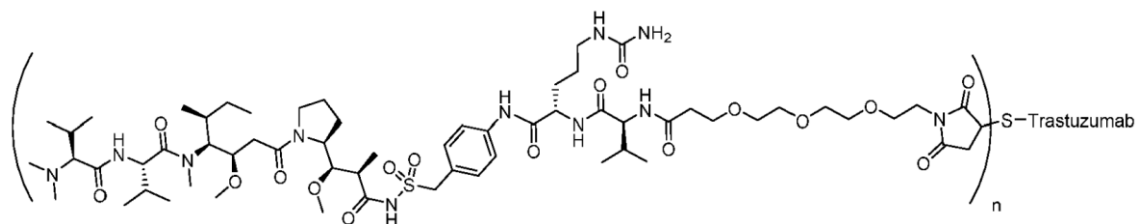
B-MTvc-Compuesto 14

15 **B-MTvc-Compuesto 14**

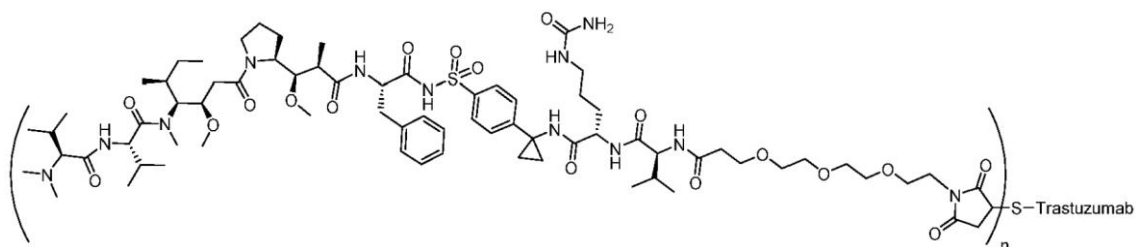


T-MTvc-Compuesto 8

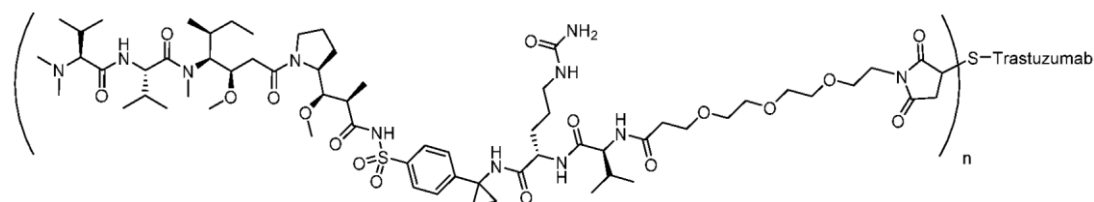
20 **T-MTvc-Compuesto 8**



T-MTvc-Compuesto 32

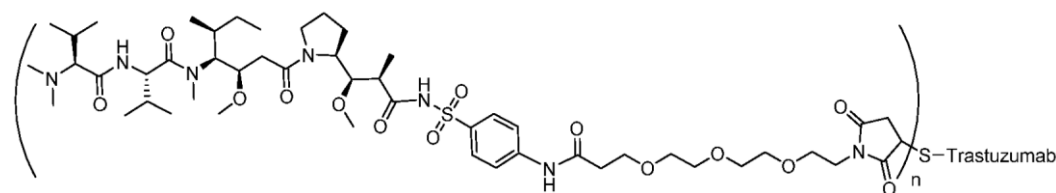


T-MTvc-Compuesto 30



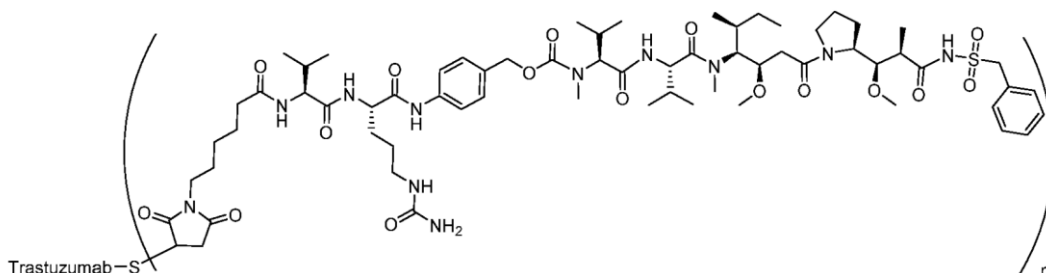
5

T-MT-Compuesto 5



10

T-MCvcPABC-Compuesto 80



15

La citotoxicidad de los conjugados de fármaco y anticuerpo del ejemplo 7 se evaluó sobre líneas celulares tanto positivas al antígeno como negativas al antígeno. Los resultados se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1

Compuesto	EC ₅₀ (nM)						
	NCI-N87	HCC-1954	SKOV-3	Karpas299	Ramos	Jurkat	JIMT-1
T-MTvc-Compuesto 5	0,016	0,093	0,012	NC	NC	NC	~ 0,01
T-MTvc-Compuesto 11	0,008					NC	
T-MTvc-Compuesto 32	0,011					NC	
T-MTvc-Compuesto 14	0,011		0,004			NC	~ 0,01
T-MTvc-Compuesto 8	0,090					NC	
T-MTvc-Compuesto 30	0,270					NC	
T-MT-Compuesto 5	0,111					NC	
T-MCvcPABC-Compuesto 33	0,157					NC	
B-MTvc-Compuesto 5	NC			0,001			
B-MTvc-Compuesto 11				0,004			
B-MTvc-Compuesto 14				0,001			
R-MTvc-Compuesto 5	NC				0,688		

NC = No citotóxico.

20

Ejemplo 8: Estudio sobre la eficacia de las toxinas en ratones con tumores PC-3

Los artículos de prueba se administran por vía IV. La dosificación está cerca de la dosificación máxima tolerada. Se administra una inyección del artículo de prueba cada siete días durante cuatro repeticiones/inyecciones o una inyección cada siete días durante tres repeticiones/inyecciones. Vehículo: Trehalosa al 6,3 %, Tween® 20 al 0,05 %, amortiguador de citrato 20 mM, pH 5,0, 4 °C.

1. Resumen del procedimiento

5 Se inoculan ratones lampiños atímicos hembra, adquiridos de Harlan Laboratories de 7-8 semanas de edad, por vía subcutánea en la espalda con 5×10^6 células tumorales PC-3 en el día experimental 0. Los tumores se miden cada lunes, miércoles y viernes. Once tumores alcanzan 150-200 mm³ de tamaño, se asignan los animales a uno de 4 grupos de tratamiento al equilibrar el tamaño del tumor promedio entre grupos. Los animales se tratan con su producto respectivo y las mediciones de los tumores continúan cada lunes, miércoles y viernes.

10 2. Células PC-3: Preparación de las células—Cultivo de tejido

Se obtiene la línea celular de adenocarcinoma humano de próstata Pc-3 de la ATCC (n.º de catálogo CRL-1435). Las células se inician a partir de un vial congelado de solución madre de laboratorio, que se congela a partir del vial original de la ATCC, se evalúa para verificar que sean negativo al micoplasma y se mantiene en tanques de nitrógeno líquido en el laboratorio. Se recogen los cultivos celulares con pasaje 3 y 10 y 80-90 % de confluencia para estudios *in vivo*. Las células se cultivan en medio F12 de Ham complementado con L-glutamina 2 mM y FBS al 10 %, en un entorno a 37 °C/CO₂ al 5 %. Las células se subcultivan una vez a la semana con una proporción dividida de 1:3 a 1:6 y se expanden. El medio se renueva una vez a la semana.

20 3. Preparación celular—Recolección para la implantación

Las células se enjuagan brevemente una vez con 2 ml de solución fresca de tripsina/EDTA (tripsina al 0,25 % con EDTA 4 Na), luego se aspira la tripsina/EDTA sobrante. Luego se agregan 1,5 ml de tripsina/EDTA y el matraz se deja horizontal para asegurar que las células se recubran de tripsina/EDTA. Las células entonces se incuban a 37 °C durante unos pocos minutos. Las células se observan en un microscopio invertido para asegurar que la capa celular se disperse, luego se agrega medio fresco y se toma una muestra celular de 50 µl y se mezcla con azul de tripano (1:1), las células se cuentan y se evalúa la viabilidad celular mediante el uso de un Cellometer® Auto T4. Las células se centrifugan a 1.000 rpm durante 7 minutos y el sobrenadante se aspira. Las células entonces se vuelven a suspender en medio de cultivo hasta la concentración adecuada para la inoculación. El volumen de inyección es de 100 µl por animal.

4. Implantación de células tumorales—SC en la espalda

35 En el día 0, $5,0 \times 10^6$ de células tumorales se implantan por vía subcutánea en la espalda de ratones a un volumen de 100 µl mediante el uso de una aguja calibre 27/28 bajo anestesia con isoflurano.

5. Alojamiento de los animales

40 Los animales se alojan en jaulas ventiladas, 2 a 5 animales por jaula, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales reciben comida esterilizada y agua a voluntad y el alojamiento y uso de los animales se realiza de acuerdo con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado Animal. Los animales se manipulan de forma aséptica y las jaulas se cambian cada 10-14 días.

45 6. Recolección de datos (tamaño tumoral)

Los ratones se monitorean cada lunes, miércoles y viernes para verificar el desarrollo tumoral. Las dimensiones de los tumores establecidos se miden con calibres. Los volúmenes tumorales se calculan de acuerdo con la ecuación $[L \times W^2] \div 2$, en donde la longitud (L) es el eje mayor del tumor. Los animales también se pesan al momento de la medición tumoral. Los tumores se dejan crecer hasta un máximo de 800 mm³.

50 7. Métodos de análisis: Curvas de volumen tumoral X crecimiento por día experimental

Se representan gráficamente los volúmenes tumorales de cada grupo durante los días de tratamiento. Las curvas de crecimiento finalizan para cada grupo en el momento en el que el animal alcanza la meta experimental de tamaño tumoral (800 mm³) o en el último día del estudio. Cualquier animal que se retire del estudio antes de finalizar la curva de crecimiento del grupo se retira por completo del estudio.

8. Exclusiones de animales

60 Cualquier animal con tumores ulcerativos, que requirieran la eutanasia del animal, con volúmenes tumorales de 700 mm³ o menores se retira del estudio y no contribuye al análisis de los datos (excepto por los días hasta la reaparición, si el tamaño tumoral final es > 2,0 veces mayor que en el día del tratamiento).

65 **Ejemplo 9: Hallazgo del intervalo de dosis de eficacia de conjugados de fármaco y anticuerpo en el modelo tumoral NCI-N87 mediante el uso de ratones NOD SCID Gamma**

Los artículos de prueba se administran por vía IV, un solo tratamiento. Las dosificaciones evaluadas son de 3, 7 y 12 mg/kg. Vehículo: citrato de sodio 20 mM, trehalosa al 6,3 %, Tween® 20 al 0,02 %, pH 5, 4 °C.

1. Resumen del procedimiento

76 (setenta y seis) ratones hembra NOD/SCID Gamma (NSG), obtenidos de The Jackson Laboratory (ratones JAX®) de 7-8 semanas de edad, se inoculan por vía subcutánea en la espalda baja con 5×10^6 células tumorales NCI-N87 en matrigel en el día experimental 0. Los tumores se miden cada lunes, miércoles y viernes. Once tumores alcanzan 150-200 mm³ de tamaño, se asignan los animales a uno de 10 grupos de tratamiento al equilibrar el tamaño del tumor promedio entre grupos. Los animales se tratan con su producto respectivo y las mediciones de los tumores continúan cada lunes, miércoles y viernes.

2. Preparación de las células—Cultivo de tejido: Células NCI-N87

Las células del carcinoma gástrico humano NCI-N87 se derivan a partir de una metástasis de hígado de un carcinoma bien diferenciado de estómago que se extrae antes del tratamiento citotóxico. Se pasa el tumor como un xenoinjerto en ratones lampiños atómicos durante tres pasadas antes de que se establezca la línea celular. Las células NCI-N87 se obtienen de la ATCC (n.º de catálogo CRL-5822) y se evalúan como negativas en RADIL a patógenos de ratón y micoplasma.

Las células se inician a partir de un vial congelado de solución madre de laboratorio, que se congela a partir del vial original de la ATCC y se mantienen en tanques de nitrógeno líquido en el laboratorio. Se recogen los cultivos celulares con pasaje 3 y 10 y 80-90 % de confluencia para estudios *in vivo*. Las células NCI-N87 se cultivan en medio RPMI 1640 con L-glutamina 1,0 mM y FBS al 10 %, en un entorno a 37 °C/CO₂ al 5 %. Las células se subcultivan una o dos veces a la semana con una proporción dividida de 1:3 o 1:4 y se expanden. El medio se renueva una vez a la semana. Las células se congelan con DMSO al 5 %.

3. Preparación celular—Recolección para la implantación

Las células se enjuagan brevemente una vez en solución salina balanceada de Hank sin Ca, Mg. Se agrega una solución fresca de tripsina/EDTA (tripsina al 0,25 % con EDTA 4 Na) y el matraz se deja horizontal para asegurar que las células se cubran con tripsina/EDA y luego se aspira la tripsina/EDTA sobrante. Las células se incuban a 37 °C durante unos pocos minutos. Las células se observan en un microscopio invertido hasta que la capa celular se hubo dispersado y se agrega entonces medio fresco. Luego se recogen 50 µl de suspensión celular y se mezclan con azul de tripano (1:1) y las células se cuentan y evalúan para verificar su viabilidad en un hemocitómetro. La viabilidad debe ser ≥ 90 %. Las células se centrifugan a 125 RCF (1000 rpm) durante 7 minutos y el sobrenadante se aspira. Las células se vuelven a suspender en medio de cultivo frío hasta 2 veces la concentración final deseada (100×10^6 /ml). La suspensión se mezcla (sobre hielo) con matrigel (1:1). Las suspensiones celulares resultantes (50×10^6 células/ml) se utilizan para suministrar 5×10^6 células en un volumen de inyección de 100 µl por animal. Todo el equipamiento que entra en contacto con matrigel (agujas, jeringas, puntas de pipetas) se enfría antes de la inyección.

4. Implantación de células tumorales—SC (NCI-N87)

Antes de la inoculación, se afeita un área de aproximadamente 2 x 2 cm en la región baja de la espalda de cada ratón y se limpia con alcohol. En el día 0, $5,0 \times 10^6$ de células tumorales se implantan por vía subcutánea en la espalda de ratones a un volumen de 100 µl mediante el uso de una aguja calibre 27/28 bajo anestesia con isoflurano.

5. Alojamiento de los animales

Los animales se alojan en jaulas ventiladas, 2 a 5 animales por jaula, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales recibieron comida esterilizada y agua a voluntad y el alojamiento y uso de los animales se realiza de acuerdo con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado Animal. Los animales se manipulan de forma aséptica y las jaulas se cambian cada 10-14 días.

6. Recolección de datos (tamaño tumoral)

Los ratones se monitorearon cada lunes, miércoles y viernes para verificar el desarrollo tumoral. Las dimensiones de los tumores establecidos se midieron con calibres. Los volúmenes tumorales se calcularon de acuerdo con la ecuación $[L \times W^2] \div 2$, en donde la longitud (L) es el eje mayor del tumor. Los animales también se pesaron al momento de la medición tumoral. Los tumores se dejaron crecer hasta un máximo de 800 mm³.

7. Métodos de análisis: Curvas de volumen tumoral X crecimiento por día experimental

Se representan gráficamente los volúmenes tumorales de cada grupo durante los días de tratamiento. Las curvas de

crecimiento finalizan para cada grupo en el momento en el que el animal alcanza la meta experimental de tamaño tumoral (800 mm³) o en el último día del estudio. Cualquier animal que se retire del estudio antes de finalizar la curva de crecimiento del grupo se retira por completo del estudio.

5 8. Exclusiones de animales

Cualquier animal con tumores ulcerativos, que requirieran la eutanasia del animal, con volúmenes tumorales de 700 mm³ o menores se retira del estudio y no contribuye al análisis de los datos (excepto por los días hasta la reaparición, si el tamaño tumoral final es > 2,0 veces mayor que en el día del tratamiento).

10

Ejemplo 10: Comparación de eficacia de conjugados de fármaco y anticuerpo en el modelo tumoral NCI-N87 mediante el uso de ratones NOD SCID Gamma

15

Los artículos de prueba se administran por vía IV, mediante una administración de 3 mg/kg. Vehículo: citrato de sodio 20 mM, trehalosa al 6,3 %, Tween® 20 al 0,02 %, pH 5.

1. Resumen del procedimiento

20

24 (veinticuatro) ratones hembra NOD/SCID Gamma (NSG), obtenidos de The Jackson Laboratory (ratones JAX®) de 7-8 semanas de edad, se inoculan por vía subcutánea en la espalda baja con 5×10^6 células tumorales NCI-N87 en matrigel en el día experimental 0. Los tumores se miden cada lunes, miércoles y viernes. Once tumores alcanzan 150-200 mm³ de tamaño, se asignan los animales a uno de 3 grupos de tratamiento al equilibrar el tamaño del tumor promedio entre grupos. Los animales se tratan con su producto respectivo y las mediciones de los tumores continúan cada lunes, miércoles y viernes.

25

2. Preparación de las células—Cultivo de tejido: Células NCI-N87

30

Las células del carcinoma gástrico humano NCI-N87 se derivan a partir de una metástasis de hígado de un carcinoma bien diferenciado de estómago que se extrae antes del tratamiento citotóxico. Se pasa el tumor como un xenoinjerto en ratones lampiños atímicos durante tres pasadas antes de que se establezca la línea celular. Las células NCI-N87 se obtienen de la ATCC (n.º de catálogo CRL-5822) y se evalúan como negativas en RADIL a patógenos de ratón y micoplasma.

35

Las células se inician a partir de un vial congelado de solución madre de laboratorio, que se congela a partir del vial original de la ATCC y se mantienen en tanques de nitrógeno líquido en el laboratorio. Se recogen los cultivos celulares con pasaje 3 y 10 y 80-90 % de confluencia para estudios *in vivo*. Las células NCI-N87 se cultivan en medio RPMI 1640 con L-glutamina 1,0 mM y FBS al 10 %, en un entorno a 37 °C/CO₂ al 5 %. Las células se subcultivan una o dos veces a la semana con una proporción dividida de 1:3 o 1:4 y se expanden. El medio se renueva una vez a la semana. Las células se congelan con DMSO al 5 %.

40

3. Preparación celular—Recolección para la implantación

45

Las células se enjuagan brevemente una vez en solución salina balanceada de Hank sin Ca, Mg. Se agrega una solución fresca de tripsina/EDTA (tripsina al 0,25 % con EDTA 4 Na) y el matraz se deja horizontal para asegurar que las células se cubran con tripsina/EDA y luego se aspira la tripsina/EDTA sobrante. Las células se incuban a 37 °C durante unos pocos minutos. Las células se observan en un microscopio invertido hasta que la capa celular se hubo dispersado, se agrega entonces medio fresco. Luego se recogen 50 µl de suspensión y se mezclan con azul de tripano (1:1) y las células se cuentan y evalúan para verificar su viabilidad en un hemocitómetro. La viabilidad debe ser ≥ 90 %. Las células se centrifugan a 125 RCF (1000 rpm) durante 7 minutos y el sobrenadante se aspira. Las células se vuelven a suspender en medio de cultivo frío hasta 2 veces la concentración final deseada (100×10^6 /ml). La suspensión se mezcla (sobre hielo) con matrigel (1:1). Las suspensiones celulares resultantes (50×10^6 c/ml) se utilizan para suministrar 5×10^6 células en un volumen de inyección de 100 µl por animal. Todo el equipamiento que entra en contacto con matrigel (agujas, jeringas, puntas de pipetas) se enfría antes de la inyección.

55

4. Implantación de células tumorales – vía subcutánea (NCI-N87)

60

Antes de la inoculación, se afeita un área de aproximadamente 2 x 2 cm en la región baja de la espalda de cada ratón y se limpia con alcohol. En el día 0, $5,0 \times 10^6$ de células tumorales se implantan por vía subcutánea en la espalda de ratones a un volumen de 100 µl mediante el uso de una aguja calibre 27/28 bajo anestesia con isoflurano.

5. Alojamiento de los animales

65

Los animales se alojan en jaulas ventiladas, 2 a 5 animales por jaula, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales reciben comida esterilizada y agua a voluntad y el alojamiento y uso de los animales se realiza de acuerdo

con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado Animal. Los animales se manipulan de forma aséptica y las jaulas se cambian cada 10-14 días.

6. Recolección de datos (tamaño tumoral)

Los ratones se monitorean cada lunes, miércoles y viernes para verificar el desarrollo tumoral. Las dimensiones de los tumores establecidos se miden con calibres. Los volúmenes tumorales se calculan de acuerdo con la ecuación $[L \times W^2] \div 2$, en donde la longitud (L) es el eje mayor del tumor. Los animales también se pesan al momento de la medición tumoral. Los tumores se dejan crecer hasta un máximo de 800 mm³.

7. Métodos de análisis: Curvas de volumen tumoral X crecimiento por día experimental

Se representan gráficamente los volúmenes tumorales de cada grupo durante los días de tratamiento. Las curvas de crecimiento finalizan para cada grupo en el momento en el que el animal alcanza la meta experimental de tamaño tumoral (800 mm³) o en el último día del estudio. Cualquier animal que se retire del estudio antes de finalizar la curva de crecimiento del grupo se retira por completo del estudio.

8. Exclusiones de animales

Cualquier animal con tumores ulcerativos, que requirieran la eutanasia del animal, con volúmenes tumorales de 700 mm³ o menores se retira del estudio y no contribuye al análisis de los datos (excepto por los días hasta la reaparición, si el tamaño tumoral final es > 2,0 veces mayor que en el día del tratamiento).

Ejemplo 10.1: Comparación de eficacia de conjugados de fármaco y anticuerpo en el modelo tumoral NCI-N87 mediante el uso de ratones NOD SCID Gamma

Los artículos de prueba se administraron por vía IV, un solo tratamiento, 5 mg/kg. Vehículo: solución salina amortiguada con fosfato sin calcio ni magnesio, pH 7,4.

1. Resumen del procedimiento

Ratones hembra NOD/SCID Gamma (NSG), obtenidos de The Jackson Laboratory (ratones JAX®) de 7-8 semanas de edad, se inocularon por vía subcutánea en la espalda baja con 5×10^6 células tumorales NCI-N87 en matrigel en el día experimental 0. Los tumores se midieron cada lunes, miércoles y viernes. Once tumores alcanzaron 150-200 mm³ de tamaño, se asignaron los animales a uno de 10 grupos de tratamiento al equilibrar el tamaño del tumor promedio entre grupos. Los animales se trataron con su producto respectivo y las mediciones de los tumores continuaron cada lunes, miércoles y viernes.

2. Preparación de las células—Cultivo de tejido: Células NCI-N87

Las células del carcinoma gástrico humano NCI-N87 se derivaron a partir de una metástasis de hígado de un carcinoma bien diferenciado de estómago que se extrajo antes del tratamiento citotóxico. Se pasó el tumor como un xenoinjerto en ratones lampiños atímicos durante tres pasadas antes de que se estableciera la línea celular. Las células NCI-N87 se obtuvieron de la ATCC (n.º de catálogo CRL-5822) y se evaluaron como negativas en RADIL a patógenos de ratón y micoplasma.

Las células se iniciaron a partir de un vial congelado de solución madre de laboratorio, que se congeló a partir del vial original de la ATCC y se mantuvieron en tanques de nitrógeno líquido en el laboratorio. Se recogieron los cultivos celulares con pasaje 3 y 10 y 80-90 % de confluencia para estudios *in vivo*. Las células NCI-N87 se cultivaron en medio RPMI 1640 con L-glutamina 1,0 mM y FBS al 10 %, en un entorno a 37 °C/CO₂ al 5 %. Las células se subcultivaron una o dos veces a la semana con una proporción dividida de 1:3 o 1:4 y se expandieron. El medio se renovó una vez a la semana. Las células se congelaron con DMSO al 5 %.

3. Preparación celular—Recolección para la implantación

Las células se enjuagaron brevemente una vez en solución salina balanceada de Hank sin Ca, Mg. Se agregó una solución fresca de tripsina/EDTA (tripsina al 0,25 % con EDTA 4 Na) y el matraz se dejó horizontal para asegurar que las células se cubrieran con tripsina/EDA, y luego se aspiró la tripsina/EDTA sobrantes. Las células se incubaron a 37 °C durante unos pocos minutos. Las células se observaron en un microscopio invertido hasta que la capa celular se hubo dispersado y se agregó entonces medio fresco. Luego se recogieron 50 µl de suspensión y se mezclaron con azul de tripano (1:1) y las células se contaron y evaluaron para verificar su viabilidad en un hemocitómetro. La viabilidad era ≥ 90 %. Las células se centrifugaron a 125 RCF (1000 rpm) durante 7 minutos y el sobrenadante se aspiró. Las células se volvieron a suspender en medio de cultivo frío hasta 2 veces la concentración final deseada (100×10^6 /ml). La suspensión se mezcló (sobre hielo) con matrigel (1:1). Las suspensiones celulares resultantes (50×10^6 células/ml) se utilizaron para suministrar 5×10^6 células en un volumen de inyección de 100 µl por animal. Todo el equipamiento que entrara en contacto con matrigel (agujas, jeringas,

puntas de pipetas) se enfrió antes de la inyección.

4. Implantación de células tumorales—SC (NCI-N87)

5 Antes de la inoculación, se afeitó un área de aproximadamente 2 × 2 cm en la región baja de la espalda de cada ratón y se limpió con alcohol. En el día 0, 5,0 × 10⁶ de células tumorales se implantaron por vía subcutánea en la espalda de ratones a un volumen de 100 µl mediante el uso de una aguja calibre 27/28 bajo anestesia con isoflurano.

10 5. Alojamiento de los animales

Los animales se alojan en jaulas ventiladas, 2 a 5 animales por jaula, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales recibieron comida esterilizada y agua a voluntad y el alojamiento y uso de los animales se realizó de acuerdo con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado Animal. Los animales se manipularon de forma aséptica y las jaulas se cambiaron cada 10-14 días.

15 6. Recolección de datos (tamaño tumoral)

20 Los ratones se monitorearon cada lunes, miércoles y viernes para verificar el desarrollo tumoral. Las dimensiones de los tumores establecidos se midieron con calibres. Los volúmenes tumorales se calcularon de acuerdo con la ecuación $[L \times W^2] \div 2$, en donde la longitud (L) es el eje mayor del tumor. Los animales también se pesaron al momento de la medición tumoral. Los tumores se dejaron crecer hasta un máximo de 800 mm³.

25 7. Métodos de análisis: Curvas de volumen tumoral X crecimiento por día experimental

Se representan gráficamente los volúmenes tumorales de determinados grupos de tratamiento durante los días de tratamiento en la figura 7. Las curvas de crecimiento finalizan para cada grupo en el momento donde el animal alcanza la meta experimental de tamaño tumoral (800 mm³) o en el último día del estudio. Cualquier animal que se haya retirado del estudio antes de finalizar la curva de crecimiento del grupo se retiró por completo del estudio.

30 8. Exclusiones de animales

Cualquier animal con tumores ulcerativos, que requirieran la eutanasia del animal, con volúmenes tumorales de 700 mm³ o menores se retiró del estudio y no contribuyó al análisis de los datos (excepto por los días hasta la reaparición, si el tamaño tumoral final era > 2,0 veces mayor que en el día del tratamiento).

35 Ejemplo 11: Comparación de eficacia de conjugados de fármaco y anticuerpo en el modelo tumoral Karpas 299 mediante el uso de ratones C.B-17/lcrHsd-Prkdc^{scid}.

40 Los artículos de prueba se administraron por vía IV, con cuatro administraciones de 1 mg/kg en el día 21, día 25, día 29 y día 33. Vehículo: solución salina amortiguada con fosfato sin calcio ni magnesio, pH 7,4.

1. Resumen del procedimiento

45 Ratones hembra C.B-17/lcrHsd-Prkdcscid (CB.17-SCID), obtenidos de Harlan, se inocularon con 1 millón de células de la línea tumoral que expresa CD30 Karpas 299 por vía subcutánea en la espalda baja. Los ratones se monitorearon cada lunes, miércoles y viernes para verificar el desarrollo tumoral. Las dimensiones de los tumores establecidos se midieron con calibres. Los volúmenes tumorales se calcularon de acuerdo con la ecuación $[L \times W^2] \div 2$, en donde la longitud es el eje mayor del tumor. Los animales también se pesaron al momento de la medición tumoral. Los animales se aleatorizaron el día 21 basándose en el volumen tumoral cuando el tamaño tumoral promedio era de 141,32 mm³. Los ratones por grupo se redujeron a 6 al momento de la aleatorización. Se programó que los ratones recibieran administraciones de bolo intravenoso en el día 21, día 25, día 29 y día 33 de su compuesto respectivo y los tumores se midieron cada lunes, miércoles y viernes.

55 1. Preparación de las células—Cultivo de tejido: Karpas 299

La línea celular de linfoma de linfocitos T humanos Karpas 299 se estableció a partir de la sangre periférica de un hombre de 25 años con linfoma no Hodgkin de linfocitos T en 1986; ahora se clasifica como linfoma anaplásico de células grandes (ALCL, por sus siglas en inglés) CD30+; las células portan el gen de fusión NPM-ALK. Las células Karpas 299 se obtuvieron de la Health Protection Agency Culture Collections (n.º de catálogo 06072604 y se evaluaron como negativas para micoplasma).

60 Las células se iniciaron a partir de un vial congelado de solución madre de laboratorio. Los cultivos celulares con pasaje de 3 a 10 y cuya densidad se mantuvo entre 5 × 10⁵ y 2 × 10⁶ células/ml se recogieron para estudios *in vivo*. Las células se cultivaron como suspensión en RPMI 1640 + glutamina 2 mM + suero fetal bovino al 20 %, en un entorno a 37 °C en CO₂ al 5 %. Las células se subcultivaron una vez a la semana con una proporción dividida de 1:3

y se expandieron.

2. Preparación celular—Recolección para la implantación

5 Las células se centrifugaron y lavaron una vez con una solución salina balanceada de Hank sin Ca, Mg. Luego se recogieron 50 µl de suspensión y se mezclaron con azul de tripano (1:1) y las células se contaron y evaluaron para verificar su viabilidad en un Cellometer Auto4. La viabilidad era $\geq 90\%$. Las células se centrifugaron a 200 g durante 7 minutos y el sobrenadante se aspiró. Las células se volvieron a suspender en medio de cultivo para la inoculación sc. La suspensión celular resultante se utilizó para administrar 1×10^6 células por vía subcutánea a un volumen de 50 µl.

3. Implantación de células tumorales – vía subcutánea (Karpas 299)

15 Antes de la inoculación, se afeitó un área de aproximadamente 2×2 cm en la región baja de la espalda de cada ratón y se limpió con alcohol. En el día 0, 1×10^6 de células se implantaron por vía subcutánea en la espalda de ratones a un volumen de 50 µl mediante el uso de una aguja calibre 27/28 bajo anestesia con isoflurano.

4. Alojamiento de los animales

20 Los animales se alojaron en jaulas ventiladas, 3 a 4 animales por jaula, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales recibieron comida esterilizada y agua a voluntad y el alojamiento y uso de los animales se realizó de acuerdo con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado Animal. Los animales se manipularon de forma aséptica y las jaulas se cambiaron cada 10-14 días.

5. Recolección de datos (tamaño tumoral)

25 Los ratones se monitorearon para verificar el desarrollo tumoral cada fin de semana, comenzando 11 días después de la inoculación. Las dimensiones de los tumores establecidos se midieron con calibres. Los volúmenes tumorales se calcularon de acuerdo con la ecuación $[L \times W^2] \div 2$, en donde la longitud (mm) es el eje mayor del tumor. Los animales también se pesaron al momento de la medición tumoral (lunes, miércoles y viernes únicamente. Una vez que se administraron los tratamientos, los tumores se midieron tres veces por semana el lunes, miércoles y viernes. Los tumores se dejaron crecer hasta un máximo de 800 mm^3 .

6. Métodos de análisis: Curvas de volumen tumoral X crecimiento por día experimental

35 Se representan gráficamente los volúmenes tumorales de cada grupo durante los días de tratamiento en la figura 8. Las curvas de crecimiento finalizan para cada grupo en el momento en el que el animal alcanza la meta experimental de tamaño tumoral (800 mm^3) o en el último día del estudio. Cualquier animal que se haya retirado del estudio antes de finalizar la curva de crecimiento del grupo se retiró por completo del estudio.

7. Exclusiones de animales

40 Cualquier animal con tumores ulcerativos, que requirieran la eutanasia del animal, con volúmenes tumorales de 700 mm^3 o menores se retiró del estudio y no contribuyó al análisis de los datos (excepto por los días hasta la reaparición, si el tamaño tumoral final era $> 2,0$ veces mayor que en el día del tratamiento).

Ejemplo 12: Tolerabilidad de conjugados de fármaco y anticuerpo en ratas hembra Sprague Dawley

50 Los artículos de prueba se administraron por vía IV, con una única administración en el día 0. Formulación del artículo de prueba: solución salina amortiguada con fosfato sin calcio ni magnesio, pH 7,4.

1. Resumen del procedimiento

55 Cuarenta y tres ratas hembra Sprague Dawley (especie 001) se obtuvieron de Charles River Labs y se dejaron aclimatar durante un período de 5 días antes de comenzar el estudio. Los artículos de prueba se administraron por vía IV, en el día 0. Los pesos de los animales y las observaciones clínicas se tomaron antes de la inyección en el día de la inyección, a diario durante al menos tres días después de la administración, tres veces por semana después de esto hasta la meta experimental del estudio (preferentemente cada lunes, miércoles y viernes) y justo antes de la eutanasia. En el día 22, se realizó la eutanasia de los animales mediante CO_2 y se realizó la necropsia. Se fotografió cualquier observación inusual.

2. Alojamiento de los animales

65 Los animales se alojaron en jaulas ventiladas, 2-3 por jaula, en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales recibieron comida y agua a voluntad y el alojamiento y uso de los animales se realizó de acuerdo con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado Animal. Las jaulas se cambiaron una vez a la semana. Fue obligatorio un período

de aclimatación de al menos 5 días antes de iniciar el tratamiento. Se realizó un examen físico y determinación del peso corporal durante el período de aclimatación. Solamente se utilizaron animales sanos para el estudio. Todos los animales se identificaron mediante un tatuaje en la cola. Las jaulas se marcaron con tarjetas individuales con información acerca del número de protocolo, número de habitación, director del estudio, teléfono del director del estudio, especie y raza, peso, fecha de recepción y proveedor.

3. Administración del artículo de prueba

Los animales se pesaron individualmente y se les administraron los volúmenes necesarios del artículo de prueba para suministrar la dosis prescrita.

4. Administración intravenosa

A las ratas se les administraron soluciones por medio de inyección intravenosa (IV) de bolo. Las soluciones de dosificación se administraron por medio de bolo intravenoso mediante el uso de una aguja < 23 G a través de la vena lateral de la cola. El volumen de dosificación de 7 ml/kg se ajustó al peso corporal individual tomado el día antes del día de inyección. Las ratas tratadas se devolvieron a sus jaulas y se observaron hasta que se produjese la hemostasia.

5. Observaciones de los animales y recopilación de datos

El monitoreo para verificar toxicidad aguda se facilitó mediante el uso de un "Registro de observación clínica posterior a la inyección" para evaluar la morbilidad y ayudar a determinar metas experimentales más humanas hasta 24 horas después de la administración. Al final del día de trabajo en un día de administración (~ 6 horas después de la dosificación), si los animales presentaban síntomas clínicos a un nivel en el que no se pudieran dejar durante la noche en observación, se los sacrificó y se consideró que habían alcanzado la meta experimental de toxicidad o se monitorearon de forma regular hasta que se considerara que era seguro dejarlos durante la noche.

Después de 24 horas de la administración, se monitorearon los animales para verificar la toxicidad crónica mediante el uso de un "Registro de observación clínica para el monitoreo de la tolerabilidad". Los animales se monitorearon con el siguiente cronograma/frecuencia: Antes de la inyección en el día de la inyección, a diario durante al menos tres días después de la administración, tres veces por semanas después de esto hasta la meta experimental del estudio (preferentemente cada lunes, miércoles y viernes) y justo antes de la eutanasia. Los animales se monitorearon más frecuentemente si presentaban señales significativas de morbilidad. Cualquier animal que alcanzara la meta experimental humana se sacrificó y se realizaron las necropsias para identificar cualquier anomalía importante en el hígado, bazo, riñón, pulmón, corazón, tracto gastrointestinal y vejiga.

Los resultados del estudio de tolerabilidad se muestran en las figuras 9 y 10.

Estos datos demuestran que los compuestos truncados de fórmula I, en donde X está ausente, son tolerados mejor que sus equivalentes de longitud completa, en donde X es $-C(O)NHCH(CH_2R^3)-$.

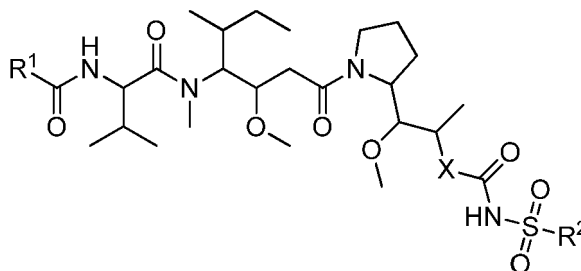
Ejemplo 13. Ensayo de interrupción del ciclo celular

Se obtuvieron células Jurkat (ATCC), cultivadas en medio RPMI-1640 complementado con FBS al 10 %, en crecimiento logarítmico. 1 millón de células/ml se colocaron en una placa de cultivo de tejido de 12 pocillos en un volumen de 950 μ l. Las células se trataron con el compuesto 5 en 50 μ l de medio de cultivo, de manera que la concentración final del compuesto 5 fuese 50 nM, a las células de control se les colocaron 50 μ l de medio de cultivo solo. Se incubaron las células durante 24 horas, a 37 °C y 5 % de CO₂ en una incubadora humidificada. Después de la incubación, las células se volvieron a suspender completamente y se transfirieron tubos de FACS de 5 ml y se almacenaron en hielo. Se realizaron dos lavados mediante el centrifugado de las células en una centrífuga de rotor giratorio a 450 \times g durante 4 minutos y se volvieron a suspender en 1 ml de PBS helado. Las células se fijaron a través de la adición de 3 ml de etanol helado al 100 % por goteo en un vórtice y se almacenaron inmediatamente a 4 °C durante 1 hora. Durante 1 hora de incubación, se prepararon las siguientes soluciones de tinción en PBS helado: 10 μ g/ml de yoduro de propidio, 10 U/ml de ARNasa 1f y Triton X-100 al 0,05 %. Después de 1 hora de incubación por fijación, se retiró el etanol mediante el centrifugado de las células, tal como se describió anteriormente y se lavaron dos veces en 1 ml de PBS helado. Las células se volvieron a suspender en 500 μ l de la solución de tinción mencionada anteriormente y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se recogieron los eventos en un citómetro BD C6 HTFC y se retiraron desechos y dobletes mediante regulación. Se generaron histogramas mediante el uso de FCS Express y se representó gráficamente la cantidad de eventos en función de la fluorescencia en FL-3.

Se muestran los datos representativos de este ensayo en la figura 11. Los histogramas de contenido de ADN muestran la mayoría de las células sin tratar en la fase G0/G1 con un desplazamiento marcado hacia la fase G2/M del ciclo celular después del tratamiento con el compuesto 5.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
en donde:

R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇ alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterocicilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o

R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;

R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;

R^b es alquilo C₁-C₆ y

R^c es R^d-C(CH₃)₂- y

R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquiloxi C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquiloxi C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente que se selecciona de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o

R^b y R^c, tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidillo;

R² se selecciona de: alquilo C₁-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆ y

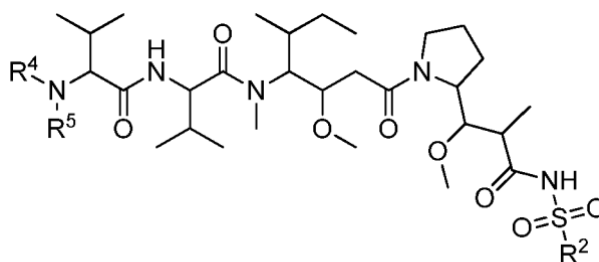
X está ausente.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ se selecciona de: amino-alquilo C₁-C₆, amino-arilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, amino-heterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes que se seleccionan de alquilo C₁-C₆ y halo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloacilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆.

5. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula Ia:

**Ia**

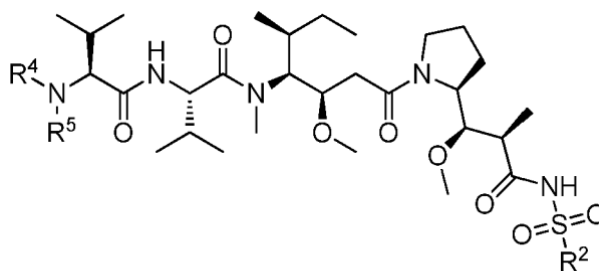
o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
en donde:

5

R² se selecciona de: alquilo C₁-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆ y
R⁴ y R⁵ se seleccionan cada uno independientemente de: H y alquilo C₁-C₆.

10

6. Un compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula Id:

**Id**

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,
donde:

20

R² se selecciona de: alquilo C₁-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆ y
R⁴ y R⁵ se seleccionan cada uno independientemente de: H y alquilo C₁-C₆.

25

7. El compuesto de la reivindicación 5 o 6, en donde: R² se selecciona de: alquilo C₂-C₆, arilo, arilalquilo C₁-C₆, cicloalquilo C₄-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, heteroarilo, heteroarilalquilo C₁-C₆ y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆.

30

8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde cada uno de R⁴ y R⁵ es alquilo C₁-C₆.

35

9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde cada uno de R⁴ y R⁵ es metilo.

10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde R⁴ es H y R⁵ es alquilo C₁-C₆.

40

11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde R⁴ es H y R⁵ es metilo.

12. El compuesto de una de las reivindicaciones 1 a 11, en donde R² se selecciona de: arilo, arilalquilo C₁-C₆, heteroarilo y heteroarilalquilo C₁-C₆, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalco C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆.

45

13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde R² se selecciona de: arilo y arilalquilo C₁-C₆, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: amino, aminoalquilo C₁-C₆ y aminocicloalquilo C₃-C₇.

5

14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde R² se selecciona de: 4-aminobencilo, 4-(aminometil)bencilo, 4-(aminometil)fenilo, 4-aminofenilo y bencilo.

10

15. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de los siguientes o una sal farmacéuticamente aceptable de este:

	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-aminofenilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 5)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)metilsulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 8)</p>
	<p>(R)-N-((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)-1-isopropilpiperidin-2-carboxamida (Compuesto 16)</p>
	<p>(S)-2-(2-amino-2-metilpropanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 17)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)-3-fenilbutanamido)butanamida (Compuesto 19)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)butanamido)butanamida (Compuesto 20)</p>

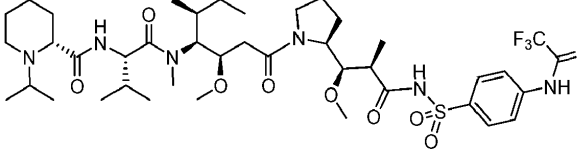
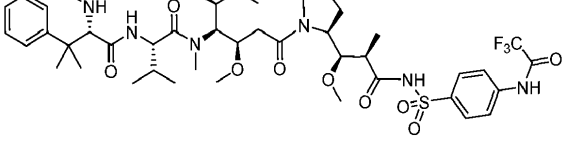
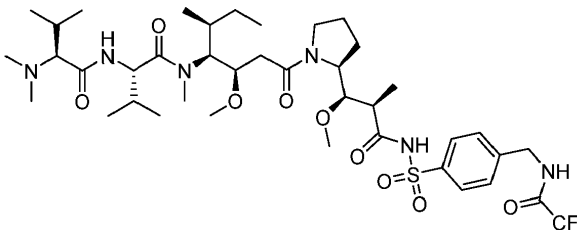
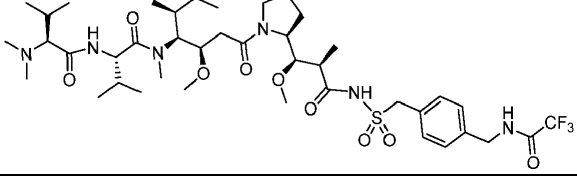
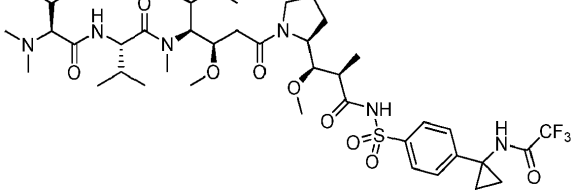
(continuación)

	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-(aminometil)fenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 22)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((4-(aminometil)fenil)metil) sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 26)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(4-(1-aminociclopropil)fenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 30)</p>
	<p>(S)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((fenilmetil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetil-2-((S)-3-metil-2-(metilamino)butanamido)butanamida (Compuesto 33)</p>
	<p>4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((5)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoyl)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoyl)sulfamoyl)benzoato de metilo (Compuesto 34).</p>

16. Un compuesto seleccionado de los siguientes o una sal farmacéuticamente aceptable de este:

	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 4)</p>
	<p>(S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)metil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 7)</p>

(continuación)

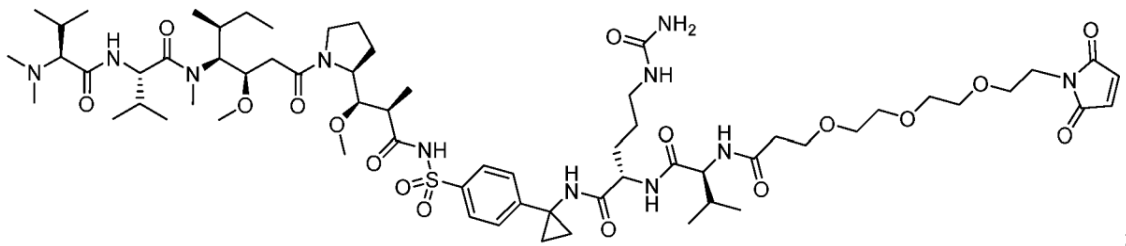
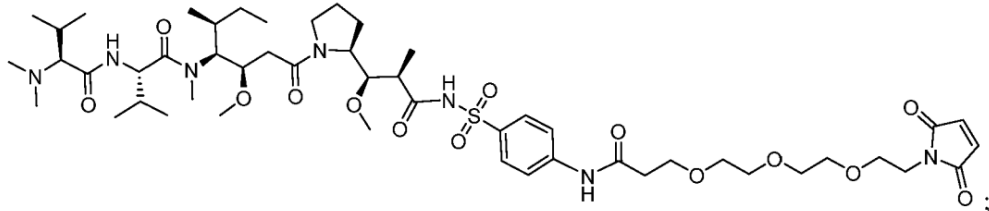
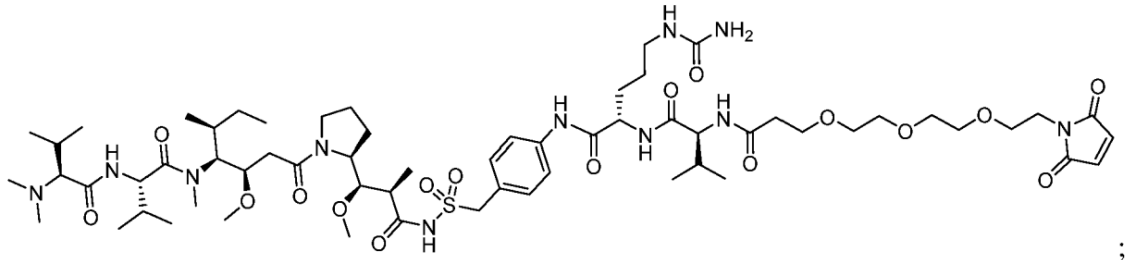
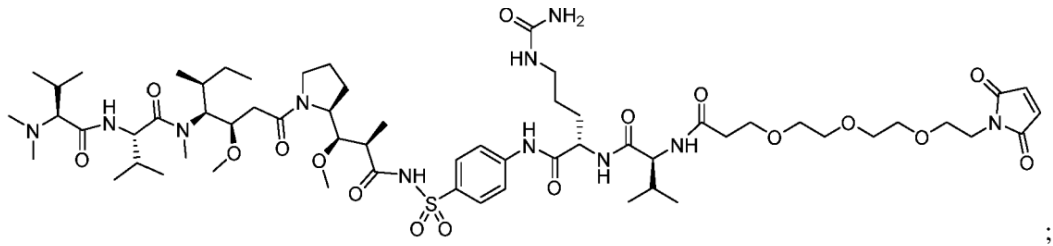
	<p>(<i>R</i>)-1-isopropil-<i>N</i>-((<i>S</i>)-1-(((3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)-3-metoxi-1-((<i>S</i>)-2-((1<i>R</i>,2<i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)piperidin-2-carboxamida (Compuesto 15)</p>
	<p>(1-(((<i>S</i>)-1-(((3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)-3-metoxi-1-((<i>S</i>)-2-((1<i>R</i>,2<i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)amino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)carbamato de <i>terc</i>-butilo (Compuesto 18)</p>
	<p>(<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-<i>N</i>-((3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)-3-metoxi-1-((<i>S</i>)-2-((1<i>R</i>,2<i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-<i>N</i>,3-dimetilbutanamida (Compuesto 21)</p>
	<p>(<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-<i>N</i>-((3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)-3-metoxi-1-((<i>S</i>)-2-((1<i>R</i>,2<i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)metil)fenil)metil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-<i>N</i>,3-dimetilbutanamida (Compuesto 25)</p>
	<p>(<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-<i>N</i>-((3<i>R</i>,4<i>S</i>,5<i>S</i>)-3-metoxi-1-((<i>S</i>)-2-((1<i>R</i>,2<i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(4-(1-(2,2,2-trifluoroacetamido)cyclopropil)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-<i>N</i>,3-dimetilbutanamida (Compuesto 29)</p>

17. Una composición de fórmula II:

5 (T)-(L)-(D) II

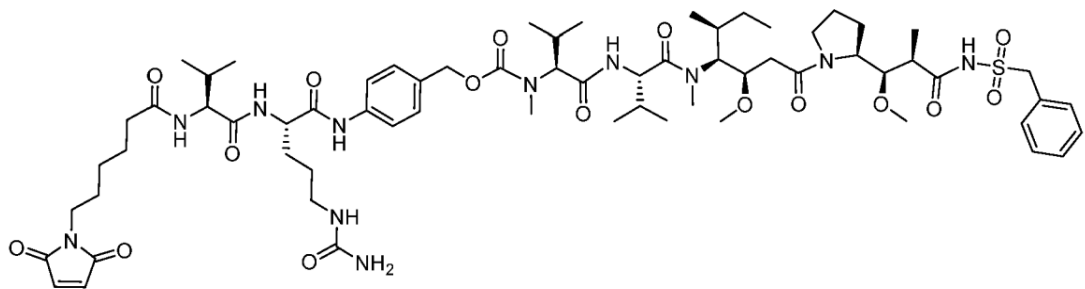
en donde (T) es un resto de direccionamiento capaz de unirse a una célula objetivo, (L) es un enlazador y (D) es un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.

10 18. La composición de la reivindicación 17, en donde (L)-(D) tiene una de las estructuras siguientes:



5

o

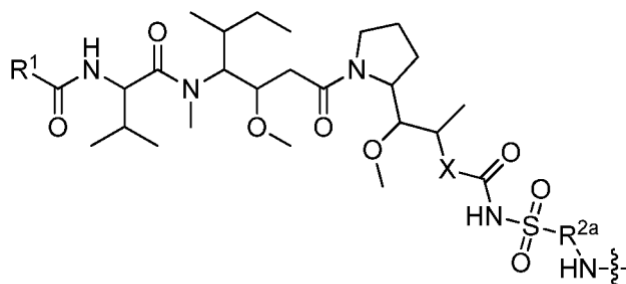


19. Una composición de fórmula III:

10 (T)-(L¹)-(D¹) III

en donde:

15 (T) es un resto de direccionamiento capaz de unirse a una célula objetivo;
 (D¹) es el compuesto de la reivindicación 1 que tiene la estructura (IV):



IV

en donde:

- 5 R¹ se selecciona de: aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, aminoheterociclilo y heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de arilo, arilalquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquiltio C₁-C₆, carboxilo, carboxamida, cicloalquilo C₃-C₇, cicloalquil C₃-C₇-alquilo C₁-C₆, guanidino, halo, haloalquilo C₁-C₆, heterociclilo, heterociclilalquilo C₁-C₆, hidroxilo y tio o
 10 R¹ es R^aR^bNCH(R^c)-;
 R^a se selecciona de: H y alquilo C₁-C₆;
 R^b es alquilo C₁-C₆ y
 R^c es R^d-C(CH₃)₂- y
 R^d se selecciona de: H, arilo, cicloalquilo C₃-C₇ y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente
 15 sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: aciltio C₁-C₄, alquenilo C₂-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilamino C₁-C₄, alquiloxi C₁-C₄, amino, aminoalquilo C₁-C₄, halo, haloalquilo C₁-C₄, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₄ y tio, en donde alquenilo C₂-C₄, alquilamino C₁-C₄ y alquiloxi C₁-C₄ están además opcionalmente sustituidos con un sustituyente seleccionado de alquilarilo C₁-C₄, hidroxilo y tio o
 20 R^b y R^c tomados junto con los átomos a los que cada uno se une, forman un heterociclidifilo;
 X está ausente;
 R^{2a} se selecciona de: alquildifilo C₂-C₆, arildifilo, cicloalquildifilo C₄-C₇, heteroarildifilo y heterociclidifilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de: alcoxi C₁-C₆, alcoxycarbonilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆, alquilamino C₁-C₆, amino, aminoalquilo C₁-C₆, aminoarilo, aminocicloalquilo C₃-C₇, arilo, carboxamida, carboxilo, ciano, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, halo, hidroxilo, nitro, tio y tioalquilo C₁-C₆ y
 25 (L¹)-(T) tiene la estructura (V):
 (AA)₁-(AA)_n-(L²)-(T) V

en donde:

- 30 el grupo -NH- unido a R^{2a} en la fórmula IV forma un enlace peptídico enzimáticamente escindible (JPB) con (AA)₁ en la fórmula V;
 cada AA es independientemente un aminoácido;
 n es un número entero de 0 a 25 y
 (L²) es opcionalmente la porción restante del enlazador (L¹)
 35 y en donde (AA)₁-(AA)_n, tomados juntos comprenden una secuencia de aminoácido capaz de facilitar la escisión enzimática del JPB.
20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19, en donde (T) es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo monoclonal.
- 40 21. La composición de la reivindicación 20, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo biespecífico.
- 45 22. La composición de la reivindicación 20 o 21, en donde el anticuerpo o fragmento de anticuerpo se une específicamente a un antígeno para células cancerosas.
23. La composición de la reivindicación 22, en donde el antígeno para células cancerosas es HER2.
- 50 24. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una sal farmacéuticamente aceptable de este o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 55 25. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23, para su uso en terapia.

26. El compuesto o composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde la terapia es tratamiento contra el cáncer.

Figura 1

Línea celular HCC1954

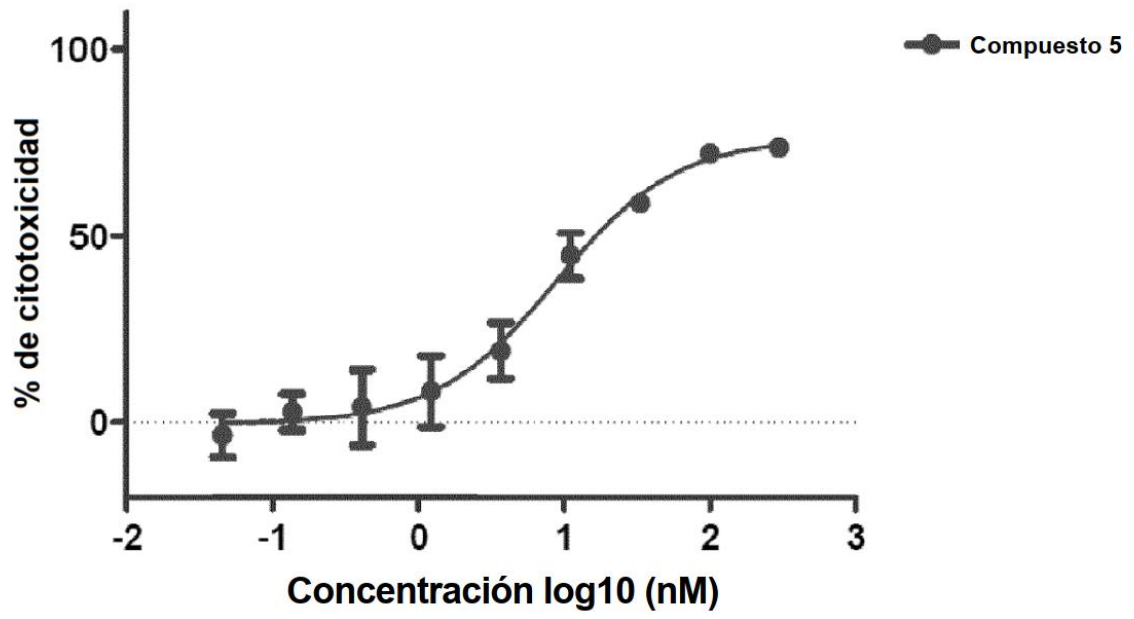


Figura 2

Línea celular Jurkat

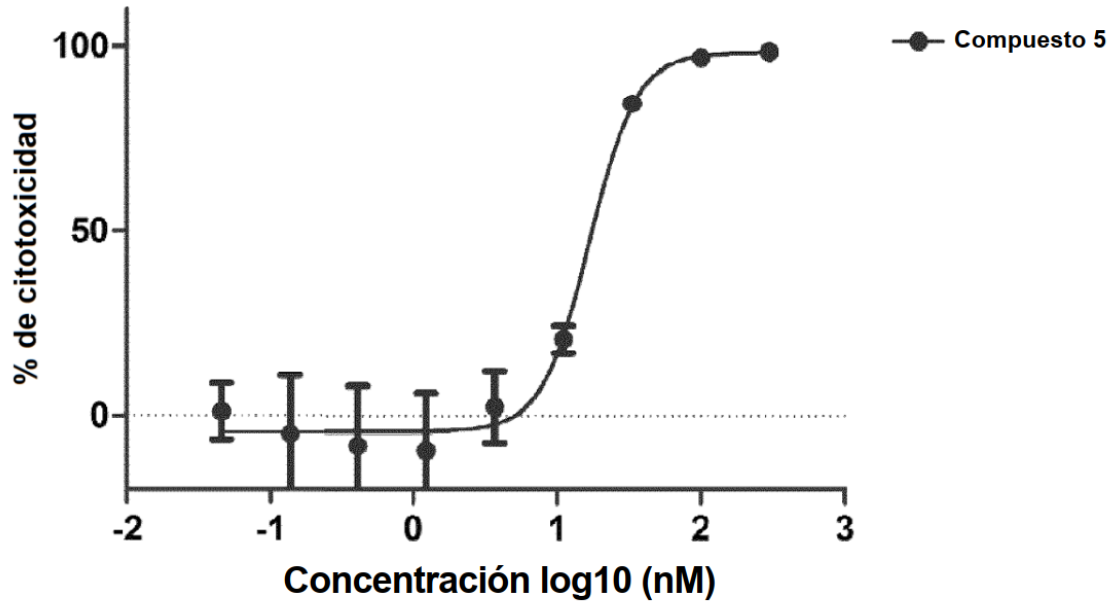


Figura 3

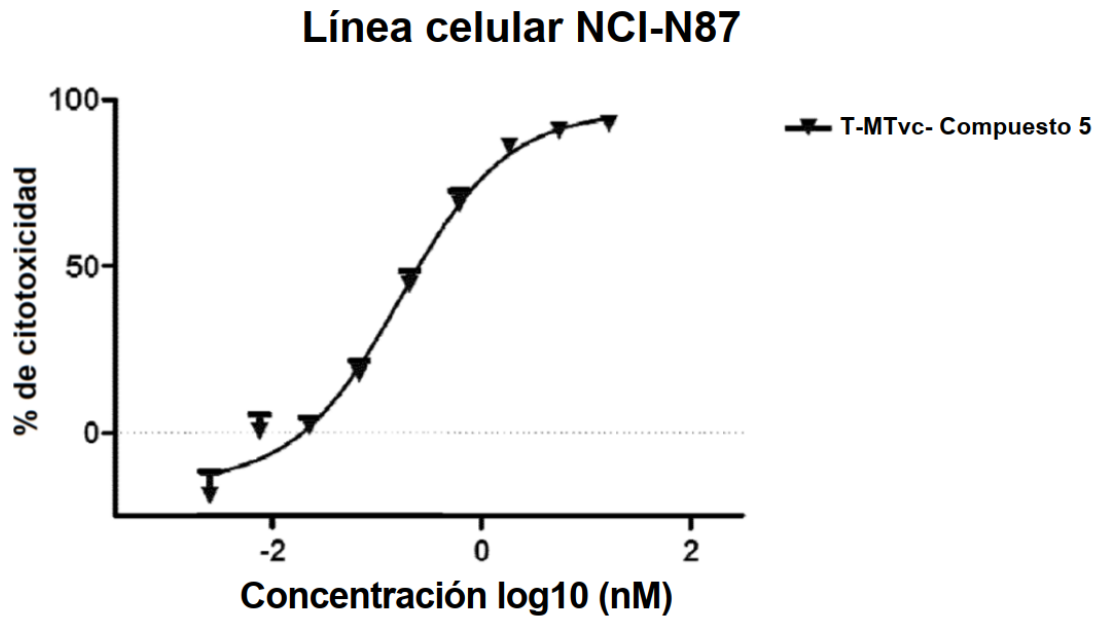


Figura 4

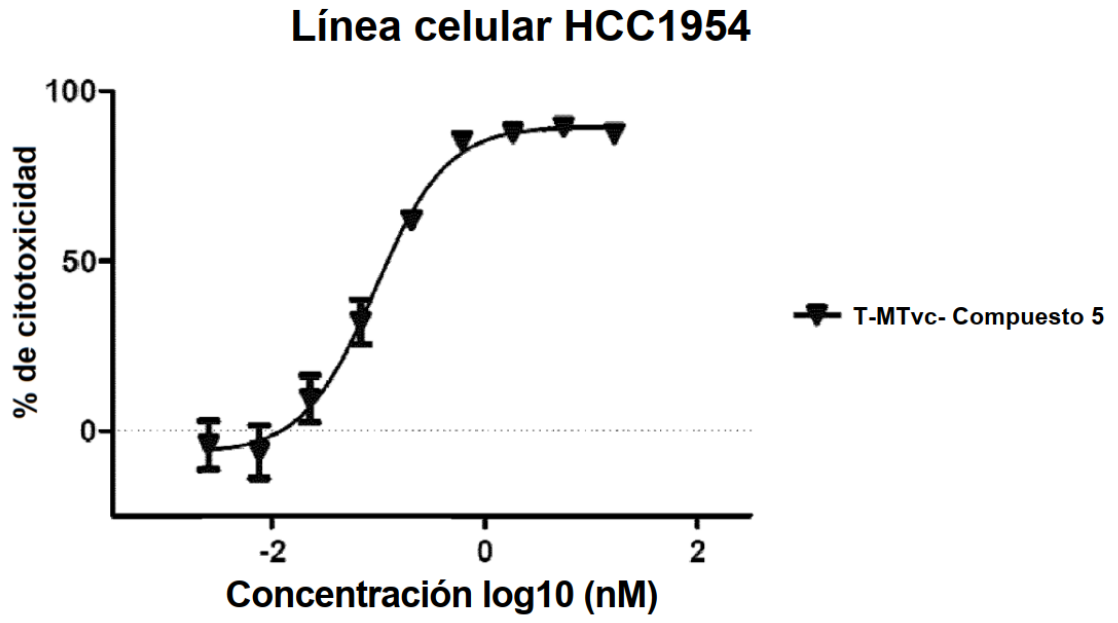


Figura 5

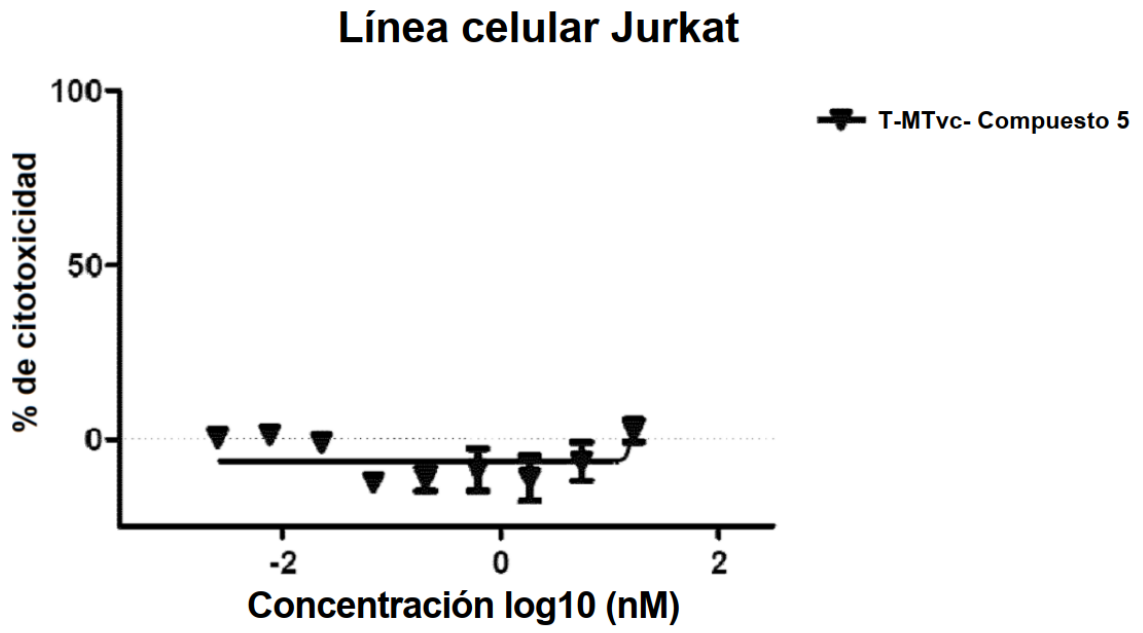


Figura 6

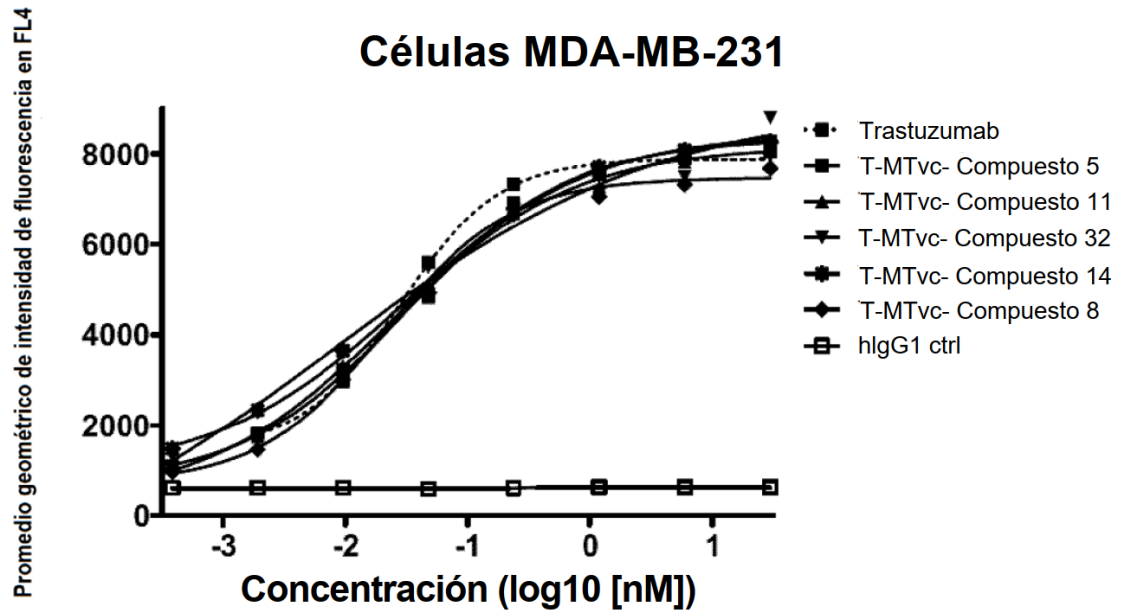


Figura 7

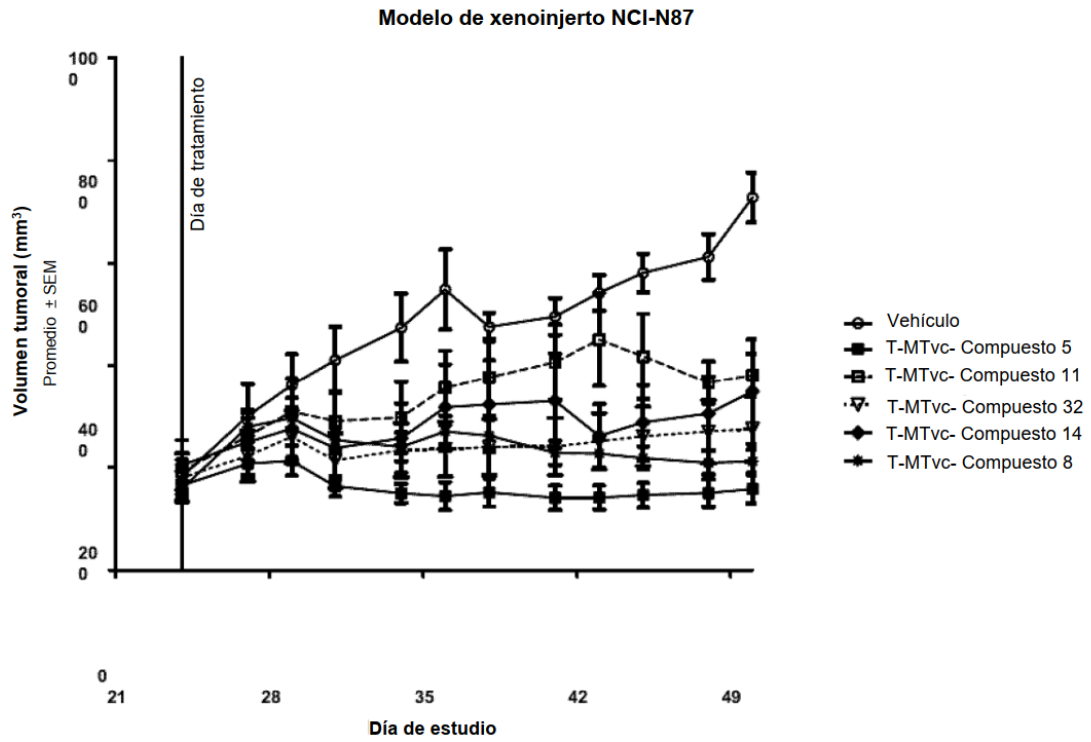


Figura 8

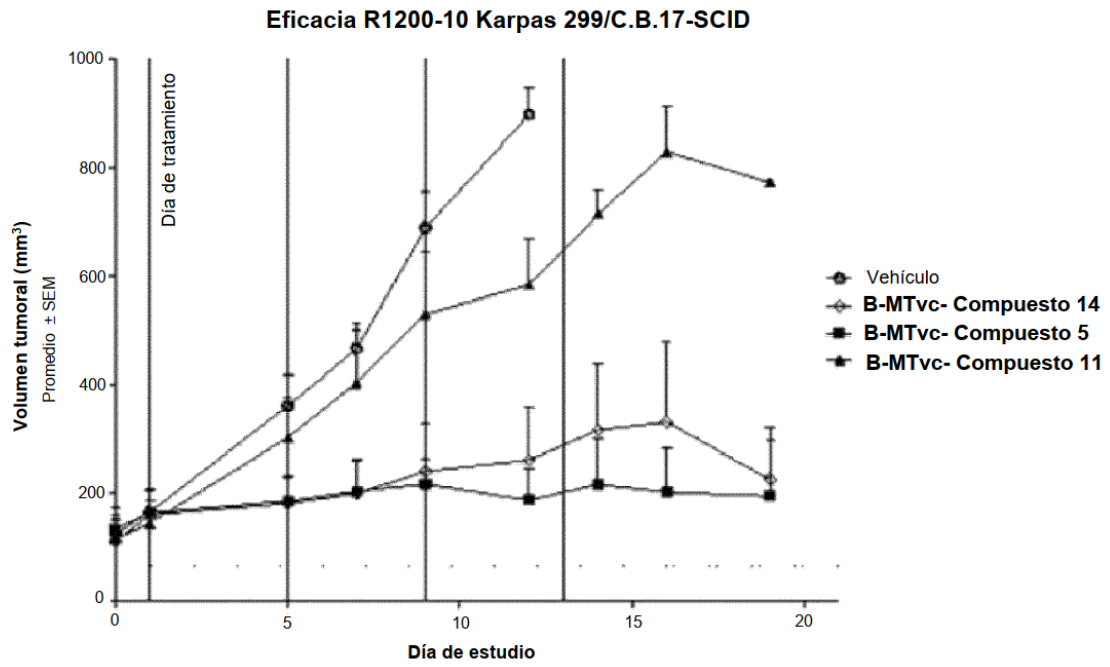


Figura 9

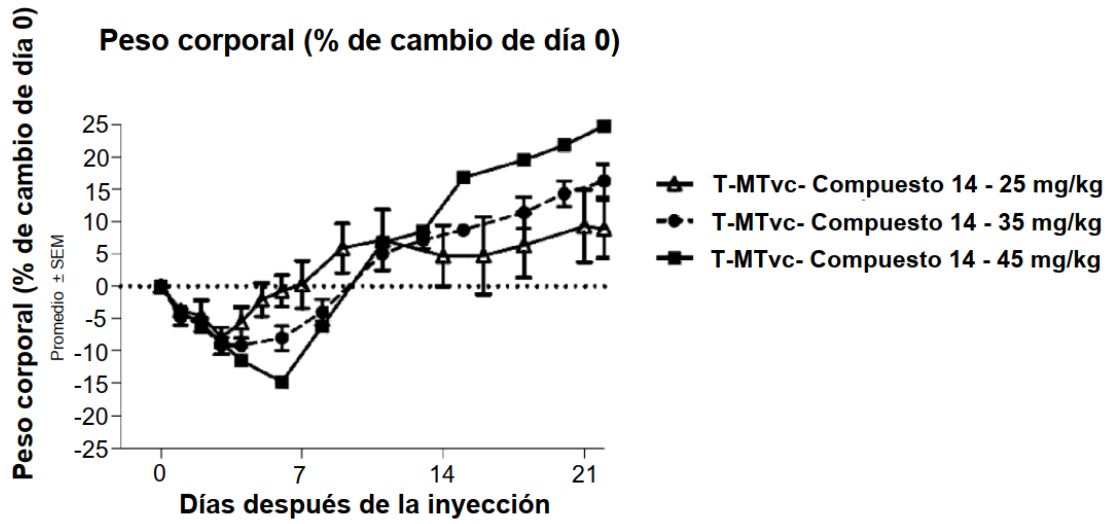


Figura 10

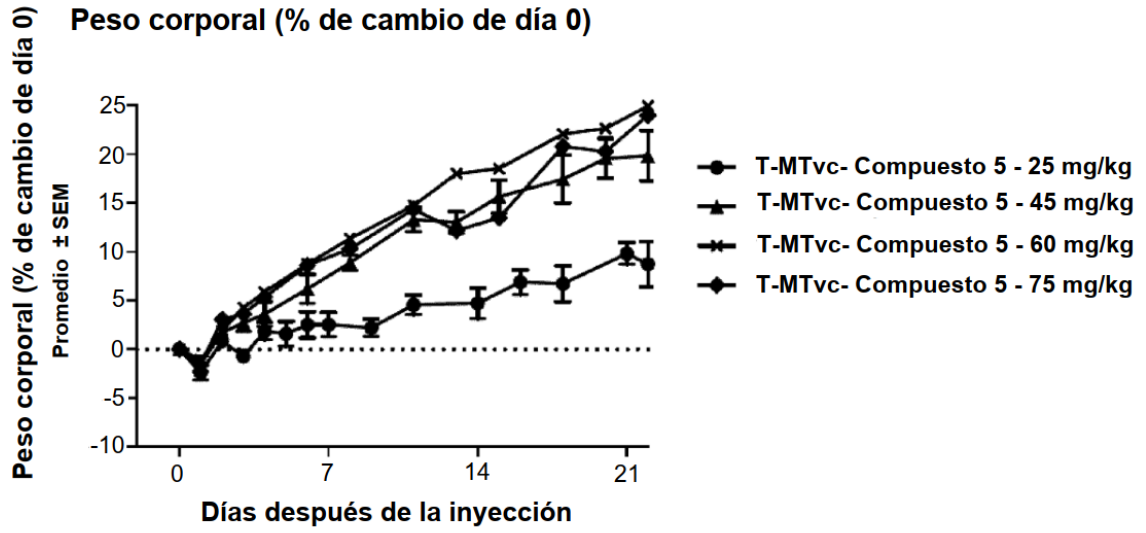


Figura 11

