República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020003907-1 A2

(22) Data do Depósito: 30/08/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 08/09/2020

(54) Título: CONJUGADOS DE PEPTÍDEOS, PROCESSO DE CONJUGAÇÃO E USOS DO MESMO

(51) Int. Cl.: C07C 323/58; C07K 7/08; C07K 1/36; C07K 19/00; A61K 39/02; (...).

(30) Prioridade Unionista: 30/08/2017 NZ 735008.

(71) Depositante(es): AUCKLAND UNISERVICES LIMITED.

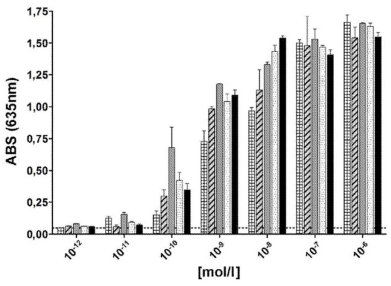
(72) Inventor(es): MARGARET ANNE BRIMBLE; PETER RODERICK DUNBAR; GEOFFREY MARTYN WILLIAMS; DANIEL VERDON.

(86) Pedido PCT: PCT IB2018056611 de 30/08/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/043604 de 07/03/2019

(85) Data da Fase Nacional: 27/02/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a conjugados de peptídeos, métodos para a produção de conjugados de peptídeos, conjugados produzidos pelos métodos e composições farmacêuticas que compreendem os conjugados. Métodos para estimular respostas imunológicas em um indivíduo e métodos para vacinar um indivíduo, usos dos conjugados para o mesmo e usos dos conjugados na fabricação de medicamentos para o mesmo também são contemplados.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"CONJUGADOS DE PEPTÍDEOS, PROCESSO DE CONJUGAÇÃO E USOS DO MESMO".**

Campo da Técnica

[001] A presente invenção refere-se a conjugados de peptídeo, métodos para produzir conjugados de peptídeo, conjugados produzidos pelos métodos, composições farmacêuticas que compreendem os conjugados, métodos para estimular respostas imunológicas em um indivíduo e métodos para vacinar um indivíduo, usos dos conjugados para o mesmo e usos dos conjugados na fabricação de medicamentos para o mesmo. A presente invenção também se refere a métodos para produzir compostos úteis na síntese de conjugados de peptídeo da invenção e a tais compostos.

Antecedentes da Técnica

[002] Vacinas de peptídeo sintéticas geralmente compreendem uma cópia sintética de uma parte imunogênica de antígenos de proteína. Essa abordagem ao desenvolvimento de vacina tem várias vantagens, incluindo facilidade de síntese, evitação de subprodutos biológicos potencialmente tóxicos e caracterização direta.

[003] Um problema chave no desenvolvimento de vacinas de peptídeo é a falta de imunogenicidade exibida pelos peptídeos como componentes de vacina únicos. É usualmente necessário incluir na vacina um adjuvante, projetado para ativar componentes do sistema imunológico inato (por exemplo, adjuvante de Freund).

[004] Uma estratégia alternativa no projeto de vacina de peptídeo é criar vacinas autoadjuvantes em que o epítopo de peptídeo de interesse é covalentemente ligado a um adjuvante apropriado. Tais vacinas autoadjuvantes podem ter absorção de antígeno, apresentação e maturação de célula dendrítica intensificadas em comparação à coformulação simples do antígeno com um adjuvante externo.

[005] Diversas vacinas autoadjuvantes foram desenvolvidas, mas a preparação das vacinas pode ser complicada.

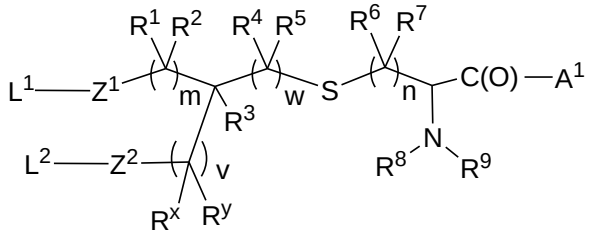
[006] Há uma necessidade contínua de novas vacinas autoadjuvantes e novos métodos para produzir vacinas autoadjuvantes. É um objetivo da presente invenção atender de alguma forma essas necessidades; e/ou pelo menos fornecer ao público uma escolha útil.

[007] Outros objetivos da invenção podem se tornar aparentes a partir da descrição a seguir que é dada a título de exemplo apenas.

[008] Qualquer discussão dos documentos, atos, materiais, dispositivos, artigos ou similares que tenha sido incluída no presente relatório descritivo é somente para o propósito de fornecer um contexto para a presente invenção. Não se deve ser feita admissão de que qualquer ou todas essas matérias formam parte da base da técnica anterior ou eram do conhecimento geral comum no campo relevante para a presente invenção conforme existiam antes da data de prioridade.

Sumário da invenção

[009] Em um primeiro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um composto conjugado de peptídeo da fórmula (I):



(I)

[010] em que

[011] m e w são, cada um, independentemente, um número inteiro de 0 a 7, e v é um número inteiro de 0 a 5,

[012] desde que:

[013] a soma de m, v e w seja pelo menos 3; e

[014] a soma de m e w seja de 0 a 7;

[015] n é 1 ou 2;

[016] Z1 e Z2 são, cada um, independentemente, selecionados a partir do grupo que consiste em –O–, –NR–, –S–, –S(O)–, –SO_2–, –C(O)O–, –OC(O)–, –C(O)NR–, –NRC(O)–, –C(O)S–, –SC(O)–, –OC(O)O–, –NRC(O)O–, –OC(O)NR– e –NRC(O)NR–;

[017] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

[018] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

[019] R9 é hidrogênio, C1-6 alifático, um grupo protetor amino, L3–C(O)– ou A2;

[020] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alifático ou C4-20 heteroalifático;

[021] L3 é C1-21 alifático ou C2-20 heteroalifático;

[022] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

[023] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[024] em que qualquer alifático ou heteroalifático presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituído;

[025] ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável dos mesmos;

[026] com a condição de que:

[027] (1) pelo menos um de R9 e A1 é um peptídeo que compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

[028] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência

$Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR

[SEQ ID Nº:1], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[029] (b) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:2], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[030] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:3], em que Xaa_1 está ausente ou é S e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[031] (d) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKLQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:4],

[032] (e) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 1 a 4,

[033] (f) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:5],

[034] (g) a sequência de SEQ ID Nº: 5,

[035] (h) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa_{22}FLPVF [SEQ ID Nº:6],

[036] (i) a sequência de SEQ ID Nº: 6,

[037] (j) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKSLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:7],

[038] (k) a sequência de SEQ ID Nº: 7,

[039] (l) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:8],

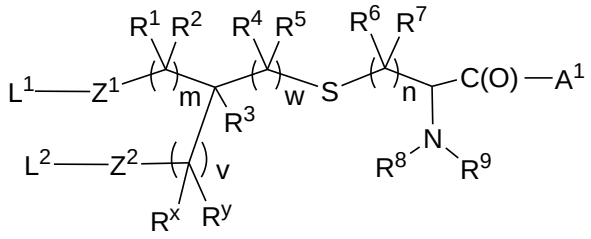
[040] (m) a sequência de SEQ ID Nº: 8,

[041] (n) ou qualquer combinação de dois ou mais de (a) a (m) acima,

[042] em que Xaa_{22} em cada sequência é independentemente qualquer aminoácido que ocorre naturalmente, exceto C (por exemplo, V, I ou L), e qualquer sequência de 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos de qualquer uma das sequências acima compreende Xaa_{22}; ou

[043] (2) m é um número inteiro de 3 a 7 e pelo menos um de R9 e A1 é um aminoácido ou um peptídeo.

[044] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um composto conjugado de peptídeo da fórmula (I):



(I)

[045] em que

[046] m e w são, cada um, independentemente, um número inteiro de 0 a 7, e v é um número inteiro de 0 a 5,

[047] desde que:

[048] a soma de m, v e w seja pelo menos 3; e

[049] a soma de m e w seja de 0 a 7;

[050] n é 1 ou 2;

[051] Z1 e Z2 são, cada um, independentemente, selecionados a partir do grupo que consiste em –O–, –NR–, –S–, –S(O)–, $–SO_2–$, –C(O)O–, –OC(O)–, –C(O)NR–, –NRC(O)–, –C(O)S–, –SC(O)–, –OC(O)O–, –NRC(O)O–, –OC(O)NR– e –NRC(O)NR–;

[052] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

[053] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio

ou C1-6 alifático;

[054] R9 é hidrogênio, C1-6 alifático, um grupo protetor amino, L3–C(O)– ou A2;

[055] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alifático ou C4-20 heteroalifático;

[056] L3 é C1-21 alifático ou C2-20 heteroalifático;

[057] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

[058] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[059] em que qualquer alifático ou heteroalifático presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituído;

[060] ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável dos mesmos;

[061] com a condição de que:

[062] (1) pelo menos um de R9 e A1 é um peptídeo que compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

[063] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência

$Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:1], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[064] (b) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência

$Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:2], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez

aminoácidos hidrofílicos,

[065] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:3], em que Xaa_1 está ausente ou é S e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[066] (d) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKLQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:4],

[067] (e) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 1 a 4,

[068] (f) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:5],

[069] (g) a sequência de SEQ ID Nº: 5,

[070] (h) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa_{22}FLPVF [SEQ ID Nº:6],

[071] (i) a sequência de SEQ ID Nº: 6,

[072] (j) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKSLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:7],

[073] (k) a sequência de SEQ ID Nº: 7,

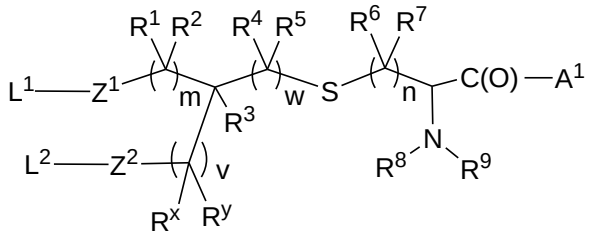
[074] (l) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:8],

[075] (m) a sequência de SEQ ID Nº: 8,

[076] (n) ou qualquer combinação de dois ou mais de (a) a (m) acima,

[077] em que Xaa_{22} em cada sequência é independentemente qualquer aminoácido que ocorre naturalmente, exceto C (por exemplo, V, I ou L), e qualquer sequência de 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos de qualquer uma das sequências acima compreende Xaa_{22}.

[078] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um composto conjugado de peptídeo da fórmula (I):



(I)

[079] em que

[080] m e w são, cada um, independentemente, um número inteiro de 0 a 7, e v é um número inteiro de 0 a 5,

[081] desde que:

[082] a soma de m, v e w seja pelo menos 3; e

[083] a soma de m e w seja de 0 a 7;

[084] n é 1 ou 2;

[085] Z1 e Z2 são, cada um, independentemente, selecionados a partir do grupo que consiste em –O–, –NR–, –S–, –S(O)–, –SO_2–, –C(O)O–, –OC(O)–, –C(O)NR–, –NRC(O)–, –C(O)S–, –SC(O)–, –OC(O)O–, –NRC(O)O–, –OC(O)NR– e –NRC(O)NR–;

[086] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

[087] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

[088] R9 é hidrogênio, C1-6 alifático, um grupo protetor amino, L3–C(O)– ou A2;

[089] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alifático ou C4-20 heteroalifático;

[090] L3 é C1-21 alifático ou C2-20 heteroalifático;

[091] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

[092] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[093] em que qualquer alifático ou heteroalifático presente em

qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituído;

[094] ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável dos mesmos;

[095] com a condição de que:

[096] (2) m é um número inteiro de 3 a 7 e pelo menos um de R9 e A1 é um aminoácido ou um peptídeo.

[097] Qualquer uma das modalidades ou preferências descritas no presente documento podem relacionar-se a qualquer um dos aspectos no presente documento sozinhas ou em combinação com qualquer uma ou mais modalidades ou preferências descritas no presente documento, a não menos que determinado ou indicado de outro modo.

[098] Em várias modalidades,

[099] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila, C2-6 alquinila ou C3-6 cicloalquila;

[100] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila, C2-6 alquinila ou C3-6 cicloalquila;

[101] R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila, C2-6 alquinila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2;

[102] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alquila, C5-21 alquenila, C5-21 alquinila ou C4-20 heteroalquila;

[103] L3 é C1-21 alquila, C5-21 alquenila, C5-21 alquinila, C3-6 cicloalquila ou C2-20 heteroalquila;

[104] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

[105] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[106] em que qualquer alquila, alquenila, alquinila, cicloalquila ou

heteroalquila presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituída.

[107] Em várias modalidades,

[108] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila ou C3-6 cicloalquila;

[109] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila ou C3-6 cicloalquila;

[110] R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2;

[111] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alquila, C5-21 alquenila ou C4-20 heteroalquila;

[112] L3 é C1-21 alquila, C5-21 alquenila, C3-6 cicloalquila ou C2-20 heteroalquila;

[113] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

[114] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[115] em que qualquer alquila, alquenila, cicloalquila ou heteroalquila presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituída.

[116] Em várias modalidades,

[117] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila;

[118] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila;

[119] R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2;

[120] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados

dentre C5-21 alquila, C5-21 alquenila ou C4-20 heteroalquila;

[121] L3 é C1-21 alquila, C2-21 alquenila, C3-6 cicloalquila ou C2-20 heteroalquila;

[122] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

[123] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[124] em que qualquer alquila, alquenila, cicloalquila ou heteroalquila presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituída.

[125] Em várias modalidades,

[126] R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila;

[127] R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila;

[128] R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2;

[129] L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alquila ou C4-20 heteroalquila;

[130] L3 é C1-21 alquila, C3-6 cicloalquila ou C2-20 heteroalquila;

[131] A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

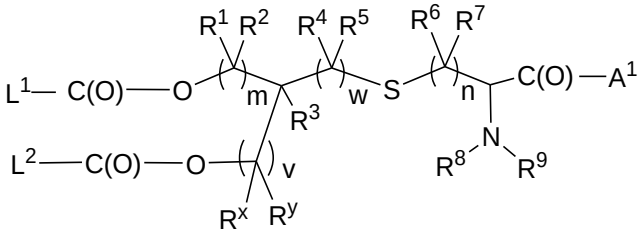
[132] A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

[133] em que qualquer alquila, cicloalquila ou heteroalquila presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituída.

[134] Em várias modalidades, Z1 e Z2 são, cada um, independentemente, selecionados a partir do grupo que consiste em

–C(O)O–, –C(O)NR– e –C(O)S–.

[135] Em várias modalidades, o composto da fórmula (I) é um composto da fórmula (IA):



(IA).

[136] Em várias modalidades, v é de 0 a 4, 0 a 3 ou 0 a 2, ou v é 0 ou 1, por exemplo, 0.

[137] Em certas modalidades, v é de 0 a 3. Em modalidades exemplificativas, v é 0.

[138] Em várias modalidades, m e w são, cada um, independentemente, de 0 a 6, 0 a 5, 0 a 4, 0 a 3, 0 a 2, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3 ou 1 a 2.

[139] Em várias modalidades, m e w são, cada um, independentemente, de 0 a 5.

[140] Em certas modalidades, m e w são, cada um, independentemente, de 1 a 4.

[141] Em várias modalidades, m é de 1 a 6, por exemplo, de 2 a 6, 1 a 5 ou 2 a 5. Em várias modalidades, m é de 1 a 5. Em várias modalidades, m é de 1 a 3. Em modalidades exemplificativas, m é 2.

[142] Em várias modalidades, m é de 3 a 6. Em certas modalidades, m é de 3 a 5.

[143] Em várias modalidades, w é 1 ou 2. Em modalidades exemplificativas, w é 1.

[144] Em várias modalidades, a soma de m e w é de 0 a 6, 0 a 5, 0 a 4, 0 a 3, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4 ou 2 a 3.

[145] Em várias modalidades, a soma de m e w é de 2 a 7.

[146] Em certas modalidades, a soma de m e w é de 2 a 5.

[147] Em modalidades exemplificativas, a soma de m e w é 3.

[148] Em várias modalidades, v é de 0 a 3; m e w são, cada um, independentemente, de 0 a 5; e a soma de m e w é de 2 a 7.

[149] Em várias modalidades, v é de 1 ou 0; m e w são, cada um, independentemente, de 0 a 5; e a soma de m e w é de 2 a 7.

[150] Em várias modalidades, v é 1 ou 0; m e w são, cada um, independentemente, de 1 a 4; e a soma de m e w é de 2 a 7.

[151] Em várias modalidades, v é 1 ou 0; m e w são, cada um, independentemente, de 1 a 4; e a soma de m e w é de 2 a 5.

[152] Em certas modalidades, v é 1 ou 0; m é de 1 a 6; e w é 1 ou 2. Em certas modalidades, v é 1 ou 0; m é de 1 a 5; e w é 1 ou 2.

[153] Em certas modalidades, v é 0; m é de 1 a 6; e w é 1.

[154] Em certas modalidades, v é 0 ou 1; m é de 1 a 3; e w é 1 ou 2.

[155] Em modalidades exemplificativas, v é 0; m é de 2 a 5; e w é 1.

[156] Em modalidades exemplificativas, v é 0; m é 2; e w é 1.

[157] Em certas modalidades, v é 0; m é de 3 a 5; e w é 1.

[158] Em modalidades exemplificativas, n é 1.

[159] Em certas modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C5-21 alifático, por exemplo, C9-21 alifático, C11-21 alifático ou C11-, C13-, C15-, C17- ou C19-alifático.

[160] Em certas modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C5-21 alquila.

[161] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C9-21 alquila. Em ainda outra modalidade, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila.

[162] Em várias modalidades exemplificativas, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11, C13, C15, C17 ou C19 alquila, de preferência n-alquila.

[163] Em várias modalidades especificamente contempladas, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C15 alquila.

[164] Em várias modalidades, L1 e L2, cada um, independentemente, compreendem uma cadeia linear de 9 a 21 átomos de carbono.

[165] Em modalidades exemplificativas, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C15 alquila linear.

[166] Em algumas modalidades, L3 é C1-21 alquila.

[167] Em várias modalidades, L3 é metila ou C15 alquila linear.

[168] Em modalidades exemplificativas, L3 é metila (ou seja, R9 é acetila).

[169] Em algumas modalidades, o grupo protetor amino é Boc, Fmoc, Cbz (carboxibenzila), Nosila (o- ou p-nitrofenilsulfonila), Bpoc (2-(4-bifenil)isopropoxicarbonila) e Dde (1-(4,4-dimetil-2,6-dioxo-hexilideno)etila).

[170] Em várias modalidades, o grupo protetor amino é Boc ou Fmoc.

[171] Em algumas modalidades, o grupo protetor amino é Fmoc.

[172] Em algumas modalidades, o grupo protetor carboxila é *terc*-butila, benzila ou alila.

[173] Em várias modalidades, o grupo protetor carboxamida é Dmcp ou Tritila.

[174] Em várias modalidades, R1 e R2, em cada ocorrência de m, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio. Em várias modalidades especificamente contempladas, R1 e R2, em cada ocorrência de m, são, cada um, hidrogênio.

[175] Em várias modalidades, R3 é C1-6 alquila ou hidrogênio. Em várias modalidades especificamente contempladas, R3 é hidrogênio.

[176] Em várias modalidades, R4 e R5, em cada ocorrência de w, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio, de

preferência, hidrogênio. Em várias modalidades especificamente contempladas, R4 e R5, em cada ocorrência de w, são, cada um, hidrogênio.

[177] Em várias modalidades, Rx e Ry, em cada ocorrência de v, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio. Em várias modalidades especificamente contempladas, Rx e Ry, em cada ocorrência de v, são, cada um, hidrogênio.

[178] Em várias modalidades, R6 e R7, em cada ocorrência de n, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio. Em várias modalidades especificamente contempladas, R6 e R7 são, cada um, hidrogênio.

[179] Em várias modalidades, R8 é, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio. Em modalidades exemplificativas, R8 é hidrogênio.

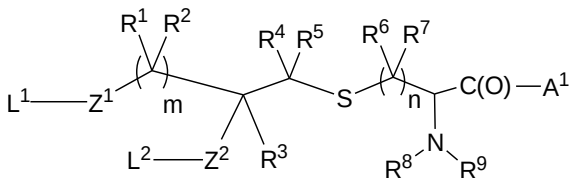
[180] Em várias modalidades, R9 é C1-6alquila, hidrogênio, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2. Em modalidades exemplificativas, R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino, L3-C(O) ou A2.

[181] Em várias modalidades, R8 é hidrogênio, e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino, L3-C(O) ou A2.

[182] Em várias modalidades, R8 e R9 são, cada um, hidrogênio; ou R9 é L3-C(O) ou A2.

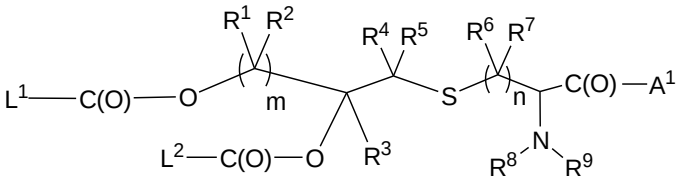
[183] Em várias modalidades exemplificativas, R8 é hidrogênio, e R9 é L3-C(O). Em várias modalidades especificamente contempladas, R9 é L3–C(O), em que L3 é metila.

[184] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) é um composto da fórmula (IF):



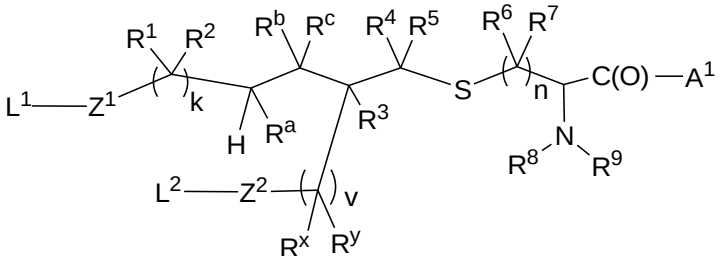
(IF).

[185] Em várias modalidades, o composto de fórmula (IF) é um composto da fórmula (IF-1):



(IF-1).

[186] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) é um composto da fórmula (IB):



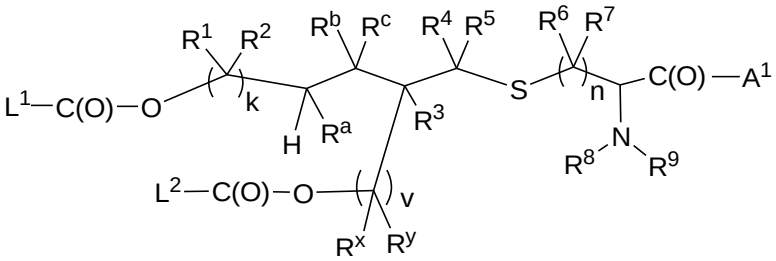
(IB)

[187] em que

[188] k é um número inteiro de 0 a 4 (ou seja, k é de 0 a 4 quando a cláusula (1) do primeiro aspecto se aplica e de 1 a 4 quando a cláusula (2) do primeiro aspecto se aplica); e

[189] Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático.

[190] Em várias modalidades, o composto de fórmula (IB) é um composto da fórmula (IC):



(IC).

[191] Em várias modalidades, k é de 0 a 3, 0 a 2, 0 a 1, 1 a 4, 1 a 3 ou 1 a 2, ou k é 0 ou 1.

[192] Em certas modalidades, k é 0 a 3.

[193] Em certas modalidades, k é 0 ou 1.

[194] Em modalidades exemplificativas, k é 0.

[195] Em certas modalidades, k é igual a v.

[196] Em certas modalidades k é de 1 a 3.

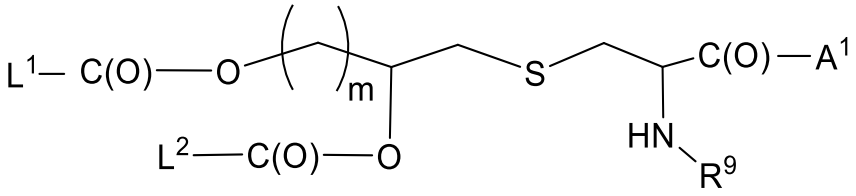
[197] Em várias modalidades, Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila, C2-6 alquinila ou C3-6 cicloalquila.

[198] Em várias modalidades, Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, C2-6 alquenila ou C3-6 cicloalquila.

[199] Em várias modalidades, Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila.

[200] Em várias modalidades, Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, selecionados dentre hidrogênio ou C1-6 alquila, de preferência, hidrogênio. Em modalidades exemplificativas, Ra, Rb e Rc são, cada um, hidrogênio.

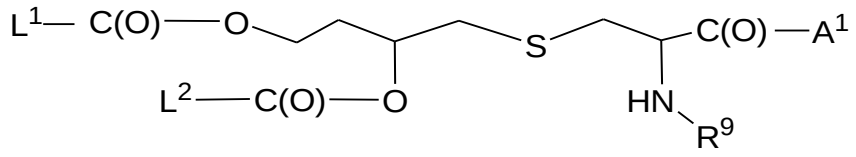
[201] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) é um composto da fórmula (ID-1):



(ID-1).

[202] Em várias modalidades, m no composto de fórmula (ID-1) é de 3 a 5.

[203] Em várias modalidades, o composto da fórmula (I) é um composto da fórmula (ID):



(ID).

[204] Em certas modalidades, o composto é um composto da fórmula (ID), em que L1 e L2 são, cada um, C15 alquila linear.

[205] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila; m é 2 a 5; v é 0; w é 1; R1 e R2, em cada ocorrência, são, cada um, hidrogênio; R3 é hidrogênio; e R4 e R5 são, cada um, hidrogênio.

[206] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila; m é 3 a 5; v é 0; w é 1; R1 e R2, em cada ocorrência, são, cada um, hidrogênio; R3 é hidrogênio; e R4 e R5 são, cada um, hidrogênio.

[207] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila; m é 2; v é 0; w é 1; R1 e R2, em cada ocorrência, são, cada um, hidrogênio; R3 é hidrogênio; e R4 e R5 são, cada um, hidrogênio.

[208] Em várias modalidades, n é 1; R6, R7, e R8 são, cada um, hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino, L3-C(O) ou A2.

[209] Em várias modalidades, n é 1; R6, R7 e R8 são, cada um, hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O), em que L3 é C15 alquila linear ou metila.

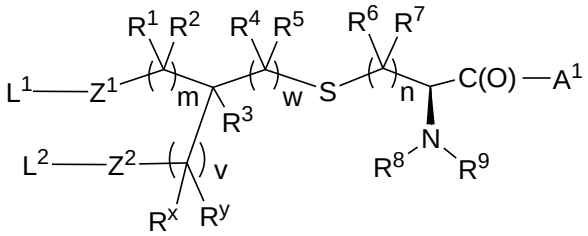
[210] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila; m é 2 a 5; v é 0; w é 1; R1 e R2, em cada ocorrência, são, cada um, hidrogênio; R3 é hidrogênio; R4 e R5 são, cada um, hidrogênio; n é 1; R6, R7 e R8 são, cada um, hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O), em que L3 é C15 alquila linear ou metila.

[211] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila; m é 3 a 5; v é 0; w é 1; R1 e R2, em cada ocorrência, são, cada um, hidrogênio; R3 é hidrogênio; R4 e R5 são, cada um, hidrogênio; n é 1; R6, R7 e R8 são, cada um,

hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O), em que L3 é C15 alquila linear ou metila.

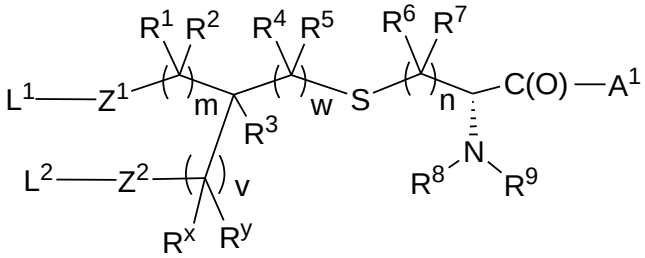
[212] Em várias modalidades, L1 e L2 são, cada um, independentemente, C11-21 alquila; m é 2; v é 0; w é 1; R1 e R2, em cada ocorrência, são, cada um, hidrogênio; R3 é hidrogênio; R4 e R5 são, cada um, hidrogênio; n é 1; R6, R7 e R8 são, cada um, hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O), em que L3 é C15 alquila linear ou metila.

[213] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IE):



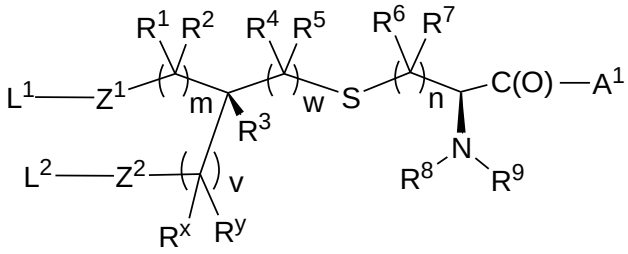
(IE).

[214] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IEE):



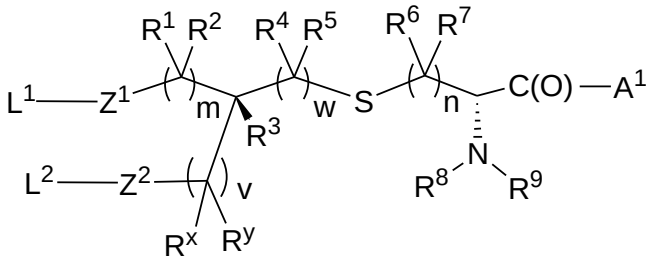
(IEE).

[215] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IE-1):



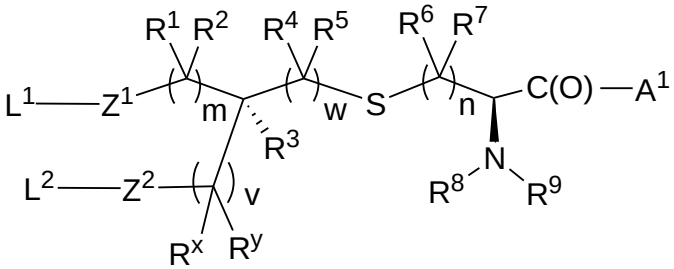
(IE-1).

[216] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IEE-1):



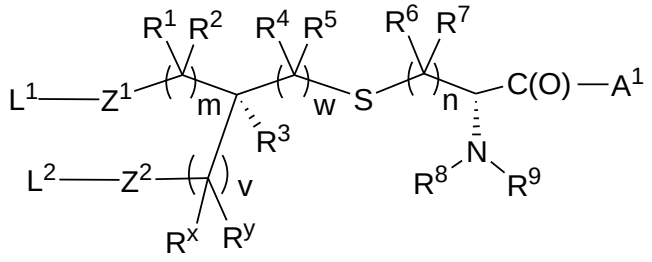
(IEE-1).

[217] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IE-2):



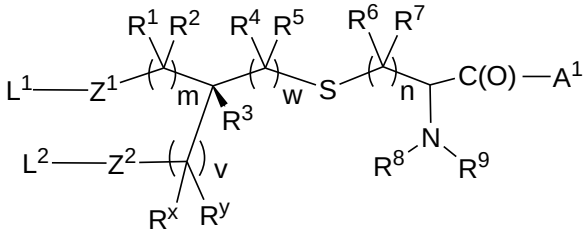
(IE-2).

[218] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IEE-2):



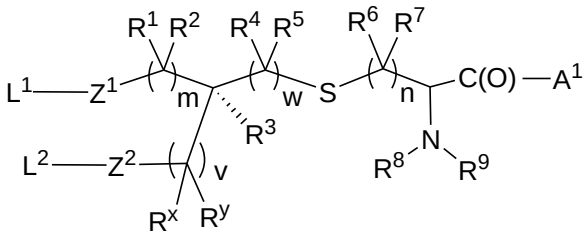
(IEE-2).

[219] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IEE-3):



(IEE-3).

[220] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) tem a fórmula (IEE-4):



(IEE-4).

[221] Em várias modalidades, o aminoácido do conjugado de aminoácido ou peptídeo ao qual as porções químicas de lipídio são conjugadas é um resíduo de cisteína.

[222] Aqueles que são versados na técnica perceberão que, em certas modalidades, as porções químicas L1–Z1– e L2–Z2– podem ser grupos de ácido graxo, por exemplo, ésteres de ácido graxo. Em várias modalidades, as porções químicas podem ser ésteres de ácido graxo saturados ou insaturados. Em algumas modalidades, o ácido graxo é saturado.

[223] Em várias modalidades, o ácido graxo é um C4-22 ácido graxo. Em algumas modalidades, o ácido graxo é um C6-22 ácido graxo.

[224] Em certas modalidades, o ácido graxo é um C10-22 ácido graxo. Em certas modalidades especificamente contempladas, o ácido graxo é um C12-22 ácido graxo. Em várias modalidades exemplificativas, o ácido graxo é um C12, C14, C16, C18 ou C20 ácido graxo.

[225] Em algumas modalidades, o ácido graxo é ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido aráquico, ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido elaídico, ácido linoleico, ácido α-linolenico e ácido araquidônico.

[226] Em várias modalidades, o ácido graxo é ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico ou ácido esteárico.

[227] Em certas modalidades exemplificativas, o ácido graxo é

ácido palmítico (e as porções químicas L1–Z1– e L2–Z2– são, cada uma, grupos palmitoíla).

[228] Em algumas modalidades, A1 é OH, OP1, NH2 ou NHP2 ou R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino ou L3–C(O).

[229] Em algumas modalidades, A1 é OP1 ou OH, ou R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3-C(O).

[230] Em várias modalidades, R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3-C(O). Em algumas modalidades, R9 é hidrogênio ou L3-C(O).

[231] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) é um conjugado de peptídeo.

[232] Em várias modalidades, pelo menos um de A1 e R9 é um peptídeo que compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste naqueles definidos na cláusula (1) do primeiro aspecto.

[233] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

[234] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa$_{22}$FLPVF [SEQ ID Nº:6],

[235] (b) a sequência da SEQ ID Nº: 6,

[236] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKSLLMWITQXaa$_{22}$ [SEQ ID Nº:7],

[237] (d) a sequência da SEQ ID Nº: 7,

[238] (e) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa$_{22}$ [SEQ ID Nº:8],

[239] (f) a sequência da SEQ ID Nº: 8,

[240] (g) ou qualquer combinação de dois ou mais dos itens de (a) a (f) acima.

[241] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

[242] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKSLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:7],

[243] (b) a sequência da SEQ ID Nº: 7,

[244] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:8],

[245] (d) a sequência da SEQ ID Nº: 8,

[246] ou qualquer combinação de dois ou mais dos itens de (a) a (d) acima.

[247] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

[248] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKSLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:7],

[249] (b) a sequência da SEQ ID Nº: 7.

[250] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

[251] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa_{22} [SEQ ID Nº:8],

[252] (b) a sequência da SEQ ID Nº: 8.

[253] Em várias modalidades, Xaa_{22} em cada sequência é independentemente V, I ou L (ou seja, cada Xaa_{22} é independentemente V, I ou L).

[254] Em modalidades exemplificativas, Xaa_{22} em cada sequência é V (ou seja, cada Xaa_{22} é V).

[255] Em várias modalidades, m é de 3 a 7 e pelo menos um de A1 e R9 é um aminoácido ou peptídeo, como definido na cláusula (2) do

primeiro aspecto. Em algumas modalidades, pelo menos um de A1 e R9 é um peptídeo. Em várias modalidades, A1 e/ou A2 são um aminoácido ou um peptídeo. Ou seja, em várias modalidades, A1 é um aminoácido ou um peptídeo e/ou R9 é um aminoácido ou um peptídeo.

[256] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 são um peptídeo. Ou seja, em várias modalidades, A1 é um peptídeo e/ou R9 é um peptídeo.

[257] Em uma modalidade, A1 e/ou A2 são um peptídeo que compreende um epítopo.

[258] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 são um peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo.

[259] Em outra modalidade, A1 e/ou A2 são um peptídeo, em que o peptídeo compreende um epítopo de peptídeo.

[260] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 são um peptídeo substituído por um epítopo.

[261] Em algumas modalidades, o epítopo é ligado ao peptídeo por meio de um grupo ligante.

[262] Em certas modalidades, A1 é um peptídeo.

[263] Em certas modalidades exemplificativas, A1 é um peptídeo, e R9 não é A2 (ou seja, R9 não é um aminoácido ou um peptídeo).

[264] Em certas modalidades exemplificativas, A1 é um peptídeo e R9 é hidrogênio ou L3-C(O), por exemplo Me-C(O).

[265] Em várias modalidades, o peptídeo compreende um epítopo.

[266] Em algumas modalidades, o epítopo é um epítopo de peptídeo.

[267] Em certas modalidades, o epítopo é acoplado ou ligado por meio de um grupo ligante.

[268] Em várias modalidades, o aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas são conjugadas é um resíduo de aminoácido N-terminal.

[269] Em várias modalidades, A1 é serina ou um peptídeo que compreende a como o primeiro resíduo de aminoácido N-terminal.

[270] Em algumas modalidades, A1 é um peptídeo que compreende a como o primeiro resíduo de aminoácido N-terminal.

[271] Em várias modalidades, o conjugado de peptídeo compreende um ou mais grupos solubilizantes.

[272] Em algumas modalidades, o grupo solubilizante compreende uma sequência de aminoácidos que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo.

[273] Em várias modalidades, o grupo solubilizante é uma sequência de aminoácidos que compreende uma sequência de dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos consecutivos na cadeia de peptídeo.

[274] Em várias modalidades, os dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos são adjacentes ao resíduo de serina.

[275] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 é um peptídeo que compreende um grupo solubilizante.

[276] Em várias modalidades, A1 e/ou A2 são um peptídeo que compreende um grupo solubilizante que compreende uma sequência de aminoácidos que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo.

[277] Em certas modalidades, A1 é um peptídeo que compreende um grupo solubilizante que compreende uma sequência de aminoácidos que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo.

[278] Em algumas modalidades, A1 é um peptídeo que compreende serina como o primeiro resíduo de aminoácido N-terminal e um grupo solubilizante que compreende uma sequência de aminoácidos que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo adjacentes à serina.

[279] Em algumas modalidades, o composto compreende um ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo. Em algumas modalidades, o peptídeo compreende um ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo.

[280] Em algumas modalidades, o peptídeo compreende um epítopo de peptídeo ligado por meio de um ligante ao aminoácido ao qual as porções químicas de lipídio estão ligadas.

[281] Em algumas modalidades, o peptídeo compreende dois ou mais epítopos.

[282] Em algumas modalidades, o peptídeo compreende um antígeno de peptídeo.

[283] Em algumas modalidades, o ligante é uma sequência de aminoácidos de cerca de 2 a 20, 2 a 18, 2 a 16, 2 a 14, 2 a 12, 2 a 10 ou 2 a 8 aminoácidos de comprimento.

[284] Em algumas modalidades, o composto de fórmula (I) compreende 3 ou mais, 4 ou mais ou 5 ou mais aminoácidos contíguos.

[285] Em várias modalidades, o conjugado de peptídeo é um lipopeptídeo.

[286] Em algumas modalidades, o composto de fórmula (I) é um peptídeo autoadjuvante.

[287] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 são, cada um independentemente, um peptídeo que compreende de cerca de 8 a 220, 8 a 200, 8 a 175, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 90, 8 a 80, 8 a 70, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25, 8 a 20 ou 8 a 15 aminoácidos. Em uma modalidade exemplificativa, A1 e A2 são, cada um independentemente, um peptídeo que compreende de cerca de 8 a 60 aminoácidos.

[288] Em outras modalidades, A1 e/ou A2 são, cada um, independentemente, um peptídeo que compreende de cerca de 8 a 220,

8 a 200, 8 a 175, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 90, 8 a 80, 8 a 70, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25, 8 a 20 ou 8 a 15 aminoácidos.

[289] Em outras modalidades, A1 e/ou A2 são, cada um independentemente, um peptídeo que compreende de cerca de 5 a 150, 5 a 125, 5 a 100, 5 a 75, 5 a 60, 5 a 50, 5 a 40, 5 a 30, 5 a 25, 5 a 20, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 75, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25 ou 8 a 20 aminoácidos.

[290] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 são, cada um independentemente, um peptídeo, em que o peptídeo compreende 8 a 60 aminoácidos.

[291] Em algumas modalidades, A1 e/ou A2 são, cada um independentemente, um peptídeo que compreende ou é substituído por um epítopo de peptídeo, em que o epítopo de peptídeo compreende de 8 a 60 aminoácidos.

[292] Os epítopos de peptídeo adequados incluem, sem limitação, aqueles descritos no documento nº WO 2016/103192, depositado em 22 de dezembro de 2015, cuja totalidade está incorporada ao presente documento a título de referência.

[293] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em um ou mais epítopos de LMP2 de EBV. Em várias modalidades, o um ou mais epítopos de LMP2 de EBV são epítopos de MHCI. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um ou mais epítopos de EBV LMP2 selecionados do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs 84 a 109. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou consiste em 8 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs s 9 a 83. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou consiste em 12 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83. Em várias modalidades, o

peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou consiste em 15 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83, ou que compreende ou consiste em 20 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83.

[294] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em, ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83.

[295] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em

[296] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:9], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[297] (b) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:10], em que Xaa1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[298] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:11], em que Xaa1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[299] (d) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da

sequência SKKKKDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:12],

[300] (e) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:13],

[301] (f) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:14], em que Xaa1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[302] (g) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:15], em que Xaa1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[303] (h) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:16], em que Xaa1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[304] (i) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:17],

[305] (j) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:18],

[306] (k) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL

[SEQ ID Nº:19], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[307] (l) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:20], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[308] (m) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:21], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[309] (n) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:22],

[310] (o) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGL [SEQ ID Nº:23],

[311] (p) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:24], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[312] (q) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:25], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido

hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[313] (r) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:26], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[314] (s) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:27],

[315] (t) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência DRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEA [SEQ ID Nº:28],

[316] (u) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLL [SEQ ID Nº:29], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[317] (v) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLL [SEQ ID Nº:30], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[318] (w) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da

sequência Xaa_1Xaa_2LLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLL [SEQ ID Nº:31], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[319] (x) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLL [SEQ ID Nº:32],

[320] (y) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLL [SEQ ID Nº:33],

[321] (z) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:34], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[322] (aa) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:35], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[323] (bb) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:36], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[324] (cc) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

SKKKKLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:37],

[325] (dd) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:38],

[326] (ee) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILL [SEQ ID Nº:39], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[327] (ff) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILL [SEQ ID Nº:40], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[328] (gg) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILL [SEQ ID Nº:41], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[329] (hh) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILL [SEQ ID Nº:42],

[330] (ii) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILL [SEQ ID Nº:43],

[331] (jj) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:44], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou

é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[332] (kk) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:45], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[333] (ll) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:46], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[334] (mm) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:47],

[335] (nn) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLA [SEQ ID Nº:48],

[336] (oo) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID Nº:49], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[337] (pp) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID Nº:50], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[338] (qq) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID Nº:51], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[339] (rr) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKLNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID Nº:52],

[340] (ss) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LNLTTMFLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASALIAGGSI [SEQ ID Nº:53],

[341] (tt) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$FLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID Nº:54], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[342] (uu) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$FLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID Nº:55], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[343] (vv) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

Xaa_1Xaa_2FLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID Nº:56], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[344] (ww)8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKFLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID Nº:57],

[345] (xx) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência FLLMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILLARLFLYALALLLLASA [SEQ ID Nº:58],

[346] (yy) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRRLTVCGGIMFLACV LVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID Nº:59], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[347] (zz) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAV LQLSPLL [SEQ ID Nº:60], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[348] (aaa) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRRLTVCGGIMFLACVLVLIVDA VLQLSPLL [SEQ ID Nº:61], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[349] (bbb) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKLQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID Nº:62],

[350] (ccc) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LQGIYVLVMLVLLILAYRRRWRRLTVCGGIMFLACVLVLIVDAVLQLSPLL [SEQ ID Nº:63],

[351] (ddd) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSNTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID Nº:64], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[352] (eee) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSNTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID Nº:65], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[353] (fff) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSNTLLSAWILTAGFLIFLIGFA [SEQ ID Nº:66], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[354] (ggg) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

SKKKKSGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSNTLLSAWIL TAGFLIFLIGFA [SEQ ID Nº:67],

[355] (hhh) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SGNRTYGPVFM(C)(S)LGGLLTMVAGAVWLTVMSNTLLSAWILTAGFLI FLIGFA [SEQ ID Nº:68],

[356] (iii) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$SNEEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQS LYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID Nº:69], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[357] (jjj) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$SNEEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLG LQHDGNDGLPP [SEQ ID Nº:70], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[358] (kkk) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2SNEEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQH DGNDGLPP [SEQ ID Nº:71], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[359] (lll) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKSNEEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHD GNDGLPP [SEQ ID Nº:72],

[360] (mmm) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SNEEPPPPYEDPYWGNGDRHSDYQPLGTQDQSLYLGLQHDGNDGLPP [SEQ ID Nº:73],

[361] (nnn) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFWLAAIAAS [SEQ ID Nº:74], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[362] (ooo) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFWLAAIAAS [SEQ ID Nº:75], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[363] (ppp) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFWLAAIAAS [SEQ ID Nº:76], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[364] (qqq) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKGNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFWLAAIAAS [SEQ ID Nº:77],

[365] (rrr) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

GNDGLPPPPYSPRDDSSQHIYEEAGRGSMNPVCLPVIVAPYLFWLAA IAAS [SEQ ID Nº:78],

[366] (sss) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

$Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYA AAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID Nº:79], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[367] (ttt) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

$Xaa_1Xaa_2Xaa_3$AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQ RKLLTPVTVLT [SEQ ID Nº:80], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[368] (uuu) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

Xaa_1Xaa_2AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLL TPVTVLT [SEQ ID Nº:81], em que Xaa_1 está ausente ou é S ou um aminoácido hidrofílico, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[369] (vvv) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

SKKKKAAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTP VTVLT [SEQ ID Nº:82],

[370] (www) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

AAIAASCFTASVSTVVTATGLALSLLLLAAVASSYAAAQRKLLTPVTVLT [SEQ ID Nº:83],

[371] (xxx) a sequência de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 9 a 83,

[372] (yyy) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência de qualquer uma dentre ESNEEPPPPY [SEQ ID Nº: 84],

[373] SNEEPPPPY [SEQ ID Nº: 85],

[374] HSDYQPLGT [SEQ ID Nº: 86],

[375] PLGTQDQSL [SEQ ID Nº: 87],

[376] PLGTQDQSLY [SEQ ID Nº: 88],

[377] LGTQDQSLY [SEQ ID Nº: 89],

[378] GTQDQSLYL [SEQ ID Nº: 90],

[379] GTQDQSLYL [SEQ ID Nº: 91],

[380] GTQDQSLYLG [SEQ ID Nº: 92],

[381] QSLYLGLQH [SEQ ID Nº: 93],

[382] SLYLGLQHD [SEQ ID Nº: 94],

[383] GLQHDGNDGL [SEQ ID Nº: 95],

[384] GNDGLPPPPY [SEQ ID Nº: 96],

[385] GLPPPPYSP [SEQ ID Nº: 97],

[386] GLPPPPYSPR [SEQ ID Nº: 98],

[387] PRDDSSQHIY [SEQ ID Nº: 99],

[388] RDDSSQHIY [SEQ ID Nº: 100],

[389] HIYEEAGRG [SEQ ID Nº: 101],

[390] ILLARLFLY [SEQ ID Nº: 102],

[391] SSCSSCPLSKI [SEQ ID Nº: 103],

[392] LLWTLVVLL [SEQ ID Nº: 104],

[393] FLYALALLL [SEQ ID Nº: 105],

[394] CLGGLLTMV [SEQ ID Nº: 106],

[395] LIVDAVLQL [SEQ ID Nº: 107],

[396] LTAGFLIFL [SEQ ID Nº: 108],

[397] TVCGGIMFL [SEQ ID Nº: 109],

[398] (zzz) a sequência de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 83 a 109,

[399] (aaaa) ou qualquer combinação de dois ou mais dentre (a) a (zzz) acima.

[400] Em uma modalidade exemplificativa, o peptídeo compreende um ou mais epítopos derivados da Proteína Latente de Membrana 2 (LMP2), por exemplo, de LMP2 de EBV de comprimento completo (aminoácidos 1 a 497). Em uma modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em, ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 ou 83.

[401] Em outra modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em, ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 12 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 ou 83.

[402] Em outra modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 15 ou mais, 18 ou mais, 20 ou mais ou 25 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 ou 83.

[403] Em uma modalidade, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs: 12, 13, 17, 18, 22, 23, 27, 28, 32, 33, 37, 38, 42, 43, 47, 48, 52, 53, 57, 58, 62, 63, 67, 68, 72, 73, 77, 78, 82 ou 83.

[404] Em outra modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 15 ou mais, 18 ou mais, 20 ou mais ou 25 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 9 a 83.

[405] Em uma modalidade, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs: 9 a 83.

[406] Em uma modalidade, o peptídeo compreende uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs: 84 a 109. Em um exemplo, o peptídeo compreende uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs: 84 a 101.

[407] Em uma modalidade, o peptídeo compreende uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em quaisquer duas ou mais dentre SEQ ID Nºs: 84 a 109. Em um exemplo, o peptídeo compreende uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em quaisquer duas ou mais dentre SEQ ID Nºs: 84 a 101.

[408] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em

[409] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência

$Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$GARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQD APPL [SEQ ID Nº:110], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[410] (b) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$GARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPL [SEQ ID Nº:111], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[411] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2GARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPL [SEQ ID Nº:112], em que Xaa_1 está ausente ou é S, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[412] (d) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKGARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPL [SEQ ID Nº:113],

[413] (e) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 110 a 113,

[414] (f) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência GARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAELARRSLAQDAPPL [SEQ ID Nº:114],

[415] (g) a sequência de SEQ ID Nº: 114,

[416] (h) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LAMPFATPM [SEQ ID Nº:115],

[417] (i) a sequência de SEQ ID Nº: 115,

[418] (j) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência FATPMEAEL [SEQ ID Nº:116],

[419] (k) a sequência de SEQ ID Nº: 116,

[420] (l) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID Nº:117], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente

ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

[421] (m) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID Nº:118], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[422] (n) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID Nº:119], em que Xaa_1 está ausente ou é S, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[423] (o) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID Nº:120],

[424] (p) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 117 a 120,

[425] (q) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência VPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR [SEQ ID Nº:121],

[426] (r) a sequência de SEQ ID Nº: 121,

[427] (s) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência EFTVSGNIL [SEQ ID Nº:122],

[428] (t) a sequência de SEQ ID Nº: 122,

[429] (u) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:123], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos

[430] (v) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:124], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[431] (w) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:125], em que Xaa_1 está ausente ou é S, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[432] (x) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:126],

[433] (y) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 123 a 126,

[434] (z) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:127],

[435] (aa) a sequência de SEQ ID Nº: 127,

[436] (bb) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SLLMWITQCFLPVF [SEQ ID Nº:128],

[437] (cc) a sequência de SEQ ID Nº: 128,

[438] (dd) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SLLMWITQC [SEQ ID Nº:129],

[439] (ee) a sequência de SEQ ID Nº: 129,

[440] (ff) ou qualquer combinação de dois ou mais dentre (a) a (ee) acima.

[441] Em uma modalidade exemplificativa, o epítopo de peptídeo é derivado de NY-ESO-1. Em uma modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em, ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de

qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129.

[442] Em uma modalidade, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129.

[443] Em uma modalidade, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 121 e 127.

[444] Em uma modalidade, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 113, 120 e 126.

[445] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em um ou mais epítopos de proteína ovalbumina. Em várias modalidades, a uma ou mais proteínas ovalbumina são epítopos de MHCI. Em várias modalidades, a uma ou mais proteínas ovalbumina são epítopos de MHCII.

[446] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em:

[447] (a) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID Nº:130], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, Xaa_3 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos

[448] (b) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$ KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT

[SEQ ID Nº:131], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

[449] (c) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2 KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID Nº:132], em que Xaa_1 está ausente ou é S, e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

[450] (d) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SKKKKKISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID Nº:133],

[451] (e) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 130 a 133,

[452] (f) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência KISQAVHAAHAEINEAGRESIINFEKLTEWT [SEQ ID Nº:134],

[453] (g) a sequência de SEQ ID Nº: 134,

[454] (h) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência SIINFEKL [SEQ ID Nº: 135],

[455] (i) a sequência de SEQ ID Nº: 135,

[456] (j) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência ISQAVHAAHAEINEAGR [SEQ ID Nº: 136],

[457] (k) a sequência de SEQ ID Nº: 136,

[458] (l) ou qualquer combinação de quaisquer dois ou mais dentre (a) a (k) acima.

[459] Em várias modalidades, o peptídeo compreende um ou mais epítopos da proteína ovalbumina selecionados do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs: 130 a 136. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou consiste em 8 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 130 a 136.

[460] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste em, ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID NOs 130 a 136.

[461] Em várias modalidades, o peptídeo compreende um ou mais epítopos restritos A*0200 imunodominantes derivados da proteína ppUL83 do citomegalovírus (CMV) ('peptídeo NLV') que consiste em

[462] (gg) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência NLVPMVATV [SEQ ID Nº: 137],

[463] (hh) a sequência de SEQ ID Nº: 137,

[464] (ii) 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos da sequência LMLLWTLVVLLICSSCSSCPLSKILL [SEQ ID Nº:138],

[465] (jj) a sequência de SEQ ID Nº: 138.

[466] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em 8 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 9 a 129.

[467] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma ou mais sequências de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste naquelas definidas na cláusula (1) do primeiro aspecto.

[468] Em várias formas de realização, Xaa_4 nas sequências referenciadas no presente documento está ausente ou é de 1 a 17 aminoácidos hidrofílicos, por exemplo, de 1 a 16, 1 a 15, 1 a 14, 1 a 13, 1 a 12, 1 a 11, 1 a 10, 1 a 9, 1 a 8, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3 ou 1 a 2 aminoácidos hidrofílicos ou é um aminoácido hidrofílico.

[469] Em uma modalidade, o conjugado de peptídeo compreende dois ou mais epítopos, tal como dois ou mais epítopos de peptídeo.

[470] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo compreende um peptídeo antigênico.

[471] Em modalidades especificamente contempladas, o peptídeo é um peptídeo sintético.

[472] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) é um composto isolado de fórmula (I).

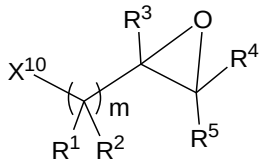
[473] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) é um composto puro, purificado ou substancialmente puro de fórmula (I).

[474] Em várias modalidades, o composto de fórmula (I) da invenção é um composto selecionado do grupo que consiste nos compostos 910, 911, 912, 913, 930, 931 e 932 dos Exemplos no presente documento.

[475] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir um conjugado de peptídeo da fórmula (IF) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável da presente invenção, sendo que o método compreende:

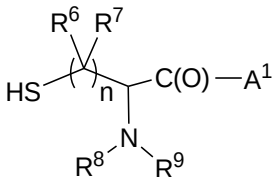
(A) reagir

[476] um epóxido da fórmula (XVI):



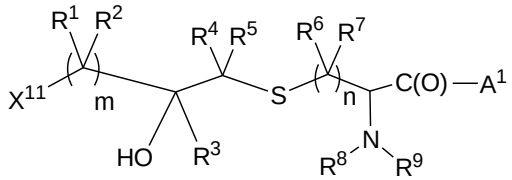
(XVI); e

[477] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

[478] sob condições eficazes para conjugar o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um composto de fórmula (XV):



(XV)

[479] em que

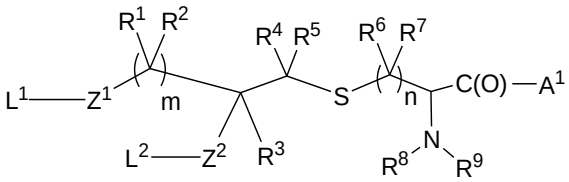
[480] X10 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

[481] X11 é X10 ou –OH, –SH, –NHR ou HNRC(O)O- quando X10 é P10-O-, P11-S-, P12–NR– ou P12-NRC(O)O- e as ditas condições são eficazes para remover P10, P11 ou P12;

[482] P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um grupo protetor;

[483] m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (IF) da invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e

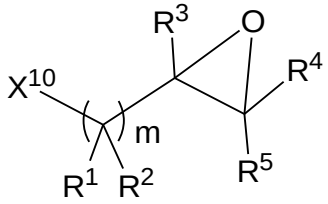
[484] converter o composto de fórmula (XV) no conjugado de peptídeo da fórmula (IF) da invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou em um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, por uma ou etapas sintéticas adicionais:



(IF); ou

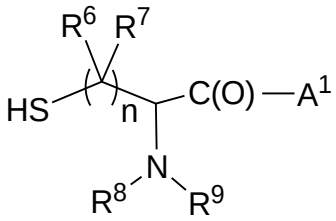
<u>(B) reagir</u>

[485] um epóxido da fórmula (XVI):



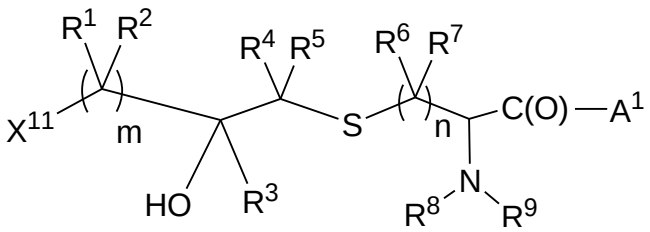
(XVI); e

[486] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

[487] sob condições eficazes para conjugar o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um composto de fórmula (XV):



(XV)

em que

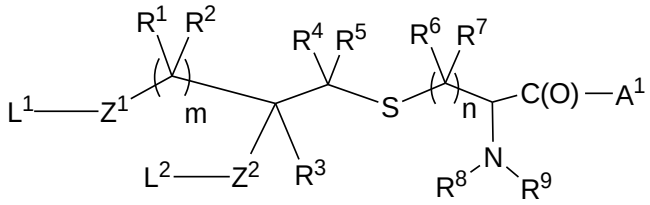
[488] X10 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

[489] X11 é X10 ou –OH, –SH, –NHR ou HNRC(O)O- quando X10 é P10-O-, P11-S-, P12–NR– ou P12-NRC(O)O- e as ditas condições são eficazes para remover P10, P11 ou P12;

[490] P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um grupo protetor;

[491] m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (IF), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto; e

[492] converter o composto de fórmula (XV) em um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (IF), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto, ou em um sal ou solvato do mesmo, por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



(IF); e

[493] acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (IF) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[494] Em várias modalidades, m é de 2 a 5, 2 a 4 ou 2 a 3. Em modalidades exemplificativas, m é 2. Em outras modalidades exemplificativas, m é de 3 a 5.

[495] Em várias modalidades, X10 é L1–Z1– ou –OH, –SH, –NHR, P10–O–, P11–S– ou P12–NR–; e X11 é X10 ou –OH, –SH ou –NHR.

[496] Em várias modalidades, X10 é L1–Z1–, –OH ou P10–O–; e X11 é X10 ou –OH.

[497] Em várias modalidades, X10 é L1–C(O)O–, OH ou P10–O–; e X11 é L1–C(O)O–, P10–O– ou OH.

[498] Em várias modalidades, X10 é L1–C(O)O– ou P10–O–; e X11 é L1–C(O)O–, P10–O– ou OH.

[499] Em modalidades exemplificativas, X10 é P10–O–; e X11 é P10–O– ou OH.

[500] Em várias modalidades, R9 não é hidrogênio, e/ou A1 não é OH.

[501] Em várias modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é um parceiro de conjugação contendo peptídeo que compreende 15 ou menos, 14 ou menos, 13 ou menos, 12 ou menos, 11 ou menos, 10 ou menos, 9 ou menos, 8 ou menos, 7 ou menos, 6 ou menos, 5 ou menos, 4 ou menos ou 3 ou menos resíduos de aminoácido.

[502] Em várias modalidades, a terminação C do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegida com um grupo protetor carboxila ou um grupo protetor carboxamida e/ou o grupo Nα-amino do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegido com um grupo protetor amino.

[503] Em modalidades exemplificativas, R9 é um grupo protetor amino.

[504] Em várias modalidades, A1 é OP1 ou NHP2. Em certas modalidades, A1 é OP1.

[505] Em modalidades exemplificativas, R9 é um grupo protetor amino e A1 é OP1 no parceiro de conjugação que compreende aminoácido.

[506] Em várias modalidades, o método compreende reagir o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido na presença de um ácido, por exemplo, um ácido forte.

[507] Em certas modalidades, o ácido compreende ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou uma mistura dos mesmos.

[508] Em certas modalidades, o ácido compreende um ácido de Lewis, por exemplo, BF_3.

[509] Em outras modalidades, o método compreende reagir o epóxido e parceiro de conjugação que compreende aminoácido sob condições neutras.

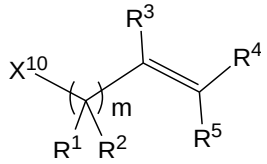
[510] Em várias modalidades, as condições neutras compreendem um solvente prótico, tal como um álcool, por exemplo, etanol.

[511] Em outras modalidades, o método compreende reagir o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido na presença de uma base, por exemplo, uma base moderada.

[512] Em algumas modalidades, a base é uma amina orgânica, por exemplo, trietilamina.

[513] Em várias modalidades, o método compreende fornecer o

epóxido reagindo-se um alceno da fórmula (XVII):

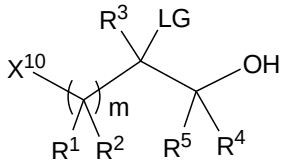


(XVII)

[514] e um oxidante sob condições eficazes para epoxidar o alceno.

[515] Em várias modalidades, o oxidante é um peróxido, tal como um peróxido orgânico, por exemplo, ácido m-cloro peroxibenzoico, ou um N-óxido orgânico, por exemplo, N-óxido de piridina.

[516] Em várias modalidades, o método compreende fornecer o epóxido reagindo um composto da fórmula (XVII-A) em que LG é um grupo de saída:



(XVII-A)

[517] e uma base sob condições eficazes para epoxidação.

[518] Em várias modalidades, o composto de fórmula (XVII-A) é preparado a partir de ácido L-aspártico.

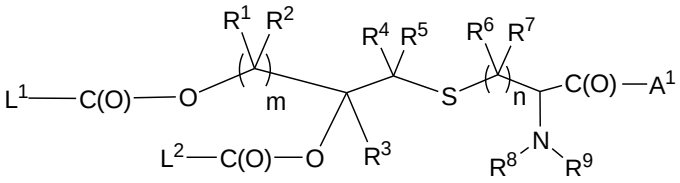
[519] Em várias modalidades, o método compreende, ainda, fornecer um único estereoisômero ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida do epóxido de fórmula (XVI).

[520] Em várias modalidades, fornecer o único estereoisômero ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida do epóxido de fórmula (XVI) compreende separar uma mistura racêmica do epóxido.

[521] Em várias modalidades, o método compreende fornecer um único estereoisômero ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida do composto de fórmula (XVII-A).

[522] Em várias modalidades, o método compreende converter o composto de fórmula (XV) em um conjugado de aminoácido ou peptídeo

da fórmula (IF-1) ou em um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



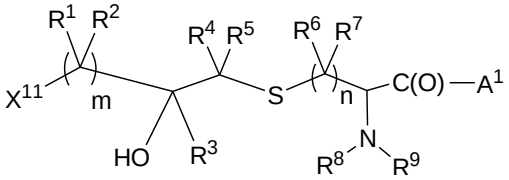
(IF-1).

[523] Em várias modalidades, a uma ou mais etapas sintéticas compreendem converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado em L2–Z2–.

[524] Em várias modalidades, a uma ou mais etapas sintéticas compreendem acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado por L2–C(O)–.

[525] Em várias modalidades, X11 é P10–O– ou OH; e a uma ou mais etapas sintéticas compreendem acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir P10 ou o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila de X11 por L1–C(O)–; e/ou acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado com L2–C(O)–.

[526] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um composto da fórmula (XV):



(XV)

[527] em que

[528] X11 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

[529] P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um grupo protetor;

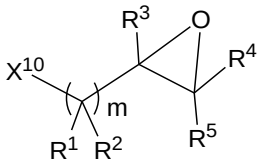
[530] m é um número inteiro de 2 a 6; e

[531] n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I) da invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou qualquer modalidade do mesmo; ou um sal ou solvato do mesmo.

[532] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir um composto da fórmula (XV) ou um sal ou solvato do mesmo, sendo que o método compreende:

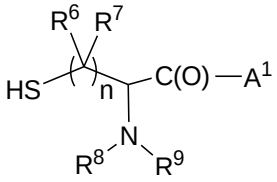
(A) reagir

[533] um epóxido da fórmula (XVI):



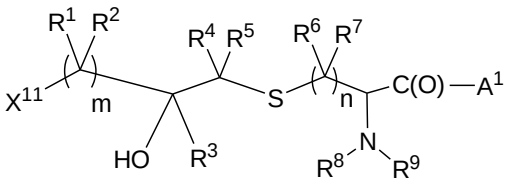
(XVI); e

[534] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

[535] sob condições eficazes para conjugar o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um composto de fórmula (XV):



(XV)

[536] em que

[537] X10 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

[538] X11 é X10 ou –OH, –SH, –NHR ou HNRC(O)O- quando X10 é P10-O-, P11-S-, P12–NR– ou P12-NRC(O)O- e as ditas condições são eficazes para remover P10, P11 ou P12;

[539] P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um grupo protetor;

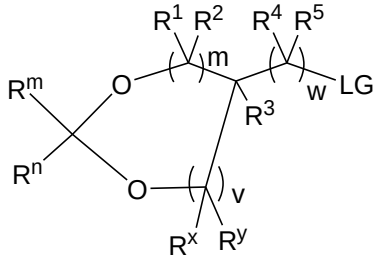
[540] m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (IF) da invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto).

[541] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente no uso de um composto da fórmula (XV) ou (XVI) na síntese de um conjugado de peptídeo da fórmula (IF) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[542] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir um conjugado de peptídeo da fórmula (I) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável da presente invenção, sendo que o método compreende:

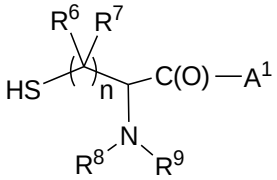
(A) reagir

[543] um composto da fórmula (XXI):



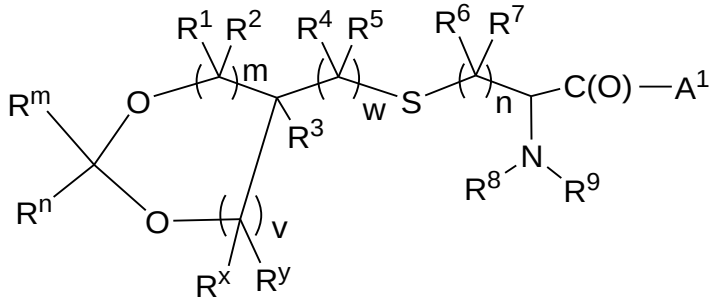
(XXI); e

[544] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

[545] sob condições eficazes para conjugar o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer o composto de fórmula (XX):



(XX)

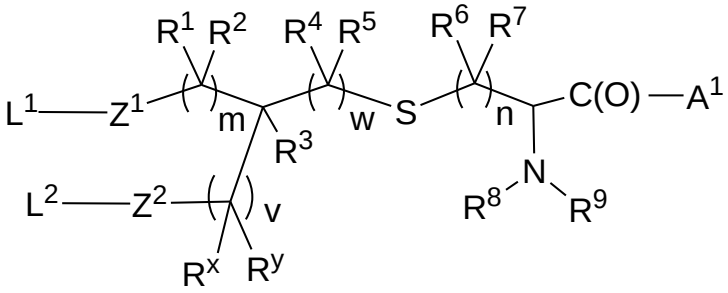
[546] em que

[547] Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

[548] LG é um grupo de saída; e

[549] m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e

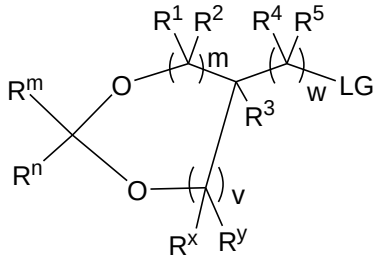
[550] converter o composto de fórmula (XX) em um conjugado de peptídeo de fórmula (I) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



(I); ou

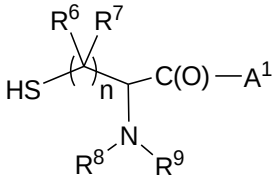
(B) reagir

[551] um composto da fórmula (XXI):



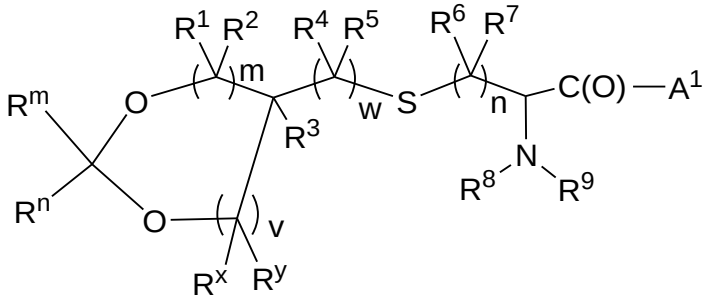
(XXI); e

[552] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

[553] sob condições eficazes para conjugar o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer o composto de fórmula (XX):



(XX)

[554] em que

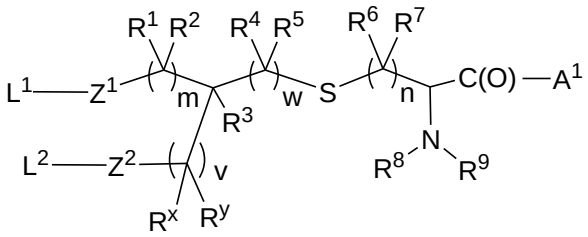
[555] Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

[556] LG é um grupo de saída; e

[557] m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto; e

[558] converter o composto de fórmula (XX) em um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1)

e (2) do primeiro aspecto, ou em um sal ou solvato do mesmo, por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



(I); e

[559] acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (I) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[560] Em várias modalidades, Rm e Rn são, cada um, independentemente, selecionados dentre hidrogênio, C1-6 alquila ou arila.

[561] Em certas modalidades, Rm é hidrogênio, C1-6 alquila ou arila; e Rn é C1-6 alquila ou arila.

[562] Em várias modalidades, o grupo de saída é um halo (por exemplo, cloro, bromo ou iodo) ou sulfonato (por exemplo, um tosilato ou mesilato).

[563] Em várias modalidades, m e v são tais que o composto de fórmula (XXI) compreenda um acetal cíclico com 5 a 7 membros.

[564] Em certas modalidades, o acetal cíclico é um acetal cíclico com 6 membros.

[565] Em várias modalidades, o acetal cíclico é um acetal cíclico com 5 membros, e w é um número inteiro maior que 1.

[566] Em várias modalidades, m é 2, e v é 1.

[567] Em várias modalidades, R9 não é hidrogênio, e/ou A1 não é OH.

[568] Em várias modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é um parceiro de conjugação contendo peptídeo que compreende 15 ou menos, 14 ou menos, 13 ou menos, 12 ou menos, 11 ou menos, 10 ou menos, 9 ou menos, 8 ou menos, 7 ou menos, 6 ou menos, 5 ou menos, 4 ou menos ou 3 ou menos resíduos de aminoácido.

[569] Em várias modalidades, a terminação C do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegida com um grupo protetor carboxila ou um grupo protetor carboxamida e/ou o grupo Nα-amino do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegido com um grupo protetor amino.

[570] Em modalidades exemplificativas, R9 é um grupo protetor amino.

[571] Em várias modalidades, A1 é OP1 ou NHP2. Em certas modalidades, A1 é OP1.

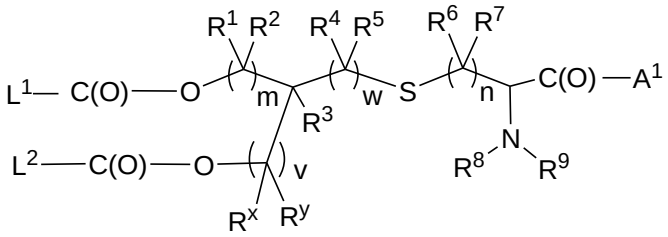
[572] Em modalidades exemplificativas, R9 é um grupo protetor amino e A1 é OP1 no parceiro de conjugação que compreende aminoácido.

[573] Em várias modalidades, o método compreende reagir o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido de fórmula (III) na presença de uma base.

[574] Em várias modalidades, a base compreende uma amina orgânica, por exemplo, trietilamina, N-metilmorfolina ou colidina.

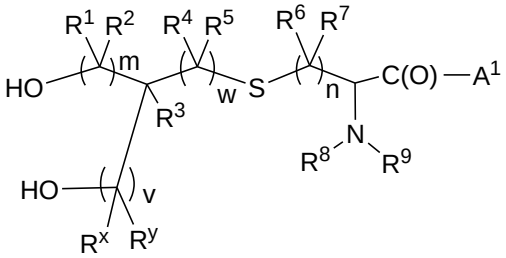
[575] Em várias modalidades, o acetal cíclico de fórmula (XXI) é fornecido na forma se um estereoisômero único ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida.

[576] Em várias modalidades, o método compreende converter o composto de fórmula (XX) em um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (IA) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo por uma ou mais etapas sintéticas:



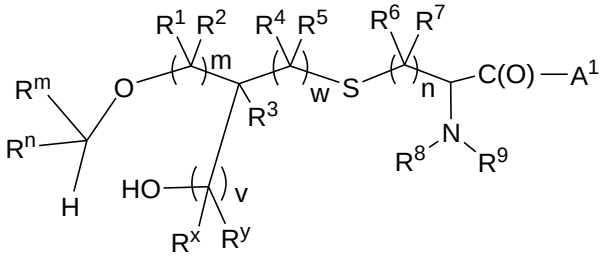
(IA).

[577] Em várias modalidades, a uma ou mais etapas sintéticas compreendem remover o acetal no composto de fórmula (XX) para fornecer um composto da fórmula (XXIII-1):

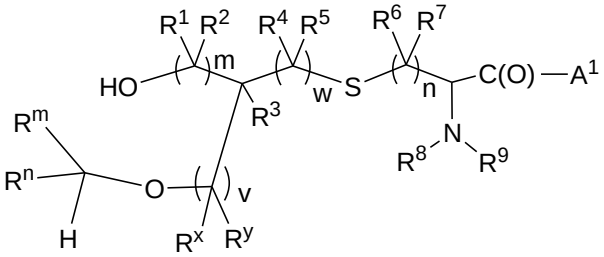


(XXIII-1).

[578] Em várias modalidades, em que Rm é arila opcionalmente substituída, por exemplo, fenila ou fenila substituída por metóxi, o método compreende remover o acetal no composto de fórmula (XX) para fornecer um composto da fórmula (XXIII-2) ou (XXIII-3):



(XXIII-2)



(XXIII-3).

[579] Em várias modalidades, a uma ou mais etapas sintéticas compreendem converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R1

e R2 estão ligados no composto de fórmula (XXIII-1) a L1-Z1- e/ou converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual Rx e Ry estão ligados a L2-Z2.

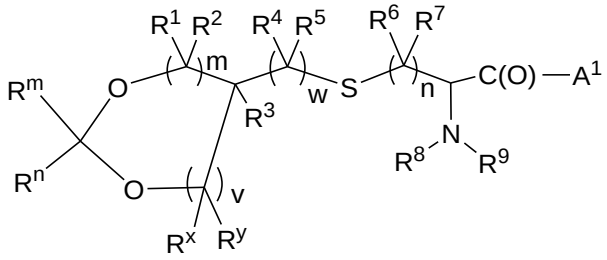
[580] Em várias modalidades, a uma ou mais etapas sintéticas compreendem

[581] converter o grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono ao qual Rx e Ry estão ligados no composto de fórmula (XXIII-2) a L2-Z2-, remover o grupo RmRnCH- para fornecer um grupo hidroxila e converter o grupo hidroxila em L1-Z1; ou

[582] converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual Rx e Ry estão ligados no composto de fórmula (XXIII-2) a L1-Z1-, remover o grupo RmRnCH- para fornecer um grupo hidroxila e converter o grupo hidroxila em L2-Z2-.

[583] Em várias modalidades, converter o dito grupo hidroxila em L1-Z1- ou L2-Z2- compreende acilar de modo a substituir o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila por L1–C(O)– ou L2–C(O)–.

[584] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um composto da fórmula (XX):



(XX)

[585] em que:

[586] Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

[587] m e w são, cada um, independentemente, um número inteiro de 0 a 7, e v é um número inteiro de 0 a 5,

[588] desde que:

[589] a soma de m, v e w seja pelo menos 3; e

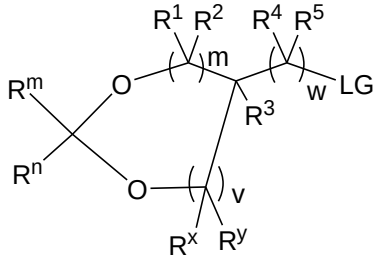
[590] a soma de m e w seja de 0 a 7; e

[591] n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou qualquer modalidade do mesmo; ou um sal ou solvato do mesmo.

[592] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir um composto da fórmula (XX) ou um sal ou solvato do mesmo, sendo que o método compreende:

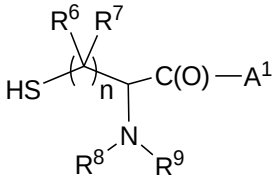
(A) reagir

[593] um composto da fórmula (XXI):



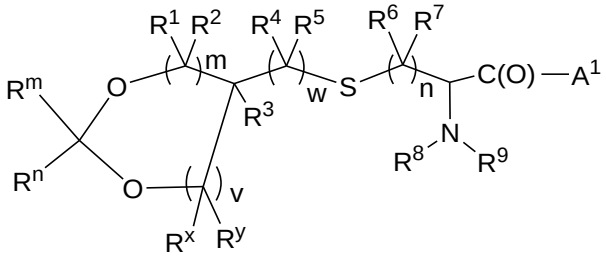
(XXI); e

[594] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

[595] sob condições eficazes para conjugar o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer o composto de fórmula (XX):



(XX)

[596] em que

[597] Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

[598] LG é um grupo de saída; e

[599] m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto).

[600] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente no uso de um composto da fórmula (XX) ou (XXI) na síntese de um conjugado de peptídeo da fórmula (IA) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[601] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir um conjugado de peptídeo da fórmula (I) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável da presente invenção, sendo que o método compreende:

(A) reagir

[602] um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono,

[603] um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono, e

[604] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende um tiol

[605] sob condições eficazes para conjugar o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornece o conjugado de peptídeo de fórmula (I) ou sal ou solvato do mesmo,

[606] em que, no conjugado de aminoácido ou peptídeo, o átomo de enxofre do tiol do parceiro de conjugação que compreende

aminoácido é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio, e um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio; ou

(B) reagir

[607] um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono,

[608] um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono, e

[609] um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende um tiol

[610] sob condições eficazes para conjugar o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um conjugado de aminoácido ou peptídeo,

[611] em que, no conjugado de aminoácido ou peptídeo, o átomo de enxofre do tiol do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio, e um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio; e

[612] acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (I) ou sal ou solvato do mesmo.

[613] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que

compreende aminoácido é um parceiro de conjugação contendo peptídeo, e os parceiros de conjugação contendo lipídio são acoplados ao peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[614] Em algumas modalidades, os parceiros de conjugação contendo lipídio são conjugados ao ou a um aminoácido do parceiro de conjugação que compreende aminoácido ou ao peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[615] Em certas modalidades, os parceiros de conjugação contendo lipídio são conjugados ao ou a um aminoácido do parceiro de conjugação que compreende aminoácido.

[616] Consequentemente, em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir um conjugado de peptídeo de fórmula (I) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo da presente invenção, em que o método compreende reagir

[617] um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono,

[618] um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono e

[619] parceiro de conjugação contendo peptídeo que compreende um tiol

[620] sob condições eficazes para conjugar o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação contendo peptídeo e fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (I) ou sal ou solvato do mesmo,

[621] em que, no conjugado de peptídeo, o átomo de enxofre do tiol do parceiro de conjugação contendo peptídeo é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio, e um átomo de carbono da

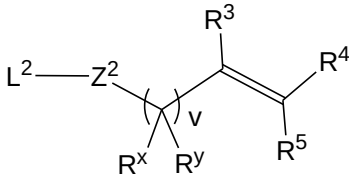
ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio.

[622] Em várias modalidades, o conjugado é um lipopeptídeo, de modo que o método seja para produzir um lipopeptídeo.

[623] Em várias modalidades, o primeiro e o segundo parceiros de conjugação contendo lipídio têm a mesma estrutura (ou seja, o primeiro e o segundo parceiros de conjugação contendo lipídio são idênticos).

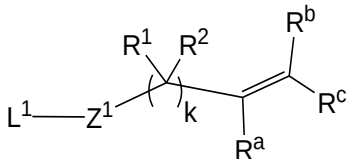
[624] Em várias modalidades o método compreende conjugar o átomo de enxofre do tiol a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e, então, conjugar um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono ao qual o tiol é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio.

[625] Em várias modalidades, o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é um composto da fórmula (IIA):



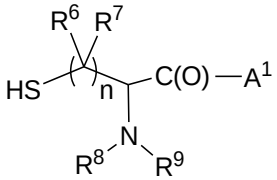
(IIA);

[626] o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio é um composto da fórmula (IIB):



(IIB); e

[627] o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende uma estrutura da fórmula (III):



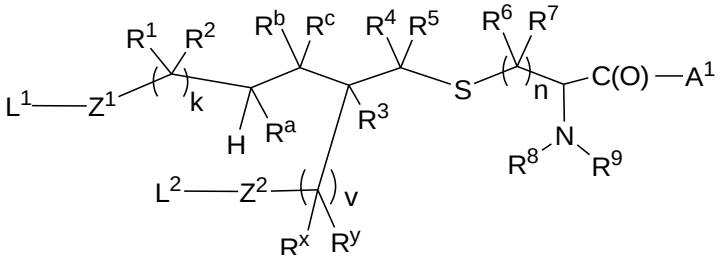
(III);

[628] em que:

[629] quando o método é (A), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB) da presente invenção (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e

[630] quando o método é (B), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[631] Em várias modalidades, o conjugado de aminoácido ou peptídeo é a composto da fórmula (IB):



(IB)

[632] em que:

[633] quando o método é (A), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB) da presente invenção (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e

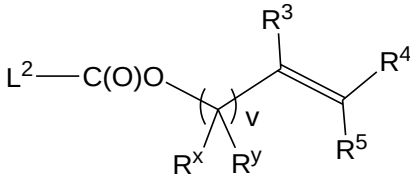
[634] quando o método é (B), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[635] Em várias modalidades, os parceiros de conjugação

contendo lipídio estão em excesso estequiométrico em relação ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido.

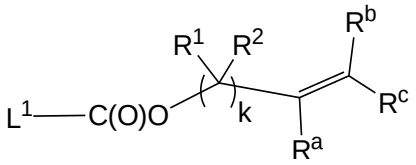
[636] Em várias modalidades, a razão molar entre os parceiros de conjugação contendo lipídio (combinados) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é pelo menos 7:1.

[637] Em várias modalidades, o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é um composto da fórmula (IIA-1):



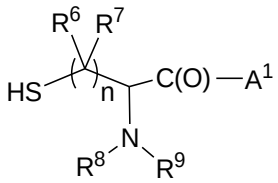
(IIA-1);

[638] o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio é um composto da fórmula (IIB):



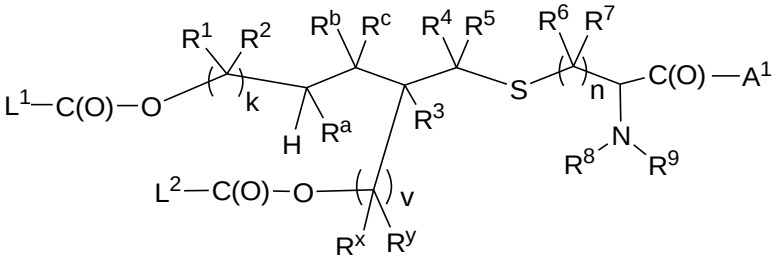
(IIB);

[639] o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende uma estrutura da fórmula (III):



(III); e

[640] o conjugado é um composto da fórmula (IC):



(IC)

[641] em que:

[642] quando o método é (A), Ra, Rb, Rc, L1, L2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IC) da presente invenção (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e

[643] quando o método é (B), Ra, Rb, Rc, L1, L2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IC), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[644] Em várias modalidades, L1 é C11-21 alquila; k é 0 a 3, de preferência, 0; e Ra, Rb e Rc são, cada um, hidrogênio.

[645] Em várias modalidades, L1 é C11-21 alquila; k é 1 a 3; e Ra, Rb e Rc são, cada um, hidrogênio.

[646] Em várias modalidades, L2 é C11-21 alquila; v é 0 a 3, de preferência, 0; e R3, R4 e R5 são, cada um, hidrogênio.

[647] Em várias modalidades, n é 1; R6, R7, e R8 são, cada um, hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino, L3-C(O) ou A2.

[648] Em várias modalidades, n é 1; R6, R7 e R8 são, cada um, hidrogênio; e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O), em que L3 é C15 alquila linear ou metila.

[649] Em várias modalidades, os compostos de fórmula (IIA) e (IIB) são, cada um, palmitato de vinila.

[650] Em várias modalidades, o parceiro de conjugação contendo aminoácido é cisteína, uma cisteína desprotegida (incluindo cisteína protegida por Nα-amina e/ou carboxila) ou um peptídeo que compreende um resíduo de cisteína (incluindo um resíduo de cisteína protegido por Nα-amina ou carboxila), por exemplo, um resíduo de cisteína N-terminal (incluindo um resíduo de cisteína protegido por Nα-amina).

[651] Em algumas modalidades, o método compreende reagir palmitato de vinila e uma cisteína protegida por Nα-amino, tal como

Fmoc-Cys-OH, Boc-Cys-OH, Fmoc-Cys-OP1 ou Boc-Cys-OP1. Em algumas modalidades, o grupo carboxila do cisteína protegido por Nα-amino é protegido.

[652] Em uma modalidade, as condições eficazes para conjugar os parceiros de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreendem a geração de um ou mais radicais livres. Em uma modalidade, as condições eficazes para conjugar os parceiros de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação contendo peptídeo compreendem a geração de um ou mais radicais livres.

[653] Em algumas modalidades, a geração de um ou mais radicais livres é iniciada térmica e/ou fotoquimicamente. Em certas modalidades, a geração de um ou mais radicais livres é iniciada pela degradação térmica e/ou fotoquímica de um iniciador de radicais livres. Em modalidades exemplificativas, a geração de um ou mais radicais livres é iniciada pela degradação térmica de um iniciador térmico ou pela degradação fotoquímica de um iniciador fotoquímico.

[654] Em algumas modalidades, a degradação térmica do iniciador de radicais livres compreende aquecer a mistura de reação a uma temperatura adequada. Em algumas modalidades, a mistura de reação é aquecida a uma temperatura de cerca de 40°C a cerca de 200°C, de cerca de 50°C a cerca de 180°C, de cerca de 60°C a cerca de 150°C, de cerca de 65°C a cerca de 120°C, de cerca de 70°C a cerca de 115°C, de cerca de 75°C a cerca de 110°C ou de cerca de 80°C a cerca de 100°C. Em outras modalidades, a mistura de reação é aquecida a uma temperatura de pelo menos cerca de 40°C, pelo menos cerca de 50°C, pelo menos cerca de 60°C ou pelo menos cerca de 65°C. Em uma modalidade especificamente contemplada, a mistura de reação é aquecida a uma temperatura de cerca de 90°C.

[655] Em algumas modalidades, a degradação fotoquímica do

iniciador de radical livre compreende irradiação com luz ultravioleta, de preferência, que tem uma frequência compatível com as cadeias laterais de aminoácidos de ocorrência natural. Em uma modalidade especificamente contemplada, a luz ultravioleta tem um comprimento de onda de cerca de 365 nm. Em modalidades exemplificativas, a degradação fotoquímica do iniciador de radicais livres é executada próximo à temperatura ambiente.

[656] Em uma modalidade especificamente contemplada, o iniciador térmico é 2,2'-azobisisobutironitrila (AIBN). Em uma modalidade especificamente contemplada, o fotoiniciador é 2,2-dimetóxi-2-fenilacetofenona (DMPA).

[657] Em certas modalidades, a reação é executada em um meio líquido. Em uma modalidade, o meio líquido compreende um solvente. Em uma modalidade, o solvente é selecionado a partir do grupo que consiste em N-metilpirrolidona (NMP), dimetilsulfóxido (DMSO), N,N-dimetilformamida (DMF), diclorometano (DCM), 1,2-dicloroetano e misturas dos mesmos. Em uma modalidade especificamente contemplada, o solvente compreende NMP, DMF, DMSO ou uma mistura dos mesmos.

[658] Em uma modalidade especificamente contemplada, o solvente compreende DMSO ou NMP. Em modalidades exemplificativas, o solvente compreende NMP.

[659] Em algumas modalidades, a reação é executada na presença de um ou mais aditivos que inibem a formação de subprodutos e/ou que aprimoram o rendimento ou a conversão no conjugado desejado.

[660] Em várias modalidades, o um ou mais aditivos são um tiol estranho, um ácido, um organossilano ou uma combinação de quaisquer dois ou mais dos mesmos.

[661] Em algumas modalidades exemplificativas, o tiol estranho ou

exógeno é selecionado a partir do grupo que consiste em glutationa reduzida (GSH), 2,2'-(etilenodióxi)dietanotiol (DODT), 1,4-ditiotreitol (DTT), proteína e tióis estericamente impedidos. Em uma modalidade especificamente contemplada, o tiol estranho ou exógeno é DTT. Em algumas modalidades, o tiol estranho ou exógeno é um tiol estericamente impedido, por exemplo, *terc*-butil mercaptano.

[662] Em várias modalidades, o aditivo ácido é um ácido inorgânico ou orgânico forte. Em várias modalidades, o ácido é um ácido orgânico forte. Em várias modalidades, o ácido é TFA.

[663] Em várias modalidades, o organossilano é um trialquilsilano, por exemplo, TIPS.

[664] Em algumas modalidades, o um ou mais aditivos são selecionados a partir do grupo que consiste em TFA, *terc*-butil mercaptano, TIPS e combinações de quaisquer dois ou mais dos mesmos.

[665] Em certas modalidades, o um ou mais aditivos é uma combinação de um ácido e um tiol estranho, por exemplo, TFA e *terc*-butil mercaptano.

[666] Em outras modalidades, o um ou mais aditivos são uma combinação de um ácido e um organossilano, por exemplo, TFA e TIPS.

[667] Em outras modalidades, o um ou mais aditivos são uma combinação de um tiol estranho e um organossilano e, opcionalmente, um ácido, por exemplo, uma combinação de t-BuSH e TIPS, e TFA.

[668] Em algumas modalidades, a reação é executada por um período de tempo time de cerca de 5 minutos a cerca de 48 horas, 5 minutos a cerca de 24 horas, de cerca de 5 minutos a cerca de 12 horas, de cerca de 5 minutos a cerca de 6 horas, de cerca de 5 minutos a cerca de 3 horas, 5 minutos a duas horas ou de cerca de 5 minutos a cerca de uma hora. Em modalidades exemplificativas, a reação é executada

por um período de tempo time de cerca de 5 minutos a cerca de uma hora. Em algumas modalidades, a reação é executada até um dos parceiros de conjugação ser pelo menos cerca de 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 99% ou 100% consumido.

[669] Em certas modalidades, a reação é executada sob condições substancialmente livres de oxigênio.

[670] Em várias modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é um parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[671] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um epítopo. Em uma modalidade, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo, tal como um epítopo de peptídeo.

[672] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende dois ou mais epítopos. Em uma modalidade, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende dois ou mais epítopos.

[673] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido consiste em um peptídeo.

[674] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido consiste em um peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo. Em uma modalidade, o parceiro de conjugação contendo peptídeo consiste em um peptídeo. Em uma modalidade, o parceiro de conjugação contendo peptídeo consiste em um peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo.

[675] Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um epítopo ligado ao ou a um aminoácido do parceiro de conjugação. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo ligado ao peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo. Em

algumas modalidades, o epítopo é ligado ao peptídeo por meio de um grupo ligante.

[676] Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um epítopo de peptídeo ligado ao ou um aminoácido do parceiro de conjugação por meio de um grupo ligante. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo de peptídeo ligado ao peptídeo por meio de um grupo ligante.

[677] Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreendem um peptídeo antigênico.

[678] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou conjugado de peptídeo compreende um peptídeo sintético. Em algumas modalidades, o peptídeo sintético é um peptídeo preparado por um método que compreende a síntese de peptídeo de fase sólida (SPPS).

[679] Em várias modalidades, o método compreender acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo.

[680] Em várias modalidades, o método compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo da presente invenção.

[681] Em várias modalidades, o peptídeo compreende um epítopo. Em algumas modalidades, o epítopo é um epítopo de peptídeo.

[682] Em algumas modalidades, o método compreende, ainda, acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um aminoácido ou um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo da presente invenção.

[683] Em algumas modalidades, o acoplamento de um peptídeo compreende acoplar individualmente um ou mais aminoácidos e/ou um ou mais peptídeos.

[684] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um peptídeo de modo a fornecer um conjugado de peptídeo da invenção que compreende um grupo ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo.

[685] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acoplar um aminoácido do conjugado de peptídeo que compreende um grupo ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo a um aminoácido ou um peptídeo de modo a fornecer um conjugado de peptídeo da invenção que compreende um epítopo de peptídeo ligado ao aminoácido ao qual as porções químicas de lipídio são conjugadas por meio de um grupo ligante.

[686] Em algumas modalidades, o aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas são conjugadas é um resíduo de aminoácido N-terminal.

[687] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um peptídeo de modo a fornecer um conjugado de peptídeo da invenção que compreende um epítopo de peptídeo.

[688] Em algumas modalidades, o método compreende, ainda, acoplar um epítopo ao aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo.

[689] Em algumas modalidades, o método compreende, ainda, acoplar um epítopo de peptídeo ao aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo.

[690] Em algumas modalidades, o epítopo é acoplado ou ligado por meio de um grupo ligante.

[691] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acoplar um epítopo ao peptídeo do conjugado de peptídeo.

[692] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acoplar um epítopo de peptídeo ao peptídeo do conjugado de peptídeo.

[693] Em algumas modalidades, o epítopo é ligado ao peptídeo por meio de um grupo ligante.

[694] Em várias modalidades, o método é (B) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido consiste e um aminoácido, por exemplo, cisteína (incluindo cisteínas protegidas por Nα-amino e/ou terminação C).

[695] Em várias modalidades, o composto conjugado de aminoácido ou peptídeo de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto, é um conjugado de aminoácido.

[696] Em algumas modalidades, A1 é OH, OP1, NH2 ou NHP2 e/ou R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C1-6 cicloalquila, um grupo protetor amino ou L3–C(O) no aminoácido ou composto conjugado de peptídeo de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[697] Em algumas dessas modalidades, A1 é OP1 ou OH e/ou R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O) no composto conjugado de aminoácido ou peptídeo de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[698] Em vários tipos de tais modalidades, A1 é OH, OP1, NH_2 ou NHP2 e R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino, ou L3-C(O) no composto conjugado de aminoácido ou peptídeo de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[699] Em várias modalidades, A1 é OH ou OP1, e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3–C(O) no composto conjugado de aminoácido ou peptídeo de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

[700] Em várias modalidades, a terminação C do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegida com um grupo protetor e/ou o grupo Nα-amino do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegido com um grupo protetor.

[701] Em várias modalidades, o grupo carboxila da terminação C do aminoácido é protegido com um grupo protetor carboxila ou um grupo protetor carboxamida e/ou o grupo Nα-amino do aminoácido é protegido com um grupo protetor amino.

[702] Em várias modalidades, o grupo carboxila da terminação C do aminoácido é protegido com um grupo protetor carboxila e/ou o grupo Nα-amino do aminoácido é protegido com um grupo protetor amido.

[703] Em algumas modalidades, o grupo carboxila da C-terminação do peptídeo é protegido com um grupo protetor carboxila e/ou o grupo Nα-amino do peptídeo é protegido com um grupo protetor amino.

[704] Em algumas modalidades, o resíduo de aminoácido que compreende o tiol é um resíduo de aminoácido terminal. Em algumas modalidades, o resíduo de aminoácido que compreende o tiol é um resíduo N-terminal.

[705] Em algumas modalidades, A1 e/ou R9 são um grupo diferente de um aminoácido ou um peptídeo, e o método compreende acoplar um aminoácido ou um peptídeo de modo a substituir A1 e/ou R9 pelo aminoácido ou peptídeo.

[706] Em algumas modalidades, A1 é um grupo diferente de um aminoácido ou um peptídeo, e o método compreende acoplar um aminoácido ou um peptídeo de modo a substituir A1 pelo aminoácido ou peptídeo.

[707] Em algumas modalidades, A1 é OH, OP1, NH_2 ou NHP2, e/ou R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3-C(O), e o método compreende acoplar um aminoácido ou um peptídeo de modo a substituir A1 e/ou R9 pelo aminoácido ou peptídeo.

[708] Em algumas modalidades, A1 é OH, OP1, NH_2 ou NHP2, e R9 é hidrogênio, um grupo protetor amino ou L3-C(O), e o método compreende, ainda, acoplar um aminoácido ou um peptídeo de modo a substituir A1 e/ou R9 pelo aminoácido ou peptídeo.

[709] Em algumas modalidades, o acoplamento de um peptídeo compreende acoplar individualmente um ou mais aminoácidos e/ou um ou mais peptídeos.

[710] Em algumas modalidades, o acoplamento do aminoácido ou peptídeo fornece um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo. Em algumas modalidades, o acoplamento do aminoácido ou peptídeo fornece um conjugado de peptídeo que compreende um grupo ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo. Em algumas modalidades, o acoplamento do aminoácido ou peptídeo fornece um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo ligado ao aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas por meio de um grupo ligante.

[711] Em algumas modalidades, o grupo Nα-amino do aminoácido que compreende o tiol ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas é acilado. Em algumas modalidades, R9 no parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende o tiol é L3-C(O)-, por exemplo Me-C(O)-.

[712] Em certas modalidades, o método compreende adicionalmente acilar o grupo Nα-amino do aminoácido do conjugado de aminoácido ou do resíduo de aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas. Em certas modalidades, o método compreende adicionalmente acilar o grupo Nα-

amino com um ácido graxo C2-20, tal como acetila.

[713] Em algumas modalidades, R9 é hidrogênio ou um grupo protetor amino, e sendo que o método compreende, ainda, acilar o conjugado de aminoácido ou conjugado de peptídeo de modo a substituir o hidrogênio ou grupo protetor amino em R9 com L3-C(O).

[714] Em algumas modalidades, acilar o conjugado de aminoácido ou conjugado de peptídeo de modo a substituir o grupo protetor amino em R9 por L3-C(O) compreende remover o grupo protetor amino em R9 para fornecer um hidrogênio em R9.

[715] Em certas modalidades, o ou um aminoácido do parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende o tiol. Em certas modalidades, um resíduo de aminoácido do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende o tiol.

[716] Em certas modalidades, o tiol é o tiol de um resíduo de cisteína.

[717] Em certas modalidades, o resíduo de cisteína é um resíduo terminal. Em certas modalidades, o resíduo de cisteína é um resíduo N-terminal.

[718] Em algumas modalidades, o grupo amino do resíduo de cisteína é acetilado.

[719] Em uma modalidade, o grupo amino é acetilado com um ácido graxo C2-20.

[720] Em uma modalidade exemplificativa, o ácido graxo C2-20 é acetila ou palmitoíla. Em outra modalidade exemplificativa, o ácido graxo C2-20 é acetila.

[721] Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou conjugado de peptídeo compreende de 8 a 220, 8 a 200, 8 a 175, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 90, 8 a 80, 8 a 70, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25, 8 a 20 ou 8 a 15 aminoácidos. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo

compreende de 8 a 220, 8 a 200, 8 a 175, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 90, 8 a 80, 8 a 70, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25, 8 a 20 ou 8 a 15 aminoácidos.

[722] Em uma modalidade exemplificativa, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou conjugado de peptídeo compreende um peptídeo que compreende de 8 a 60 aminoácidos. Em uma modalidade exemplificativa, o peptídeo compreende de 8 a 60 aminoácidos.

[723] Em outras modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou conjugado de peptídeo compreende de 5 a 220, 8 a 220, 5 a 175, 8 a 175, 8 a 150, 10 a 150, 15 a 125, 20 a 100, 20 a 80, 20 a 60, 25 a 100, 25 a 80, 25 a 60, 30 a 80, 40 a 60 ou 50 a 60 aminoácidos. Em outras modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende de 5 a 220, 8 a 220, 5 a 175, 8 a 175, 8 a 150, 10 a 150, 15 a 125, 20 a 100, 20 a 80, 20 a 60, 25 a 100, 25 a 80, 25 a 60, 30 a 80, 40 a 60 ou 50 a 60 aminoácidos.

[724] Em outras modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou conjugado de peptídeo compreende de 5 a 150, 5 a 125, 5 a 100, 5 a 75, 5 a 60, 5 a 50, 5 a 40, 5 a 30, 5 a 25, 5 a 20, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 75, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25 ou 8 a 20 aminoácidos. Em outras modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende de 5 a 150, 5 a 125, 5 a 100, 5 a 75, 5 a 60, 5 a 50, 5 a 40, 5 a 30, 5 a 25, 5 a 20, 8 a 150, 8 a 125, 8 a 100, 8 a 75, 8 a 60, 8 a 50, 8 a 40, 8 a 30, 8 a 25 ou 8 a 20 aminoácidos.

[725] Em várias modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é um peptídeo curto. Em algumas modalidades, o peptídeo curto compreende menos de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 ou 3 aminoácidos.

[726] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação que

compreende aminoácido e/ou conjugado de peptídeo compreende um ou mais grupos solubilizantes. Em uma modalidade, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um ou grupos solubilizantes.

[727] Em certas modalidades, o grupo solubilizante é uma sequência de aminoácidos que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo. Em certas modalidades, o grupo solubilizante é uma sequência de aminoácidos que compreende uma sequência de dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos consecutivos na cadeia de peptídeo. Em uma modalidade, os resíduos de aminoácido hidrofílicos são resíduos de aminoácido catiônicos. Em uma modalidade, os resíduos de aminoácido catiônicos são resíduos de arginina ou lisina. Em uma modalidade especificamente contemplada, os resíduos de aminoácido catiônicos são resíduos de lisina. Em uma modalidade, a sequência compreende de 2 a 20, 2 a 15, 2 a 10, 3 a 7 ou 3 a 5 aminoácidos. Em uma modalidade, o grupo solubilizante é uma sequência de tri, tetra, penta, hexa ou heptalisina. Em uma modalidade especificamente contemplada, o grupo solubilizante é uma sequência de tetralisina.

[728] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um resíduo de serina adjacente ao resíduo de aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas. Em uma modalidade especificamente contemplada, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um resíduo de serina adjacente ao resíduo de aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas. Em uma modalidade exemplificativa, o resíduo de aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas é N-terminal. Em uma modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende adicionalmente uma sequência consecutiva de dois ou

mais resíduos de aminoácido hidrofílicos adjacentes ao resíduo de serina.

[729] Em certas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende uma sequência consecutiva de dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos adjacentes ao resíduo de serina.

[730] Em certas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende apenas aminoácidos de ocorrência natural. Em certas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende apenas aminoácidos de ocorrência natural. Em outras modalidades, 75% ou mais, 80% ou mais, 85% ou mais, 90% ou mais, 95% ou mais, 97% ou mais, ou 99% ou mais dos resíduos de aminoácido no peptídeo são aminoácidos de ocorrência natural.

[731] Em outras modalidades, 75% ou mais, 80% ou mais, 85% ou mais, 90% ou mais, 95% ou mais, 97% ou mais, ou 99% ou mais dos resíduos de aminoácido no conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido são aminoácidos de ocorrência natural.

[732] Em modalidades exemplificativas, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo. Em modalidades exemplificativas, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um ou mais epítopos de peptídeo.

[733] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionadas do grupo que consiste naquelas definidas na cláusula (1) do primeiro aspecto.

[734] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em um ou mais epítopos de LMP2 de

EBV. Em várias modalidades, o um ou mais epítopos de LMP2 de EBV são epítopos de MHCI. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um ou mais epítopos de EBV LMP2 selecionados do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs 84 a 109. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou consiste em 12 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou consiste em 15 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83, ou que compreende ou consiste em 20 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83.

[735] Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo recombinante que compreende ou que consiste em 12 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83. Em várias modalidades, o peptídeo recombinante compreende ou consiste em 15 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83, ou compreende ou consiste em 20 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nºs 9 a 83.

[736] Em uma modalidade exemplificativa, o epítopo de peptídeo é derivado de NY-ESO-1. Em uma modalidade especificamente contemplada, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em, ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129.

[737] Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em um ou mais epítopos de NY-ESO-1.

Em várias modalidades, o um ou mais epítopos de NY-ESO-1 são epítopos de MHCI. Em várias modalidades, o peptídeo compreende, consiste essencialmente em, ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 8 ou mais resíduos de aminoácido contíguos de qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou que consiste em 12 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129. Em várias modalidades, o peptídeo compreende um peptídeo que compreende ou que consiste em 15 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129 ou que compreende ou que consiste em 20 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma dentre SEQ ID Nº: 114, 115, 116, 121, 122, 127, 128 e 129.

[738] Em uma modalidade especificamente contemplada, os grupos funcionais reativos dos aminoácidos do parceiro de conjugação contendo peptídeo são desprotegidos.

[739] Em certas modalidades, um ou mais grupos funcionais reativos de um ou mais aminoácidos do conjugado de peptídeo são desprotegidos.

[740] Em certas modalidades, um ou mais grupos funcionais reativos do aminoácido do conjugado de aminoácido são desprotegidos.

[741] Em certas modalidades, um ou mais grupos funcionais reativos de um ou mais aminoácidos do parceiro de conjugação que compreende aminoácido são desprotegidos.

[742] Em certas modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um peptídeo, em que os grupos funcionais reativos das cadeias laterais dos aminoácidos do peptídeo

são desprotegidos, com a exceção de quaisquer tióis diferentes do tiol a ser reagido.

[743] Em certas modalidades especificamente contempladas, os grupos funcionais reativos dos aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo são desprotegidos.

[744] Em certas modalidades especificamente contempladas, os grupos funcionais reativos dos aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo são desprotegidos, com a exceção de quaisquer tióis diferentes do tiol a ser reagido.

[745] Aqueles que são versados na técnica perceberão que o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou do parceiro de conjugação contendo peptídeo pode, conforme descrito no presente documento, ser opcionalmente substituído, modificado ou ligado a várias outras porções químicas conforme descrito no presente documento para fornecer o conjugado de peptídeo e/ou o parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[746] Em algumas modalidades, o método compreende

[747] sintetizar a sequência de aminoácidos de um peptídeo pela síntese de peptídeo de fase sólida (SPPS);

[748] acoplar o aminoácido de um conjugado de aminoácido ou um aminoácido de um conjugado de peptídeo ao peptídeo ligado de fase sólida por SPPS de modo a fornecer um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo, um conjugado de peptídeo que compreende um grupo ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo ou um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo ligado ao aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas por meio de um grupo ligante.

[749] Em algumas modalidades, o método compreende

[750] reagir os parceiros de conjugação contendo lipídio e um parceiro de conjugação que compreende aminoácido para fornecer um aminoácido ou conjugado de peptídeo;

[751] sintetizar a sequência de aminoácidos de um peptídeo pela síntese de peptídeo de fase sólida (SPPS);

[752] acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo ao peptídeo ligado de fase sólida por SPPS de modo a fornecer um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo, um conjugado de peptídeo que compreende um grupo ligante ou um ou mais aminoácidos do mesmo ou um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo ligado ao aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas por meio de um grupo ligante.

[753] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acilar o grupo Nα-amino do aminoácido do conjugado de aminoácido ou do aminoácido ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas de qualquer um dos conjugados de peptídeo.

[754] Em algumas modalidades, o método compreende clivar o conjugado de peptídeo do suporte de fase sólida.

[755] Em algumas modalidades, o método compreende

[756] sintetizar a sequência de aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo pela síntese de peptídeo de fase sólida (SPPS); e

[757] reagir os parceiros de conjugação contendo lipídio e o parceiro de conjugação contendo peptídeo em conformidade com qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[758] Em modalidades exemplificativas, o método compreende

[759] sintetizar a sequência de aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo por SPPS,

[760] clivar o peptídeo do suporte de fase sólida; e

[761] reagir os parceiros de conjugação contendo lipídio e o parceiro de conjugação contendo peptídeo em conformidade com qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[762] Em uma modalidade, o parceiro de conjugação contendo peptídeo não é purificado antes da reação com os parceiros de conjugação contendo lipídio.

[763] Em algumas modalidades, um ou mais grupos protetores são removidos na clivagem do peptídeo do suporte de fase sólida. Em certas modalidades, todos os grupos protetores presentes no peptídeo são removidos.

[764] Em uma modalidade, a SPPS é Fmoc-SPPS.

[765] Em algumas modalidades, o resíduo de aminoácido no peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo que possui o tiol a ser reagido é um resíduo de aminoácido N-terminal, e o método compreende acilar o grupo amino N-terminal antes da clivagem do peptídeo da fase sólida. Em modalidades especificamente contempladas, o resíduo N-terminal é um resíduo de cisteína.

[766] Em uma modalidade, o método compreende adicionalmente separar o conjugado de peptídeo do meio de reação e purificar opcionalmente o conjugado de peptídeo.

[767] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para produzir o conjugado de peptídeo, em que o método compreende

[768] fornecer um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto ou um sal ou solvato do mesmo, e

[769] acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo da fórmula (I) da invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou sal ou solvato do mesmo.

[770] Em várias modalidades, o conjugado de peptídeo de produto é um composto da fórmula (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável do

mesmo da presente invenção.

[771] Em várias modalidades, o aminoácido do conjugado de aminoácido é acoplado sob condições que reduzem e epimerização no carbono α do aminoácido. Em várias modalidades, as condições são tais que menos que cerca de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 3, 2 ou 1% em mol do aminoácido sejam epimerizados. Em várias modalidades, as condições que reduzem a epimerização compreendem o uso de PyBOP ou BOP como o reagente de acoplamento. Em várias modalidades, as condições que reduzem a epimerização compreendem o uso de PyBOP como o reagente de acoplamento. Em várias modalidades, as condições compreendem o uso de PyBOP ou BOP; e 2,4,6-trimetilpiridina. Em várias modalidades, as condições compreendem o uso de PyBOP e 2,4,6-trimetilpiridina.

[772] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente no uso de um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I) da presente invenção (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto) ou um sal ou solvato do mesmo na síntese de um conjugado de peptídeo imunogênico.

[773] Em várias modalidades, o conjugado de peptídeo imunogênico é um composto da fórmula (I) da presente invenção ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[774] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um conjugado de peptídeo da presente invenção produzido por um método da presente invenção.

[775] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em uma composição que compreende um conjugado de peptídeo de fórmula (I) da presente invenção ou um sal ou solvato do mesmo.

[776] Em várias modalidades, a composição compreende um composto isolado, puro, purificado ou substancialmente purificado de fórmula (I) da presente invenção ou um sal ou solvato do mesmo.

[777] Em várias modalidades, a composição compreende pelo menos cerca de 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 98 ou 99% em peso do composto de fórmula (I) da presente invenção ou um sal ou solvato do mesmo.

[778] Em várias modalidades, a composição é isenta ou substancialmente isenta de compostos contendo aminoácido ou peptídeo diferentes dos compostos de fórmula (I) da presente invenção.

[779] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade eficaz de um composto conjugado de peptídeo da fórmula (I) da presente invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo e um carreador farmaceuticamente aceitável.

[780] Em várias modalidades, a composição farmacêutica compreende uma quantidade eficaz de dois ou mais compostos conjugados de peptídeo da fórmula (I) da presente invenção.

[781] Em uma modalidade, a composição farmacêutica é uma composição imunogênica.

[782] Em uma modalidade, a composição farmacêutica não inclui um adjuvante extrínseco.

[783] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica é uma vacina.

[784] Em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende uma quantidade eficaz de dois ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção, por exemplo, a composição farmacêutica compreende uma quantidade eficaz de três ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção.

[785] Em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende uma quantidade eficaz de um ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção juntamente com um ou mais peptídeos descritos no presente documento ou qualquer combinação dos

mesmos. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende uma quantidade eficaz de dois ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção e um ou mais peptídeos descritos no presente documento ou uma quantidade eficaz de um ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção e dois ou mais peptídeos descritos no presente documento.

[786] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um método para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um ou mais compostos conjugados de peptídeo da fórmula (I) da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica da presente invenção.

[787] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente no uso de um ou mais compostos conjugados de peptídeo de fórmula (I) da presente invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica da presente invenção na fabricação de um medicamento para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

[788] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente em um ou mais compostos conjugados de peptídeo da fórmula (I) da presente invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica da presente invenção para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

[789] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente no uso de um ou mais compostos conjugados de peptídeo da fórmula (I) da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica da presente invenção para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

[790] Em outro aspecto, a presente invenção consiste amplamente

em um método para ativar TLR2 em um indivíduo, sendo que o método compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um ou mais conjugado de peptídeo da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica da invenção.

[791] Uso de um ou mais compostos conjugados de peptídeo da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou de uma composição farmacêutica da invenção na fabricação de um medicamento para ativar TLR2 em um indivíduo.

[792] Um ou mais compostos conjugados de peptídeo da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica da invenção para ativar TLR2 em um indivíduo.

[793] Em várias modalidades, o método, o uso, um ou mais compostos ou a composição farmacêutica é para suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

[794] Em várias modalidades, o método, o uso, um ou mais compostos ou a composição farmacêutica é para vacinar um indivíduo.

[795] Em algumas modalidades, o método compreende a administração de um ou mais peptídeos descritos no presente documento e um ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção ou dois ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção, por exemplo, um ou mais peptídeos em combinação com um ou mais conjugados de peptídeo ao indivíduo.

[796] Em algumas modalidades, um ou mais peptídeos descritos no presente documento e um ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção ou dois ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção, por exemplo, um ou mais peptídeos em combinação com um ou mais conjugados de peptídeo são usados para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica no indivíduo ou na fabricação de um

medicamento para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica no indivíduo.

[797] Em algumas modalidades, dois ou mais conjugados de peptídeo são usados ou administrados.

[798] Em algumas modalidades, os dois ou mais conjugados de peptídeo ou um ou mais peptídeos e um ou mais conjugados de peptídeo são usados ou administrados simultânea, sequencial ou separadamente.

[799] Em algumas modalidades, o indivíduo precisa disso.

[800] Centros assimétricos podem existir nos compostos descritos no presente documento. Os centros assimétricos podem ser projetados como (*R*) ou (*S*), dependendo da configuração de substituintes em espaço tridimensional no átomo de carbono quiral. Todas as formas isoméricas estereoquímicas dos compostos, incluindo as formas diastereoméricas, enantioméricas e epiméricas, assim como d-isômeros e l-isômeros e misturas dos mesmos, incluindo misturas enantiomericamente enriquecidas e diastereomericamente enriquecidas de isômeros estereoquímicos, são abrangidas pelo escopo da invenção.

[801] Enantiômeros individuais podem ser preparados sinteticamente a partir de materiais de partida enantiopuros comercialmente disponíveis ou preparando-se misturas enantioméricas e separando a mistura em enantiômeros individuais. Os métodos de resolução incluem a conversão da mistura enantiomérica em uma mistura de diastereômeros e a separação dos diastereômeros, por exemplo, por recristalização ou cromatografia, e quaisquer outros métodos apropriados conhecidos na técnica. Os materiais de partida de estereoquímica definida podem estar comercialmente disponíveis ou ser produzidos e, se necessário, separados por conjuntos de procedimentos bem conhecidos na técnica.

[802] Os compostos descritos no presente documento podem também existir como isômeros geométricos ou conformacionais, incluindo isômeros *cis*, *trans*, *syn*, *anti*, entgegen (*E*) e zusammen (*Z*). Todos tais isômeros e quaisquer misturas dos mesmos são abrangidos pelo escopo da invenção.

[803] São também abrangidos pelo escopo da invenção quaisquer isômeros tautoméricos ou misturas dos mesmos dos compostos descritos. Conforme seria entendido por aqueles que são versados na técnica, uma ampla variedade de grupos funcionais e outras estruturas pode exibir tautomerismo. Os exemplos incluem, porém, sem limitação, tautomerismo de ceto/enol, imina/enamina e tiocetona/enetiol.

[804] Os compostos descritos no presente documento podem também existir como isotopólogos e isotopômeros, em que um ou mais átomos nos compostos são substituídos por diferentes isótopos. Os isótopos adequados incluem, por exemplo, ^{1}H, ^{2}H (D), ^{3}H (T), ^{12}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{16}O e ^{18}O. Os procedimentos para incorporar tais isótopos nos compostos descritos no presente documento serão evidentes aos versados na técnica. Os isotopólogos e isotopômeros dos compostos descritos no presente documento são também abrangidos pelo escopo da invenção.

[805] Estão também dentro do escopo da invenção sais dos compostos descritos no presente documento, incluindo sais farmaceuticamente aceitáveis. Tais sais incluem sais de adição de ácido, sais de adição de base e sais quaternários de grupos que contêm nitrogênio básico.

[806] Os sais de adição de ácido podem ser preparados reagindo-se compostos, em forma de base livre, com ácidos inorgânicos ou orgânicos. Os exemplos de ácidos inorgânicos incluem, porém, sem limitação, ácido clorídrico, bromídrico, nítrico, sulfúrico e fosfórico. Os exemplos de ácidos orgânicos incluem, porém, sem limitação, acético,

trifluoroacético, propiônico, succínico, glicólico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutâmico, esteárico, salicílico, metanossulfônico, benzenossulfônico, isetiônico, sulfanílico, adípico, butírico e piválico.

[807] Os sais de adição de base podem ser preparados reagindo-se compostos, em forma de ácido livre, com bases inorgânicas ou orgânicas. Os exemplos de sais de adição de base inorgânica incluem sais de metal alcalino, sais de metal alcalino-terroso e outros sais de metal fisiologicamente aceitáveis, por exemplo, sais de alumínio, cálcio, lítio, magnésio, potássio, sódio ou zinco. Os exemplos de sais de adição de base orgânica incluem sais de amina, por exemplo, sais de trimetilamina, dietilamina, etanolamina, dietanolamina e etilenodiamina.

[808] Os sais quaternários de grupos que contêm nitrogênio básico nos compostos podem ser preparados, por exemplo, reagindo-se os compostos com haletos de alquila tais como cloretos de metila, etila, propila e butila, brometos e iodetos, sulfatos de dialquila tais como sulfatos de dimetila, dietila, dibutila e diamila e similares.

[809] Os compostos descritos no presente documento podem formar ou existir como solvatos com vários solventes. Se o solvente for água, o solvato pode ser denominado um hidrato, por exemplo, um mono-hidrato, um di-hidrato ou um tri-hidrato. Todas as formas solvatadas e formas não solvatadas dos compostos descritos no presente documento estão dentro do escopo da invenção.

[810] Os termos gerais usados nas fórmulas no presente documento têm seu significado usual.

[811] O termo "alifático" se destina a incluir hidrocarbonetos saturados e insaturados, não aromáticos, de cadeia reta, ramificados, acíclicos e cíclicos. Aqueles que são versados na técnica perceberão que os grupos alifáticos incluem grupos, por exemplo, alquila, alquenila, alquinila, cicloalquila e cicloalquenila, e híbridos dos mesmos, tais como

grupos (cicloalquil)alquila, (cicloalquenil)alquila e (cicloalquil)alquenila. Em várias modalidades, os grupos alifáticos compreendem de 1 a 12, 1 a 8, 1 a 6 ou 1 a 4 átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos alifáticos compreendem 5 a 21, de 9 a 21 ou de 11 a 21 átomos de carbono, tal como de 11, 13, 15, 17 ou 19 átomos de carbono. Em algumas modalidades, o grupo alifático é saturado.

[812] O termo "heteroalifático" se destina a incluir grupos alifáticos, em que um ou mais átomos de carbono na cadeia e/ou anel são, independentemente, substituídos por um heteroátomo, de preferência, um heteroátomo selecionado dentre oxigênio, nitrogênio e enxofre. Em algumas modalidades, o heteroalifático é saturado. Os exemplos de grupos heteroalifáticos incluem grupos heteroalquila, heteroalquenila e heteroalquinila lineares ou ramificados.

[813] O termo "alquila" destina-se a incluir grupos hidrocarboneto de cadeia reta e cadeia ramificada saturados. Em algumas modalidades, os grupos alquila têm de 1 a 12, 1 a 10, 1 a 8, 1 a 6 ou de 1 a 4 átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos alquila têm de 5 a 21, de 9 a 21 ou de 11 a 21 átomos de carbono, tal como de 11, 13, 15, 17 ou 19 átomos de carbono. Os exemplos de grupos alquila de cadeia reta incluem, porém sem limitação, metila, etila, n-propila, n-butila, n-pentila, n-hexila, n-heptila e n-octila. Os exemplos de grupos alquila ramificados incluem, porém sem limitação, isopropila, iso-butila, sec-butila, terc-butila, neopentila, isopentila e 2,2-dimetilpropila.

[814] O termo "alquenila" destina-se a incluir grupos alquila de cadeia reta ou ramificada que têm pelo menos uma ligação dupla entre dois átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos alquenila têm de 2 a 12, de 2 a 10, de 2 a 8, de 2 a 6 ou de 2 a 4 átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos alquenila têm de 5 a 21, de 9 a 21 ou de 11 a 21 átomos de carbono, tal como de 11, 13, 15, 17 ou 19 átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos

alquenila têm uma, duas ou três ligações duplas de carbono-carbono. Os exemplos de grupos alquenila incluem, porém sem limitação, vinila, alila, –CH=CH(CH_3), –CH=C(CH_3)$_2$, –C(CH_3)=CH_2 e –C(CH_3)=CH(CH_3).

[815] O termo "alquinila" destina-se a incluir grupos alquila de cadeia reta ou ramificada que têm pelo menos uma ligação tripla entre dois átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos alquinila têm de 2 a 12, de 2 a 10, de 2 a 8, de 2 a 6 ou de 2 a 4 átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos alquinila têm uma, duas ou três ligações triplas de carbono-carbono. Os exemplos incluem, porém sem limitação, –C≡CH, –C≡CH_3, –CH_2C≡CH_3 e –C≡CH_2CH(CH_2CH_3)$_2$.

[816] O termo "heteroalquila" destina-se a incluir grupos alquila, em que um ou mais átomos de carbono de cadeia são substituídos por um heteroátomo, de preferência, um heteroátomo selecionado a partir do grupo que consiste em oxigênio, nitrogênio e enxofre. Em algumas modalidades, a heteroalquila é saturada. Os grupos heteroalquila incluem, por exemplo, grupos polietilenoglicol e grupos éter de polietilenoglicol e similares.

[817] O termo "cicloalquila" destina-se a incluir grupos alquila mono, bi ou tricíclicos. Em algumas modalidades, os grupos cicloalquila têm de 3 a 12, de 3 a 10, de 3 a 8, de 3 a 6, de 3 a 5 átomos de carbono no anel (ou anéis). Em algumas modalidades, os grupos cicloalquila têm 5 ou 6 átomos de carbono de anel. Os exemplos de grupos cicloalquila monocíclicos incluem, porém sem limitação, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila, ciclo-heptila e ciclo-octila. Em algumas modalidades, o grupo cicloalquila tem de 3 a 8, de 3 a 7, de 3 a 6, de 4 a 6, de 3 a 5 ou de 4 a 5 átomos de carbono de anel. Os sistemas de anéis bi e tricíclicos incluem sistemas de anéis cicloalquila ligados em ponte, espiro e fundidos. Os exemplos de sistemas cicloalquila de anel bi e tricíclico incluem, porém sem limitação, biciclo[2.1.1]hexanila, biciclo[2.2.1]heptanila, adamantila e decalinila.

[818] O termo "cicloalquenila" destina-se a incluir grupos cicloalquila não aromático que têm pelo menos uma ligação dupla entre dois átomos de carbono. Em algumas modalidades, os grupos cicloalquenila têm uma, duas ou três ligações duplas. Em algumas modalidades, os grupos cicloalquenila têm de 4 a 14, de 5 a 14, de 5 a 10, de 5 a 8, de 5 a 6 átomos de carbono no anel (ou anéis). Em algumas modalidades, os grupos cicloalquenila têm 5, 6, 7 ou 8 átomos de carbono de anel. Os exemplos de grupos cicloalquenila incluem ciclo-hexenila, ciclopentenila, ciclo-hexadienila, butadienila, pentadienila e hexadienila.

[819] O termo "arila" destina-se a incluir grupos hidrocarboneto aromáticos cíclicos que não contêm quaisquer heteroátomos de anel. Os grupos arila incluem sistemas de anel monocíclicos, bicíclicos e tricíclicos. Os exemplos de grupos arila incluem, porém sem limitação, fenila, azulenila, heptalenila, bifenila, fluorenila, fenantrenila, antracenila, indenila, indanila, pentalenila e naftila. Em algumas modalidades, os grupos arila têm de 6 a 14, de 6 a 12 ou de 6 a 10 átomos de carbono no anel (ou anéis). Em algumas modalidades, os grupos arila são fenila ou naftila. Os grupos arila incluem sistema de anéis fundidos aromáticos-alifáticos. Os exemplos incluem, porém sem limitação, indanila e tetra-hidronaftila.

[820] O termo "heterociclila" destina-se a incluir sistemas de anéis não aromáticos contendo 3 ou mais átomos de anel, dos quais um ou mais são heteroátomos. Em algumas modalidades, o heteroátomo é nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em algumas modalidades, o grupo heterociclila contém um, dois, três ou quatro heteroátomos. Em algumas modalidades, os grupos heterociclila incluem anéis mono, bi e tricíclicos que têm de 3 a 16, de 3 a 14, de 3 a 12, de 3 a 10, de 3 a 8 ou de 3 a 6 átomos de anel. Os grupos heterociclila incluem sistemas de anéis parcialmente insaturados e saturados, por exemplo, imidazolinila e

imidazolidinila. Os grupos heterociclila incluem sistemas de anéis fundidos e ligados em ponte contendo um heteroátomo, por exemplo, quinuclidila. Os grupos heterociclila incluem, porém sem limitação, aziridinila, azetidinila, azepanila, diazepanila, 1,3-dioxanila, 1,3-dioxolanila, isoxazolidinila, morfolinila, piperazinila, piperidinila, piranila, pirazolidinila, pirrolinila, pirrolidinila, tetra-hidrofuranila, tetra-hidrotienila, tiadiazolidinila e tritianila.

[821] O termo "heteroarila" destina-se a incluir sistemas de anéis aromáticos contendo 5 ou mais átomos de anel, dos quais um ou mais são heteroátomos. Em algumas modalidades, o heteroátomo é nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em algumas modalidades, os grupos heteroarila incluem sistemas de anéis mono, bi e tricíclicos que têm de 5 a 16, de 5 a 14, de 5 a 12, de 5 a 10, de 5 a 8 ou de 5 a 6 átomos de anel. Os grupos heteroarila incluem, porém sem limitação, pirrolila, pirazolila, triazolila, tetrazolila, oxazolila, isoxazolila, tiazolila, piridinila, piridazinila, pirimidinila, pirazinila, tiofenila, benzotiofenila, furanila, benzofuranila, indolila, azaindolila (pirrolopiridinila), indazolila, benzimidazolila, pirazolopiridinila, triazolopiridinila, benzotriazolila, benzoxazolila, benzotiazolila, imidazopiridinila, isoxazolopiridinilxantinila, guaninila, quinolinila, isoquinolinila, tetra-hidroquinolinila, quinoxalinila e quinazolinila. Os grupos heteroarila incluem sistema de anéis fundidos em que todos os anéis são aromáticos, por exemplo, indolila, e sistema de anéis fundidos em que apenas um dos anéis é aromático, por exemplo, 2,3-di-hidroindolila.

[822] O termo "halo" ou "halogênio" destina-se a incluir F, Cl, Br e I.

[823] O termo "heteroátomo" se destina a incluir oxigênio, nitrogênio, enxofre ou fósforo. Em algumas modalidades, o heteroátomo é selecionado a partir do grupo que consiste em oxigênio, nitrogênio e enxofre.

[824] Conforme usado no presente documento, o termo "substituído" se destina a significar que um ou mais átomos de hidrogênio no grupo indicado são substituídos por um ou mais substituintes, independentemente, selecionados, desde que a valência normal de cada átomo ao qual os substituintes estão ligados não seja excedida e que a substituição resulte em um composto estável. Em várias modalidades, os substituintes opcionais nos compostos descritos no presente documento incluem, porém sem limitação, halo, CN, NO_2, OH, NH_2, NHR10, NR10R20, C1-6 haloalquila, C1-6 haloalcóxi, $C(O)NH_2$, C(O)NHR10, C(O)NR10R20, SO_2R10, OR10, SR10, S(O)R10, C(O)R10 e C1-6 alifático; em que R10 e R20 são, cada um, independentemente, C1-6 alifático, por exemplo, C1-6 alquila.

[825] O termo "grupo protetor carboxila" como usado no presente documento significa um grupo que tem a capacidade de ser prontamente removido para fornecer o grupo OH de um grupo carboxila e protege o grupo carboxila contra reação indesejável durante procedimentos sintéticos. Tais grupos protetores são descritos em Protective Groups in Organic Synthesis editado por T. W. Greene et al. (John Wiley & Sons, 1999) and 'Amino Acid-Protecting Groups' por Fernando Albericio (com Albert Isidro-Llobet e Mercedes Alvarez) Chemical Reviews 2009 (109) 2455 a 2504. Os exemplos incluem, porém, sem limitação, grupos alquila e silila, por exemplo, metila, etila, *terc*-butila, metoximetila, 2,2,2-tricloroetila, benzila, difenilmetila, trimetilsilila e *terc*-butildimetilsilila e similares.

[826] O termo "grupo protetor amina" como usado no presente documento significa um grupo que tem a capacidade de ser prontamente removido para fornecer o grupo NH2 de um grupo amina e protege o grupo amina contra reação indesejável durante procedimentos sintéticos. Tais grupos protetores são descritos em Protective Groups in Organic Synthesis editado por T. W. Greene et al.

(John Wiley & Sons, 1999) and 'Amino Acid-Protecting Groups' por Fernando Albericio (com Albert Isidro-Llobet e Mercedes Alvarez) Chemical Reviews 2009 (109) 2455 a 2504. Os exemplos incluem, porém, sem limitação, grupos acila e aciloxi, por exemplo, acetila, cloroacetila, tricloroacetila, o-nitrofenilacetila, o-nitrofenóxi-acetila, trifluoroacetila, acetoacetila, 4-clorobutirila, isobutirila, picolinoíla, aminocaproíla, benzoíla, metóxi-carbonila, 9-fluorenilmetoxicarbonila, 2,2,2-trifluoroetoxicarbonila, 2-trimetilsililetóxi-carbonila, *terc*-butiloxicarbonila, benziloxicarbonila, p-nitrobenziloxicarbonila, 2,4-dicloro-benziloxicarbonila e similares. Os exemplos adicionais incluem Cbz (carboxibenzila), Nosila (o- ou p-nitrofenilsulfonila), Bpoc (2-(4-bifenil)isopropoxicarbonila) e Dde (1-(4,4-dimetil-2,6-dioxo-hexilideno)etila).

[827] O termo "grupo protetor carboxamida", como usado no presente documento, significa um grupo que tem a capacidade de ser prontamente removido para fornecer o grupo NH2 de um grupo carboxamida e protege o grupo carboxamida contra reação indesejável durante procedimentos sintéticos. Tais grupos protetores são descritos em Protective Groups in Organic Synthesis editado por T. W. Greene et al. (John Wiley & Sons, 1999) and ‘Amino Acid-Protecting Groups’ por Fernando Albericio (com Albert Isidro-Llobet e Mercedes Alvarez) Chemical Reviews 2009 (109) 2455 a 2504. Os exemplos incluem, porém sem limitação, 9-xantenila (Xan), tritila (Trt), metiltritila (Mtt), ciclopropildimetilcarbinila (Cpd) e dimetilciclopropilmetila (Dmcp).

[828] Conforme usado no presente documento, o termo "e/ou" significa "e" ou "ou" ou ambos.

[829] O termo "(s)" seguindo um substantivo contempla a forma singular ou plural ou ambas.

[830] O termo "que compreende" como usado neste relatório descritivo, incluindo as reivindicações, significa "que consiste, pelo

menos em parte, de". Ao interpretar cada declaração neste relatório descritivo, incluindo as reivindicações, que inclui o termo "que compreende", recursos diferentes daqueles prefaciados pelo termo também podem estar presentes. Os termos relacionados, tal como "compreende" e "compreendem", devem ser interpretados da mesma maneira. O termo "contendo" também deve ser interpretado da mesma maneira.

[831] Pode também ser dito amplamente que a invenção consiste nas partes, elementos e recursos referidos ou indicados no relatório descritivo do pedido, individual ou coletivamente, em quaisquer ou todas as combinações de duas ou mais das ditas partes, elementos ou recursos e em que números inteiros específicos são mencionados no presente documento que têm equivalentes conhecidos na técnica aos quais a invenção se refere, tais equivalentes conhecidos são considerados como sendo incorporados no presente documento como se individualmente estabelecidos.

[832] Pretende-se que a referência a uma faixa de números revelada no presente documento (por exemplo, 1 a 10) também incorpore a referência a todos os números racionais dentro dessa faixa (por exemplo, 1, 1,1, 2, 3, 3,9, 4, 5, 6, 6,5, 7, 8, 9 e 10) e também qualquer faixa de números racionais dentro dessa faixa (por exemplo, 2 a 8, 1,5 a 5,5 e 3,1 a 4,7) e, portanto, todas as subfaixas expressamente reveladas no presente documento são expressamente reveladas por meio deste. Esses são apenas exemplos do que se pretende especificamente, e todas as combinações possíveis de valores numéricos entre o menor valor e o maior valor enumerados devem ser consideradas como sendo expressamente declaradas neste pedido de uma maneira similar.

[833] Embora a presente invenção seja amplamente conforme definido acima, as pessoas versadas na técnica entenderão que a

invenção não é limitada ao mesmo e que a invenção também inclui modalidades das quais a seguinte descrição dá exemplos.

Breve Descrição das Figuras

[834] A invenção será descrita em referência às Figuras em anexo, nas quais:

[835] A Figura 1 é um gráfico que mostra os resultados de um ensaio de agonismo de TLR representativo em células HEK-Blue™-hTLR2 com o uso de concentrações tituladas de construtos de agonista: **910** (barras brancas pontilhadas); **930** (barras cinza); **931** (barras listradas); **932** (barras tracejadas quadradas); e (**R)-Pam2Cys-SK$_4$-SLLMWITQV** (barras pretas). Os dados apresentados como valores de ABS médios +/- SD (635nm) para poços triplicados após subtração de fundo. Linhas pontilhadas indicam ABS em poços somente PBS.

[836] A Figura 2A é um gráfico de barras que mostra os resultados de um ensaio de agonismo de TLR2 humano em células HEK-Blue™-hTLR2 com o uso de concentrações tituladas dos seguintes construtos de agonista: A) (da esquerda para a direita): **45a, 45b, 46a, 46b, 47b, 910, 911, 912** e **913** (estruturas representadas na Tabela 3); B) (da esquerda para a direita): **45b**, **910** e estruturas alongadas em cadeia **930**, **931** e **932** (estruturas representadas na Tabela 4)

[837] A Figura 3 é um gráfico de barras que mostra os resultados de um ensaio de agonismo de TLR2 murino com o uso de concentrações tituladas dos seguintes construtos de agonista: A) (da esquerda para a direita): **45a, 45b, 46a, 46b, 47b, 910, 911, 912** e **913** (estruturas representadas na Tabela 3); B) (da esquerda para a direita): **45b**, **910** e estruturas alongadas em cadeia **930**, **931** e **932** (estruturas representadas na Tabela 4)

Descrição Detalhada da Invenção

[838] A presente invenção fornece compostos conjugados de peptídeo da fórmula (I) como definidos no presente documento no

primeiro aspecto. Os inventores constataram vantajosamente que tais conjugados têm atividade imunogênica surpreendente.

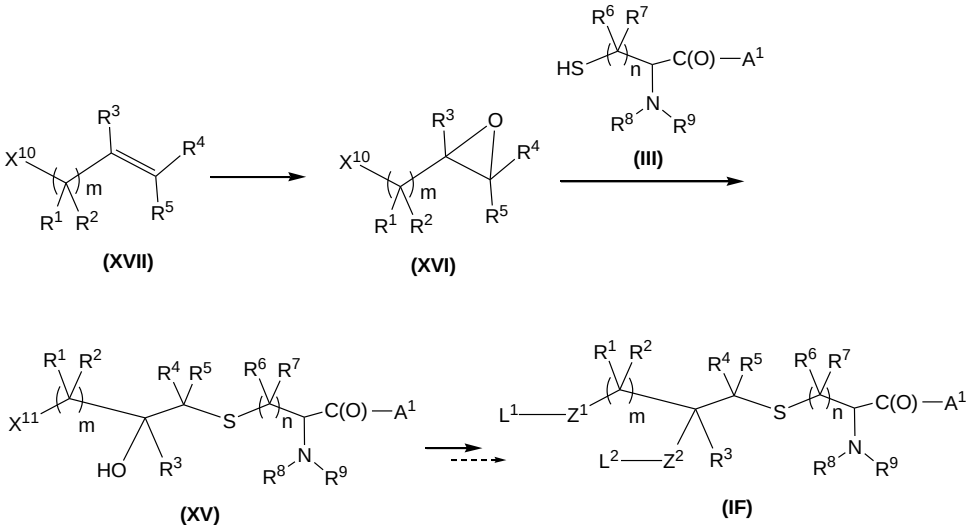
[839] Os compostos conjugados de peptídeo de fórmula (I) podem ser preparados com o uso dos métodos e procedimentos descritos no presente documento.

[840] Os materiais de partida e/ou intermediários úteis nos métodos podem ser preparados com o uso de conjuntos de procedimentos de química sintética conhecidos (por exemplo, os métodos descritos, de modo geral, em Louis F Fieser e Mary F, *Reagents for Organic Synthesis* v. 1 a 19, Wiley, Nova York (1967 a 1999 ed.) ou *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. Ed. Springer-Verlag Berlin, incluindo suplementos (também disponíveis por meio do banco de dados on-line Beilstein)) ou, em algumas modalidades, podem estar comercialmente disponíveis.

[841] A preparação dos compostos pode envolver a proteção e desproteção de vários grupos químicos. A necessidade de proteção e desproteção e a seleção de grupos protetores apropriados podem ser prontamente determinadas por uma pessoa versada na técnica. Os grupos protetores e métodos para proteção e desproteção são bem conhecidos na técnica (consultar, por exemplo, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª Edição, Wiley & Sons, Inc., Nova York (1999)).

[842] Conforme mostrado no Esquema A1 e descrito abaixo, os compostos de fórmula (IF) que são compostos de fórmula (I) em que w é 1, v é 0, e m é de 2 a 6, de preferência, 2 ou 3 a 5, podem ser preparados por meio de um método da presente invenção que envolve a conjugação de um epóxido em um parceiro de conjugação que compreende aminoácido.

Esquema A1: Preparação de compostos de fórmula (IF) por meio de conjugação a um epóxido.



[843] O método compreende reagir um epóxido da fórmula (XVI) e um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende um tiol da fórmula (III) sob condições eficazes para fornecer o composto de fórmula (XV) por conjugação do tiol ao epóxido.

[844] Em uma modalidade do método, método (A), as variáveis m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 no composto de fórmula (XV) são como definidos no composto de fórmula (IF) da invenção (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e o método compreende adicionalmente converter o composto de fórmula (XV) no composto de fórmula (IF) da invenção por uma ou mais etapas sintéticas adicionais. Nessa modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode compreender um peptídeo que corresponde ao peptídeo presente no composto da fórmula (IF) da invenção produzido pelo método.

[845] Em outra modalidade do método, método (B), as variáveis m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 no composto de fórmula (XV) são como definidas no composto de fórmula (IB), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto; e o método compreende adicionalmente converter o composto de fórmula

(XV) em um composto de fórmula (IF), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto por uma ou mais etapas sintéticas adicionais; e acoplar o composto a um aminoácido ou peptídeo para fornecer o composto da fórmula (IF) da invenção (incluindo a cláusula (1) e/ou (2) do primeiro aspecto). Nessa modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode consistir em um aminoácido ou pode compreender um peptídeo que corresponde a uma porção do peptídeo presente no composto de fórmula (IF) da invenção produzido pelo método.

[846] Em algumas modalidades, o aminoácido que compreende o parceiro de conjugação reagido com o epóxido consiste em um aminoácido, por exemplo, uma cisteína protegida por Nα-amina e/ou protegida por terminação C. Em outras modalidades, o aminoácido que compreende o parceiro de conjugação compreende um peptídeo, por exemplo, um peptídeo curto. Em tais modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode compreender cerca de 15 resíduos de aminoácidos ou menos, por exemplo, 5, 4 ou 3 resíduos de aminoácidos.

[847] O grupo Nα-amino do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é, de preferência, protegido ou substituído de outro modo (isto é, não está na forma de um grupo amina $–NH_2$ livre) para impedir a reação durante a reação de conjugação. A terminação C do parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode ser também protegida.

[848] X10 no composto de fórmula (XVI) pode ser um grupo hidroxila, tiol, amina ou carbamato protegido (P10-O-, P11-S-, P12-NR- ou P12-NRC(O)O-, respectivamente) a partir do qual L1–Z1– e L2–Z2– podem ser subsequentemente formados. Quando X10 é um grupo protegido, o grupo protetor pode ser removido na reação de conjugação para fornecer um composto da fórmula (XV), em que X11 é o grupo

desprotegido correspondente. Por exemplo, quando X10 é um grupo P10-O-, a conjugação pode fornecer o grupo hidroxila correspondente como X11 no composto de fórmula (XV).

[849] O epóxido da fórmula (XVI) compreende um centro estereogênico no átomo de carbono ao qual R3 está ligado. Assim, um único estereoisômero do epóxido ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida do epóxido pode ser usado na reação para controlar a estereoquímica do átomo de carbono ao qual R3 está ligado no composto de fórmula (XV) e produtos subsequentes formados, incluindo o composto de fórmula (IF). Vários métodos para fornecer misturas enantiopuras ou enantioenriquecidas de epóxidos são conhecidos na técnica. Em várias modalidades, fornecer o único estereoisômero ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida do epóxido de fórmula (XVI) compreende separar uma mistura racêmica do epóxido. Por exemplo, separar uma mistura racêmica de epóxido por hidrólise cinética, conforme descrito por Jacobsen *et al*, *Science*, **1997**, 277, 936 a 938.

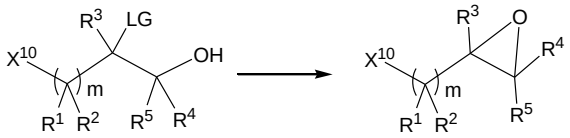
[850] O epóxido de fórmula (XVI) pode ser fornecido reagindo-se um alceno da fórmula (XVII) com um oxidante sob condições eficazes para epoxidar o alceno. Inúmeros métodos para epoxidar alcenos são conhecidos na técnica. Em certas modalidades, a epoxidação é executada reagindo-se o alceno com um peróxido ou um N-óxido orgânico como o oxidante. Os exemplos de peróxidos adequados incluem peróxidos orgânicos, por exemplo, ácido m-cloro peroxibenzoico. Os exemplos de N-óxidos incluem, por exemplo, N-óxido de piridina e similares. Outros oxidantes adequados serão videntes para aqueles versados na técnica. A reação pode ser executada em um meio de reação líquido que compreende um solvente adequado, por exemplo, diclorometano. Os alcenos da fórmula (XVII) podem estar comercialmente disponíveis ou ser preparados a partir de

precursores comercialmente disponíveis com o uso de conjuntos de procedimentos de química sintética padrão.

[851] As pessoas versadas na técnica reconhecerão que certos grupos X10 podem ser suscetíveis à oxidação na reação de epoxidação, por exemplo, quando X10 compreende um grupo amina (que pode formar um N-óxido) ou grupo tioéter (que pode formar, por exemplo, sulfóxidos ou sulfonas). Tais grupos podem ser protegidos durante a reação para impedir a oxidação ou reduzidos de volta ao grupo desejado em um ponto adequado na sequência sintética após a reação de epoxidação ter sido executada.

[852] Alternativamente, o epóxido de fórmula (XVI) pode ser preparado tratando-se um composto de fórmula (XVII-A), em que LG é um grupo de saída adequado, tal como um halogênio, com uma base em um solvente adequado para deslocar o grupo de saída conforme mostrado no esquema A2.

Esquema A2. Epoxidação por meio de deslocamento do grupo de saída.



[853] Os compostos da fórmula (XVII-A) podem estar comercialmente disponíveis ou podem ser preparados a partir de precursores comercialmente disponíveis. Vantajosamente, em algumas modalidades, o composto de fórmula (XVII-A) pode ser preparado a partir de um α-aminoácido enantiopuro. A reação de epoxidação prossegue estereoespecificamente com inversão de estereoquímica no carbono ao qual R3 está ligado.

[854] Por exemplo, conforme mostrado no esquema A2-1, o composto de fórmula (XVII-A1), que corresponde a um composto de fórmula (XVII-A), em que m é 2 e R1 e R2, e R3, R4, e R5 são hidrogênio, X10 é –OH, e LG é bromo, pode ser preparado a partir de

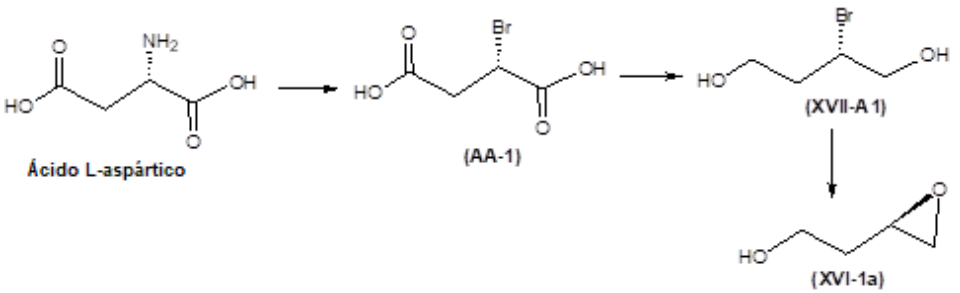
ácido L-aspártico (consultar Volkmann, R. A. et al. *J. Org. Chem.,* **1992**, *57*, 4.352 a 4.361).

[855] O ácido L-aspártico pode ser convertido em ácido bromossuccínico (AA-1), por exemplo, por tratamento com nitrito de sódio e um ácido forte, tal como ácido sulfúrico, para gerar ácido nitroso *in situ*, na presença de brometo de sódio a uma temperatura de -10 a 0°C. A reação prossegue estereoespecificamente com retenção geral de estereoquímica.

[856] A redução de ácido bromossuccínico (AA-1) em bromodiol (XVII-A1) pode ser executada com o uso de um redutor adequado, por exemplo, por tratamento com borano ou complexo de borano-sulfeto de dimetila em THF a -78°C, permitindo que a mistura de reação amorne até a temperatura ambiente. A epoxidação para fornecer o composto de fórmula (XVI-1a) pode ser executada reagindo-se bromodiol (XVII-A1) com uma base, por exemplo, carbonato de césio em diclorometano à temperatura ambiente. Conforme observado acima, a reação prossegue estereoespecificamente com inversão geral de estereoquímica.

[857] O enantiômero oposto de epóxido (XVI-1a) pode ser preparado a partir de ácido D-aspártico pelo mesmo procedimento.

Esquema A2-1. Preparação de epóxido enantiopuro a partir de ácido L-aspártico.



[858] Com referência novamente ao Esquema A1, o composto de fórmula (XV) pode ser subsequentemente convertido por uma ou mais etapas sintéticas no composto da fórmula (IF), como definido no método

(A) ou (B). Na uma ou mais etapas, o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado é convertido em um grupo L2–Z2–.

[859] Se X11 não for L1-Z1-, então, a uma ou mais etapas também compreendem converter X11 em L1-Z1-. Os grupos L1-Z1- e L2-Z2- podem ser introduzidos simultânea ou sequencialmente em qualquer ordem.

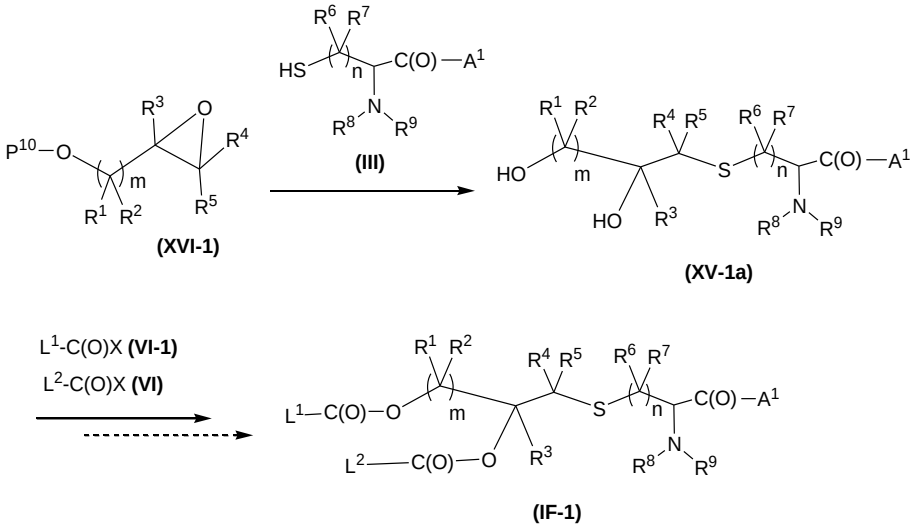
[860] Em certas modalidades, a uma ou mais etapas compreendem acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado por L2–C(O)–.

[861] Em modalidades exemplificativas, X10 é P10–O– ou OH; e X11 é P10–O– ou OH.

[862] Em várias modalidades, X11 é P10–O– ou OH; e a uma ou mais etapas sintéticas compreendem acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir P10 ou o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila de X11 por L1–C(O)–; e/ou o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado com L2–C(O)–.

[863] Em certas modalidades, como mostrado abaixo no Esquema A3 e descrito no presente documento, o método compreende reagir um epóxido de fórmula (XVI-1) que possui um grupo hidroxila protegido com um parceiro de conjugação que compreende aminoácido da fórmula (III) para fornecer um composto da fórmula (XV-1a).

Esquema A3: Preparação de conjugados bis-éster por meio de conjugação de epóxido.



[864] A reação de conjugação pode ser executada sob condições ácidas reagindo-se o epóxido e o tiol na presença de um ácido, por exemplo, ácido clorídrico, ácido sulfúrico ou uma mistura dos mesmos. A reação pode ser executada em um meio de reação líquido que compreende um solvente adequado, tal como diclorometano, a uma temperatura de cerca de -10 a cerca de 50°C, por exemplo, de 0 a 40°C.

[865] O grupo protetor hidroxila P10 é selecionado de modo que seja removível sob as condições eficazes para conjugação e é, portanto, removido durante a conjugação para fornecer o diol desejado de fórmula (XV-1a). Os grupos protetores adequados serão evidentes aos versados na técnica e podem incluir, por exemplo, grupos protetores silila lábeis a ácido.

[866] Alternativamente, a reação de conjugação pode ser executada com o uso de um epóxido da fórmula (XVI), em que X10 é um grupo hidroxila, tal como o epóxido de fórmula (XVI-1a).

[867] O diol da fórmula (XV-1a) pode ser convertido no composto de fórmula (IF-1) por reação com os compostos de fórmula (VI-1) e (VI), em que X é OH ou um grupo de saída adequado (por exemplo, um

haleto, tal como cloro ou bromo), sob condições eficazes para esterificação.

[868] As condições eficazes para esterificação dependem da natureza do composto de fórmula (IV) e/ou (VI-1). Por exemplo, quando X é OH, a reação pode ser executada na presença de uma base, tal como DMAP, e agente ativador, tal como N,N'-di-isopropilcarbodiimida (DIC) em um meio líquido que compreende um solvente adequado, tal como THF.

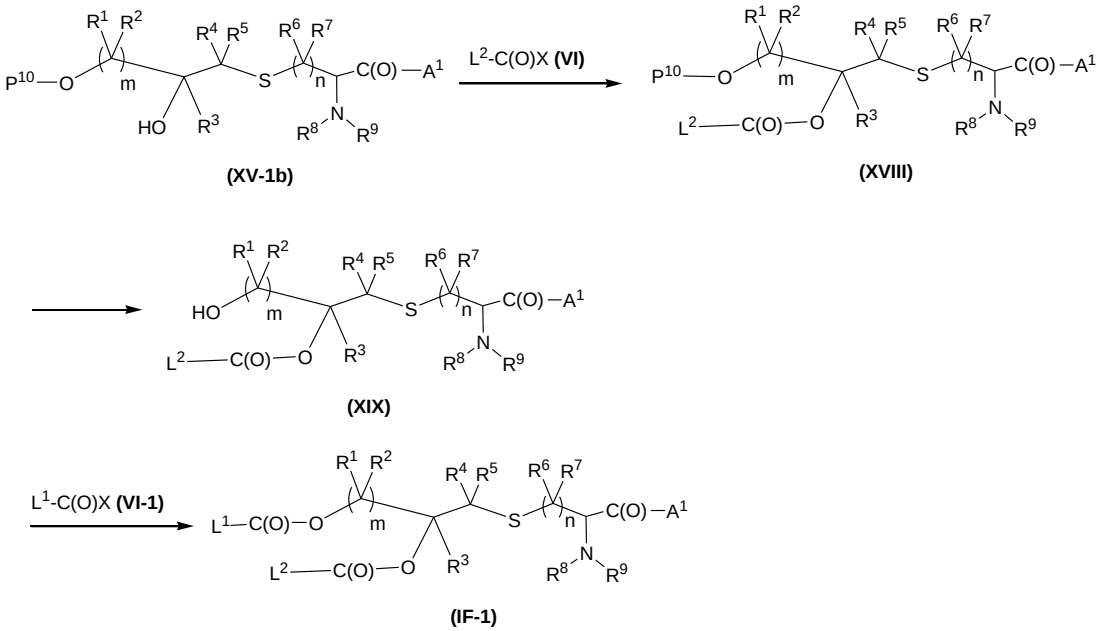
[869] Em várias modalidades, o composto de fórmula (VI) e (VI-1) são idênticos. Por exemplo, o composto de fórmula (VI) e (VI-1) podem ser, cada um, ácido palmítico. Em tais modalidades, a conversão do diol de fórmula (XV-1a) no composto de fórmula (IF-1) pode ser realizada em uma única etapa.

[870] Em certas modalidades, grupos L1 e L2 diferentes podem ser introduzidos reagindo-se o diol com uma quantidade estequiométrica de um composto de fórmula (VI-1) ou (VI) para esterificar o mais reativo dos dois álcoois e, então, reagindo-se o éster resultante com o outro composto de fórmula (VI) ou (VI-1) para esterificar o segundo álcool do diol.

[871] Em outras modalidades, o método compreende reagir um epóxido de fórmula (XVI-1) e um parceiro de conjugação que compreende aminoácido da fórmula (III) para fornecer um composto da fórmula (XV-1b), conforme mostrado no Esquema A4 abaixo. Em tais modalidades, o grupo protetor hidroxila P10 é estável e não é removido sob as condições de reação de conjugação.

[872] O álcool protegido da fórmula (XV-1b) forneceu pronto acesso a compostos de fórmula (IF-1) em que L1 e L2 são diferentes. Com o uso do composto de fórmula (XV-1b) para acessar tais compostos, em vez do diol de fórmula (XV-1a), pode ser mais conveniente em certas modalidades, por exemplo, quando há seletividade ruim entre os álcoois do diol de fórmula (XV-1a).

Esquema A4: Preparação de conjugados bis-éster por meio do composto de fórmula (XV-1b).



[873] O grupo β-sulfanil-hidroxila do composto de fórmula (XV-1b) pode ser acilado com um composto de fórmula (VI) sob condições eficazes para esterificação para fornecer éster protegido (XVIII), então, o grupo protetor P10 removido para fornecer o álcool de fórmula (XIX). As condições para remoção do grupo protetor dependem do grupo protetor usado. Por exemplo, HF diluído pode ser usado para remover os grupos protetores silila, tais como TBDMS, TBDPS e similares. O álcool de fórmula (XIX) pode, então, ser acilado com um composto de fórmula (VI-1) sob condições eficazes para esterificação para fornecer o composto desejado de fórmula (IF-1).

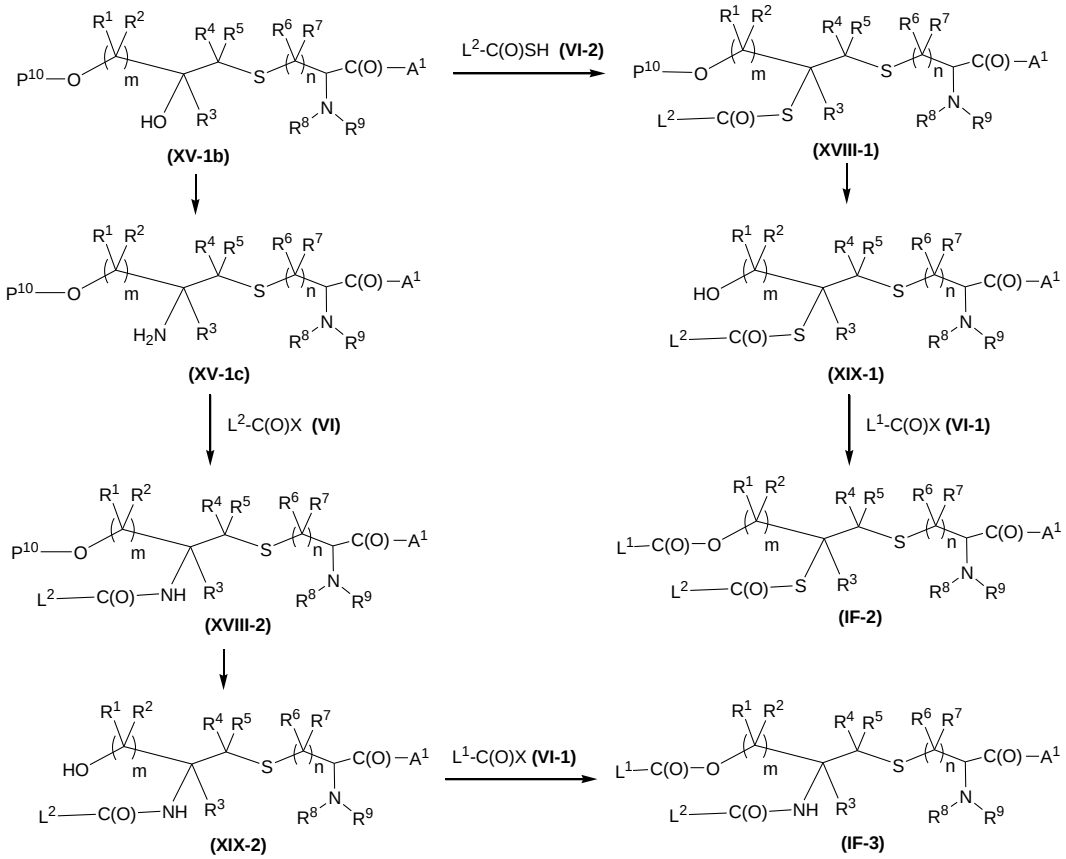
[874] Aqueles que são versados na técnica perceberão que os grupos hidroxila, por exemplo, aqueles nos compostos de fórmulas (XV-1a), (XV-1b) e (XIX), podem ser convertidos em vários outros grupos funcionais, tais como tióis e aminas, para fornecer compostos de acesso de fórmula (I) que possuem grupos L1-Z1- e L2-Z2- diferentes de ésteres.

[875] Por exemplo, os compostos de fórmula (XV-1b) podem ser usados para preparar análogos de tioéster e amida do composto de

fórmula (IF-1), conforme mostrado abaixo no Esquema A5. Para preparar o análogo de amida (IF-3), o grupo hidroxila no composto de fórmula (XV-1b) pode ser primeiramente convertido em uma azida e, então, reduzido à amina correspondente. A reação pode ser executada sob condições Mitsunobu modificadas (por exemplo, L. Rokhum et al, J. Chem. Sci, **2012**, 124, 687 a 691) com o uso de PPh_3, I_2, imidazol e NaN_3 para fornecer a azida e, então, PPh_3 para reduzir azida à amina. Alternativamente, a azida pode ser obtida convertendo-se primeiramente o grupo hidroxila em um grupo de saída adequado, por exemplo, um grupo tosila ou mesila e, então, tratando-se com NaN_3.

[876] A acilação da amina com um composto de fórmula (VI) fornece a amida de fórmula (XVIII-2). A reação de acilação pode ser executada reagindo-se um ácido carboxílico da fórmula (VI) na presença de uma base, por exemplo, DMAP, e um agente ativador, por exemplo, DIC, em um solvente adequado, tal como THF. A desproteção do grupo protetor P10 e esterificação do álcool resultante (XIX-2) fornece o composto da fórmula (IF-3).

Esquema A5. Preparação de tioésteres e amidas por meio do composto de fórmula (XV-1b).

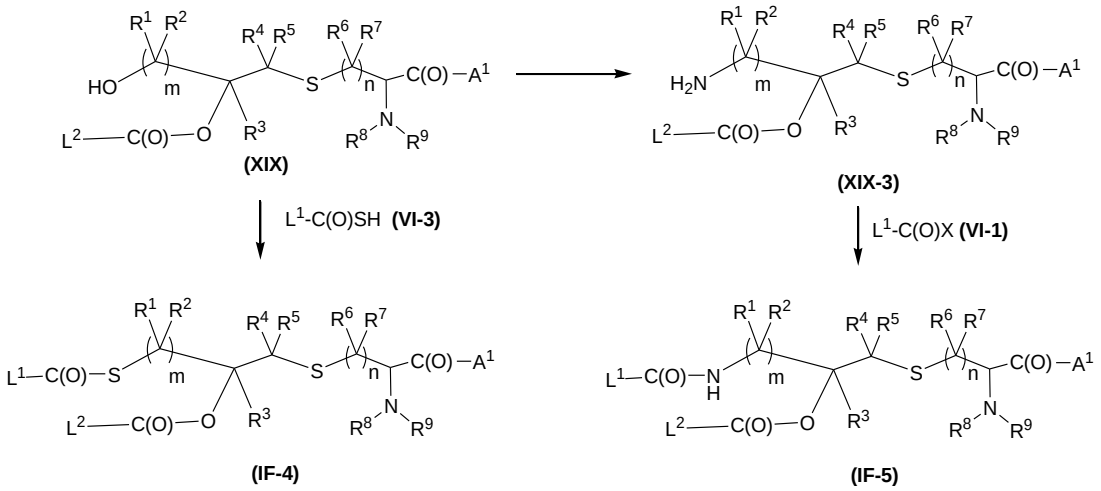


[877] O análogo de tioéster (IF-2) pode ser preparado reagindo-se primeiramente o composto de fórmula (XV-1b) sob condições Mitsunobu (por exemplo, PPh_3, dietilazodicarboxilato (DEAD)) e capturando-se com o tioácido desejado de fórmula (VI-2), por exemplo, ácido tiopalmítico, para fornecer o composto de fórmula (XVIII-1) (consultar, por exemplo, O. Schulze et al, Carbohydrate Res., 2004, 339, 1.787 a 1.802). A desproteção do grupo protetor P10 e esterificação do álcool resultante (XIX-1) fornece o composto da fórmula (IF-2).

[878] Os análogos de tioéster e amida de bis-éster (IF-1) podem ser também preparados a partir do composto de fórmula (XIX), conforme mostrado no Esquema A6. O composto de fórmula (XIX) pode ser convertido no composto de fórmula (IF-4) por métodos análogos àqueles descritos acima para a conversão do composto de fórmula (XV-1b) no composto de fórmula (XVIII-1).

[879] Similarmente, o composto de fórmula (XIX) pode ser convertido no composto de fórmula (IF-5) por métodos análogos àqueles descritos acima para a conversão do composto de fórmula (XV-1b) no composto de fórmula (XVIII-2).

Esquema A6. Preparação de tioésteres e amidas por meio do composto de fórmula (XIX).



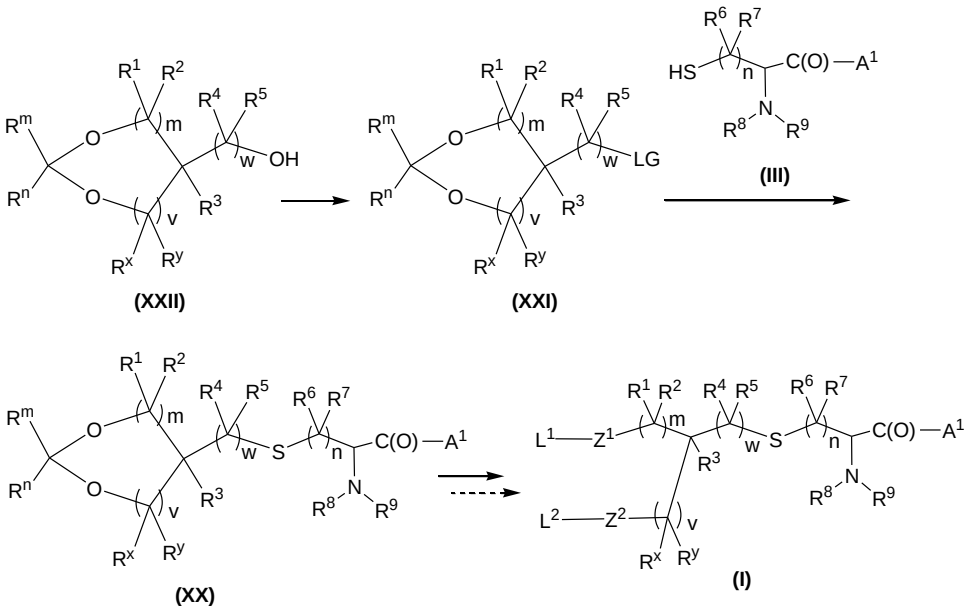
[880] Outros análogos de bis-éster (IF-1) podem ser preparados substituindo-se o composto de fórmula (XIX) no Esquema A6 por um composto de fórmula (XIX-1) ou (XIX-2) e, então, seguindo-se as sequências sintéticas descritas.

[881] Inúmeros outros compostos de fórmula (IF) podem ser preparados por métodos análogos, conforme será percebido por aqueles que são versados na técnica.

[882] Os compostos de fórmula (VI), (VI-1), (VI-2) e (VI-3) podem estar comercialmente disponíveis ou ser preparados a partir de precursores comercialmente disponíveis com o uso de conjuntos de procedimentos de química sintética padrão.

[883] Os compostos de fórmula (I) também podem ser preparados por um método da presente invenção que compreende a conjugação de um parceiro de conjugação que compreende aminoácido e um acetal, como mostrado no Esquema B1.

Esquema B1. Preparação de compostos de fórmula (I) por meio de acetal (XXI).



[884] O método compreende a reação de um aminoácido que compreende o parceiro de conjugação da fórmula (III) e um acetal da fórmula (XXI), em que LG é um grupo de saída adequado, sob condições eficazes para fornecer um composto da fórmula (XX).

[885] Em uma modalidade do método, método (A), as variáveis m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 no composto de fórmula (XX) são como definidas no composto de fórmula (I) da invenção (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e o método compreende adicionalmente converter o composto de fórmula (XX) no composto de fórmula (I) da invenção por uma ou mais etapas sintéticas adicionais. Nessa modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode compreender um peptídeo que corresponde ao peptídeo presente no composto da fórmula (I) da invenção produzido pelo método.

[886] Em outra modalidade do método, método (B), as variáveis m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 no composto de fórmula (XX) são como definidas no composto de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas(1) e (2) do primeiro aspecto; e o método

compreende adicionalmente converter o composto de fórmula (XX) em um composto de fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto por uma ou mais etapas sintéticas adicionais; e acoplar o composto a um aminoácido ou peptídeo para fornecer o composto de fórmula (I) da invenção (incluindo a cláusula (1) e/ou (2) do primeiro aspecto). Nessa modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode consistir em um aminoácido ou pode compreender um peptídeo que corresponde a uma porção do peptídeo presente no composto de fórmula (I) da invenção produzido pelo método.

[887] Em algumas modalidades, o aminoácido que compreende o parceiro de conjugação reagido com o acetal consiste em um aminoácido, por exemplo, uma cisteína protegida por Nα-amina e/ou protegida por terminação C. Em outras modalidades, o aminoácido que compreende o parceiro de conjugação compreende um peptídeo, por exemplo, um peptídeo curto. Em tais modalidades, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode compreender cerca de 15 resíduos de aminoácidos ou menos, por exemplo, 5, 4 ou 3 resíduos de aminoácidos.

[888] O grupo Nα-amino do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é, de preferência, protegido ou substituído de outro modo (isto é, não está na forma de um grupo amina $–NH_2$ livre) para impedir a reação durante a reação de conjugação. A terminação C do parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode ser também protegida.

[889] Na reação, o tiol do composto de fórmula (III) desloca o grupo de saída (LG) no acetal de fórmula (XXI). Os grupos de saída adequados incluem, porém sem limitação, halo (por exemplo, cloro, bromo ou iodo) ou sulfonato (por exemplo, um tosilato ou mesilato). Outros grupos de saída adequados serão videntes para aqueles versados na técnica.

[890] O tamanho do anel de acetal no composto de fórmula (XXI) pode variar. O anel de acetal pode compreender de 5 a 7 átomos de anel (isto é, pode ser um acetal cíclico com 5 a 7 membros). Em certas modalidades, o acetal cíclico tem 6 membros. Será percebido que, quando o acetal cíclico é um acetal cíclico com 5 membros, a fim de fornecer um composto da fórmula (I), w é pelo menos 2 (de modo que a soma de m, v e w seja pelo menos 3).

[891] A reação de conjugação pode ser executada na presença de uma base. Por exemplo, a reação pode ser executada na presença de amina orgânica, em um solvente adequado, por exemplo, DMF, a uma temperatura de cerca de 50°C. As aminas orgânicas adequadas incluem, porém sem limitação, trietilamina, N-metilmorfolina, colidina e similares.

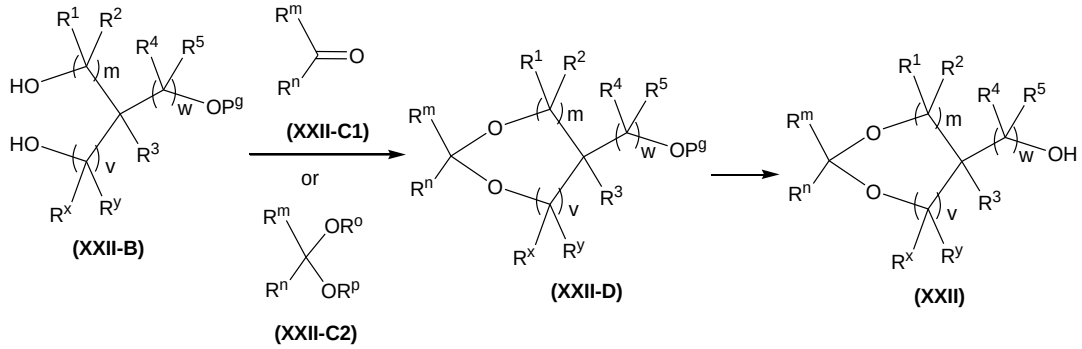
[892] O composto de fórmula (XXI) pode ser fornecido na forma estereoisomericamente pura ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida reagindo-se uma forma estereoisomericamente pura ou uma mistura estereoisomericamente enriquecida do composto de fórmula (XXII). Vantajosamente, os compostos estereoisomericamente puros de fórmula (XXII) estão prontamente disponíveis para comercialização, tal como (4*R*)- ou (4*S*)-(2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il)-metanol.

[893] Outros compostos de fórmula (XXII) podem ser preparados por métodos de rotina conhecidos na técnica. Conforme mostrado no Esquema B1-1, um composto de fórmula (XXII-B), em que Pg é um grupo protetor hidroxila adequado, pode ser reagido com um composto da fórmula (XXII-C1) para fornecer o acetal de fórmula (XXII-D), que pode ser, então, convertido no composto de fórmula (XXII) por remoção do grupo protetor Pg. Alternativamente, o composto de fórmula (XXII-B) pode ser reagido com um acetal acíclico da fórmula (XXII-C2), em que Ro e Rp são, cada um, independentemente, C1-4 alquila. A reação de

acetilação pode ser executada com o uso de um ácido, tal como ácido canforsulfônico, em um solvente adequado, tal como diclorometano.

[894] As condições para remoção do grupo protetor Pg dependem do grupo protetor usado. Por exemplo, um grupo protetor éter silílico, tal como TBDMS, pode ser removido por tratamento com uma fonte de flúor, tal como fluoreto de tetrabutilamônio (TBAF) em solvente adequado, tal como THF. Consultar, por exemplo, C. R. Reddy et al, (Tetrahedron Letters, **2010**, 51(44) 5.840 a 5.842); e Sauret-Cladière et al (Tetrahedron Asymmetry, **1997**, 8(3), 417 a 423).

Esquema B1-1. Preparação de compostos de fórmula (XXII).



[895] Referindo-se novamente ao Esquema B1, os compostos de fórmula (XXI) podem ser preparados a partir de compostos de fórmula (XXII) por reação com um precursor adequado do grupo de saída. Por exemplo, os grupos de saída tosilato ou mesilato podem ser preparados por reação com cloreto de tosila ou cloreto de mesila na presença de uma base e um solvente adequado, e um grupos de saída iodo pode ser preparado por reação com PPh_3 e I_2.

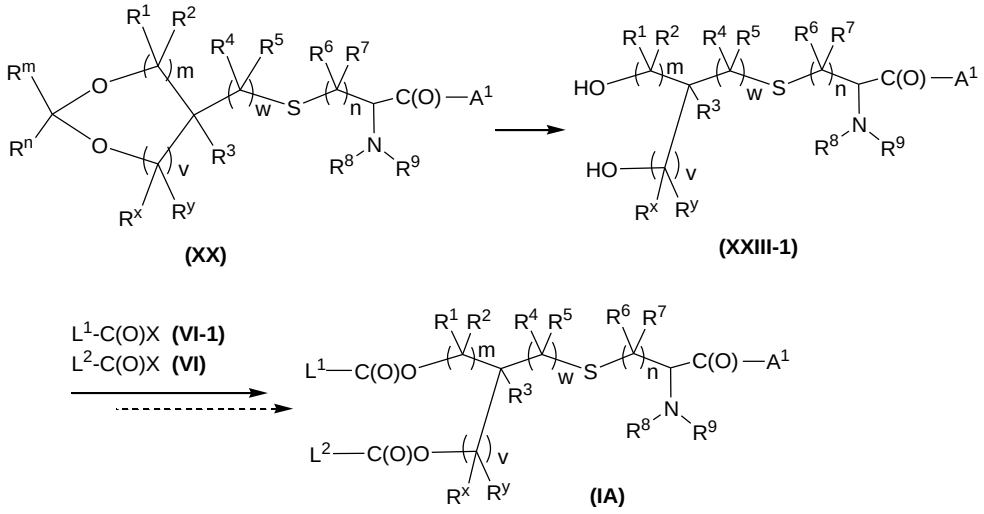
[896] O composto de fórmula (XX) pode subsequentemente ser convertido por uma ou mais etapas sintéticas em um composto da fórmula (I) como definido no método (A) ou (B), por exemplo, um composto da fórmula (IA).

[897] A uma ou mais etapas sintéticas podem compreendem remover o acetal para fornecer um diol da fórmula (XXIII-1). O grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R1 e R2 estão ligados no composto

de fórmula (XXIII-1) pode ser convertido em L1-Z1- e/ou o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual Rx e Ry estão ligados pode ser convertido em L2-Z2.

[898] Por exemplo, conforme mostrado no Esquema B2, o acetal no composto de fórmula (XX) pode ser removido para fornecer o diol de fórmula (XXIII-1) por tratamento com um ácido, tal como ácido p-tolueno sulfônico em um solvente, tal como diclorometano. O diol de fórmula (XXIII-1) pode ser convertido no composto bis-éster de fórmula (IA) por meio de uma ou mais etapas de acilação de uma maneira análoga àquela descrita para a conversão do composto de fórmula (XV-1a) no composto de fórmula (IF-1).

Esquema B2. Preparação de conjugados bis-éster de fórmula (IA).

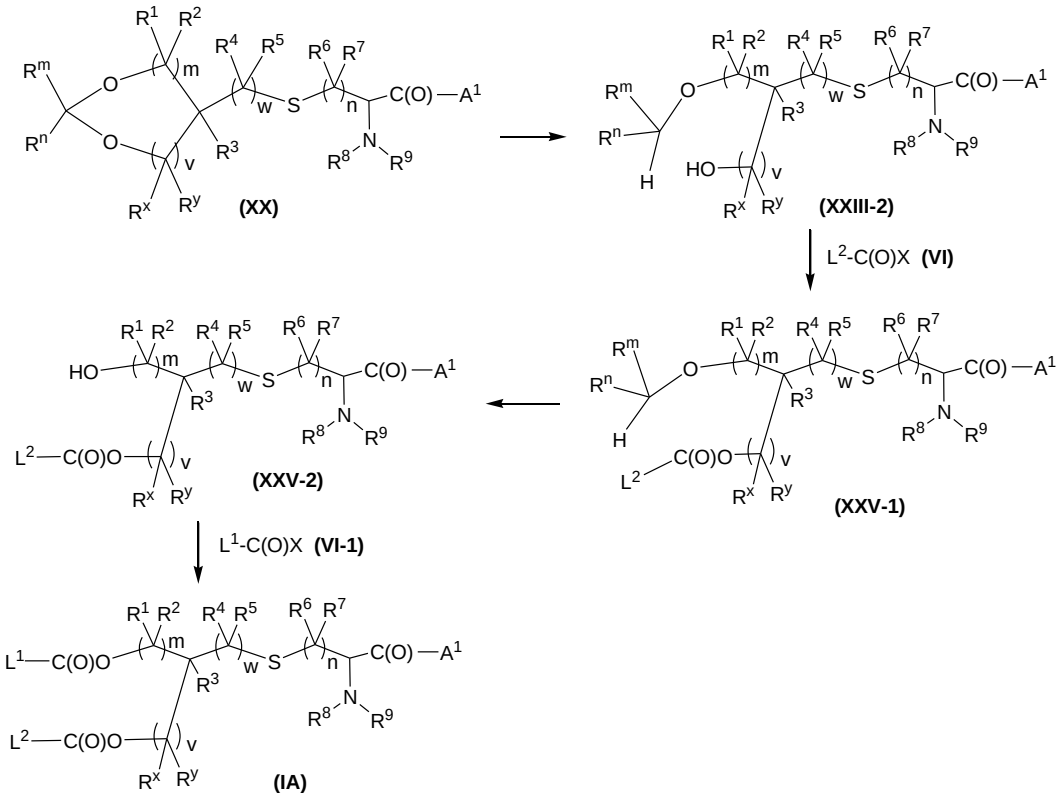


[899] Alternativamente, em várias modalidades em que Rm é arila opcionalmente substituída, por exemplo, fenila ou fenila substituída por metóxi, a uma ou mais etapas sintéticas podem compreender remover o acetal para fornecer um composto da fórmula (XXIII-2) ou (XXIII-3). A uma ou mais etapas podem compreender converter o grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono ao qual Rx e Ry estão ligados no composto de fórmula (XXIII-2) em L2-Z2-, remover o grupo RmRnCH- para fornecer um grupo hidroxila e converter o grupo hidroxila em L1-Z1; ou converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual Rx e Ry estão ligados no composto de fórmula (XXIII-2) em L1-Z1-, remover o grupo

RmRnCH- para fornecer um grupo hidroxila e converter o grupo hidroxila em L2-Z2-. Tais métodos permitem vantajosamente a introdução de diferentes grupos L1-Z1 e L2-Z2-.

[900] Conforme ilustrado no Esquema B3, o acetal no composto de fórmula (XX) pode ser removido, por exemplo, por tratamento com um agente redutor adequado, por exemplo, hidreto de di-isobutilalumínio (DIBAL). O composto resultante de fórmula (XXIII-2) pode ser, então, acilado com o composto de fórmula (VI) para introduzir o grupo L2-C(O)O- desejado. A remoção do grupo RmRnCH- para fornecer o composto de fórmula (XXV-2) pode ser executada por hidrogenólise (por exemplo, para um grupo benzila ou p-metoxibenzila) ou qualquer outro método adequado que tem relação com a natureza do grupo RmRnCH-. O composto de fórmula (XXV-2) pode ser, então, convertido no composto de fórmula (IA) por acilação com o composto de fórmula (IV-1). As etapas de acilação podem ser executadas conforme descrito no presente documento em relação à preparação do composto de fórmula (IF-1).

Esquema B3. Conjugados de bis-éster por meio de compostos de fórmula (XXIII-2).



[901] Será evidente àqueles versados na técnica que os compostos de fórmula (IA) podem ser preparados a partir de compostos de fórmula (XXIII-3) substituindo-se os compostos de fórmulas (XXIII-2), (VI) e (VI-1) no Esquema B3 pelos compostos de fórmulas (XXIII-3), (VI-1) e (VI), respectivamente, e, então, seguindo-se a sequência sintética descrita.

[902] Os grupos hidroxila produzidos em remoção do grupo acetal ou RmRnCH-, tais como aqueles nos compostos de fórmulas (XXIII-1), (XXIII-2), (XXIII-3) e (XXV-2), podem ser convertidos em vários outros grupos funcionais, tais como tióis e aminas, para fornecer compostos de acesso de fórmula (I) que possuem outros grupos Z1 e Z2.

[903] Será percebido que análogos de amida e tioéster do composto bis-éster de fórmula (IA) podem ser preparados por métodos análogos àqueles descritos acima em relação aos análogos de amida e tioéster do composto bis-éster de fórmula (IF-1).

[904] A presente invenção também fornece um método para preparar compostos de fórmula (I) da invenção por meio de uma reação de tiol-eno. O método compreende reagir um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono, um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio a ligação dupla de carbono-carbono e um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende um tiol, sob condições eficazes para conjugar o primeiro e o segundo parceiros de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido. Cada parceiro de conjugação contendo lipídio compreende e, portanto, na reação, fornece ao composto de fórmula (I) uma porção química de lipídio, em que uma compreende L1 e a outra compreende L2.

[905] A reação de tiol-eno envolve a adição de um tiol através de uma ligação dupla de carbono-carbono não aromática (isto é, hidrotiolação da ligação dupla de carbono-carbono). A reação procede por meio de um mecanismo de radical livre. Há três fases distintas na reação: iniciação, acoplamento e terminação.

[906] Tipicamente, a geração de radical gera um radical tiila eletrofílico que se propaga através do grupo eno de um alceno, formando um radical centrado em carbono e a transferência de cadeia de uma molécula de tiol adicional suprime o radical em carbono para gerar o produto final.

[907] Sem querer ficar limitado pela teoria, os inventores acreditam que, no método da presente invenção, o tiol é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio para formar um radical centrado em carbono, e que esse radical centrado em carbono, em vez de ser suprimido, é, então, conjugado com um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio.

[908] O método, assim, fornece conjugados de aminoácido e peptídeo em que o átomo de enxofre do tiol é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio, e um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio.

[909] Em uma modalidade do método, método (A), a conjugação do primeiro e segundo parceiros de conjugação contendo lipídios com o parceiro de conjugação compreendendo aminoácido fornece o conjugado de peptídeo da fórmula (I) da invenção. Nessa modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode compreender um peptídeo que corresponde ao peptídeo presente no conjugado de peptídeo da fórmula (I) da invenção produzido pelo método.

[910] Em outra modalidade do método, método (B), a conjugação do primeiro e segundo parceiros de conjugação contendo lipídios com o parceiro de conjugação que compreende aminoácido fornece um conjugado de aminoácido ou peptídeo (da fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto); e o método compreende adicionalmente acoplar o aminoácido ou conjugado de peptídeo a um aminoácido ou peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (I) da invenção (incluindo a cláusula (1) e/ou (2) do primeiro aspecto). Nessa modalidade, o parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode consistir em um aminoácido ou pode compreender um peptídeo que corresponde a uma porção do peptídeo presente no composto de fórmula (I) da invenção produzido pelo método.

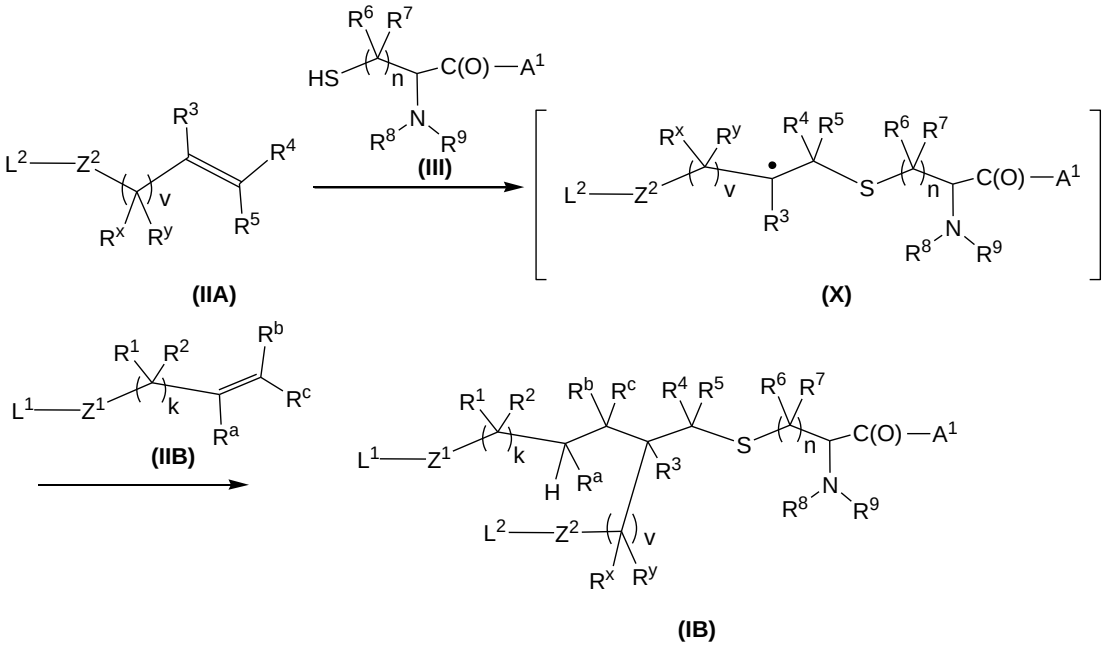
[911] O primeiro e o segundo parceiros de conjugação contendo lipídio podem ser iguais ou diferentes. As pessoas versadas na técnica

perceberão que reagir diferentes parceiros de conjugação contendo lipídio ao mesmo tempo pode fornecer uma mistura de (potencialmente até quatro diferentes) conjugados. Consequentemente, em certas modalidades exemplificativas, o primeiro e o segundo parceiros de conjugação contendo lipídio são iguais.

[912] A reação de tioleno pode ser regiosseletiva em relação a qual átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado ao tiol e também em relação a qual átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a qual átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio. Aqueles que são versados na técnica perceberão que vários regioisômeros podem ser formados na reação.

[913] Em certas modalidades, o método compreende reagir um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio da fórmula (IIA) e um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio da fórmula (IIB) com um parceiro de conjugação que compreende aminoácido contendo tiol (III) sob condições eficazes para fornecer um composto da fórmula (IB) (Esquema C1). Quando o método é (A), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB) da presente invenção (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) do primeiro aspecto); e quando o método é (B), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v , e n são como definidos no composto de fórmula (IB), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto.

Esquema C1. Preparação de compostos de fórmula (IB) por meio de uma reação de tioleno.



[914] As condições eficazes para formação do composto de fórmula (IB) podem variar. Em várias modalidades, as condições eficazes para formação do composto de fórmula (IB) podem compreender executar a reação com um excesso estequiométrico de parceiro de conjugação contendo lipídio em relação a tiol, tal como uma razão estequiométrica entre os parceiros de conjugação contendo lipídio (IIA) e (IIB) (combinados) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido de pelo menos 7:1, por exemplo, 8:1, 9:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1 ou 70:1.

[915] O grau de conversão do parceiro de conjugação que compreende aminoácido no composto de produto de fórmula (IB) pode variar. De preferência, pelo menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60 ou 70% do parceiro de conjugação que compreende aminoácido são convertidos no composto de fórmula (IB). A conversão pode ser determinada por HPLC.

[916] Conforme observado acima, sem o desejo de se vincular à teoria, os inventores acreditam que, sob tais condições, a reação do

alceno de fórmula (IA) com o tiol de fórmula (III) resulta na formação de um radical centrado em carbono da fórmula (X), que é capturado com o segundo alceno da fórmula (IIB), em vez de suprimido por abstração de um próton do tiol de outra molécula da fórmula (III), para fornecer o conjugado de aminoácido ou peptídeo desejado.

[917] A reação pode resultar na produção de uma mistura de estereoisômeros visto que pode não ser possível controlar ou influenciar a estereoquímica de formação de ligação entre o átomo de carbono ao qual R3 está ligado e o átomo de carbono ao qual Rb e Rc estão ligados devido ao intermediário de radical gerado no curso da reação. A reação tipicamente produz uma mistura de epímeros em relação ao átomo de carbono ao qual R3 está ligado.

[918] Em certas modalidades, o Z1 e o Z2 nos parceiros de conjugação contendo lipídio são, cada um, –C(O)O–, e o composto de fórmula (I) formado no método de tioleno é um composto de fórmula (IC) conforme definido no presente documento.

[919] Em modalidades exemplificativas, o método de tioleno da presente invenção compreende reagir um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende uma estrutura da fórmula (III) com parceiros de conjugação contendo lipídio da fórmula (IIA) e (IIB) que são ésteres vinílicos para fornecer um composto da fórmula (ID). A reação pode ser executada, por exemplo, como descrito no presente documento, irradiando-se uma mistura de reação que compreende o parceiro de conjugação que compreende aminoácido; parceiros de conjugação contendo lipídio; um iniciador fotoquímico, tal como DMPA. Podem estar incluídos um ou mais aditivos que reduzem a formação de subprodutos, tal como um tiol estericamente impedido (por exemplo, terc-butilmercaptano), um ácido (por exemplo, TFA) ou um organossilano (por exemplo, tri-isopropilsilano) ou uma combinação de dois ou mais dos mesmos. A reação pode ser executada em um solvente

adequado, tal como NMP, à temperatura ambiente por um período de tempo adequado, tal como 30 minutos.

[920] A reação é tipicamente iniciada pela geração de um ou mais radicais livres na mistura de reação. Um ou mais radicais livres podem ser gerados no método por qualquer método conhecido na técnica. Os radicais livres podem ser gerados térmica e/ou fotoquimicamente. Um ou mais iniciadores de radicais livres podem ser usados para iniciar a geração de radicais livres. Os iniciadores de radicais livres adequados incluem iniciadores térmicos e fotoiniciadores.

[921] Os radicais livres são gerados a partir de iniciadores térmicos por aquecimento. A taxa de degradação do iniciador térmico e formação de radicais livres resultante depende do iniciador e da temperatura à qual o iniciador é aquecido. Temperaturas mais altas geralmente resultam em uma decomposição mais rápida. Uma pessoa versada na técnica terá a capacidade de selecionar uma temperatura apropriada para aquecer o iniciador sem experimentação indevida.

[922] Inúmeros iniciadores térmicos estão comercialmente disponíveis. Os exemplos de iniciadores térmicos incluem, porém, sem limitação, peroxibenzoato de terc-amila, 1,1'-azobis(ciclo-hexanocarbonitrila), 2,2'-azobisisobutironitrila (AIBN), peróxido de benzoíla, hidroperóxido de terc-butila, peracetato de terc-butila, peróxido de terc-butila, peroxibenzoato de terc-butila, carbonato de terc-butilperóxi isopropila, peróxido de lauroíla, ácido peracético e persulfato de potássio.

[923] Os radicais livres podem ser gerados a partir de fotoiniciadores por irradiação com luz. A frequência da luz necessária para induzir a degradação dos fotoiniciadores e a formação de radicais livres depende do iniciador. Muitos fotoiniciadores podem ser iniciados com luz ultravioleta.

[924] A luz de um comprimento de onda ou faixa de comprimento

de onda específica pode ser usada para irradiar seletivamente o iniciador, em que os parceiros de conjugação contendo lipídio ou o parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo, um parceiro de conjugação contendo peptídeo, compreende grupos fotossensíveis. Em certas modalidades, uma frequência de cerca de 365 nm é usada. A luz dessa frequência é geralmente compatível com as cadeias laterais de aminoácidos de ocorrência natural.

[925] Uma ampla faixa de fotoiniciadores está comercialmente disponível. Os exemplos de fotoiniciadores incluem, porém, sem limitação, acetofenona, anisoína, antraquinona, ácido antraquinona-2-sulfônico, benzila, benzoína, benzoína etil éter, benzoína isobutil éter, benzoína metil éter, benzofenona, dianidrido de ácido 3,3',4,4'-benzofenonotetracarboxílico, 4-benzoilbifenila, 2-benzil-2-(dimetilamino)-4'-morfolinobutirofenona, 4'-bis(dietilamino)benzofenona, 4,4'-bis(dimetilamino)benzofenona, canforquinona, 2-clorotioxanten-9-ona, dibenzossuberenona, 2,2-dietoxiacetofenona, 4,4'-di-hidroxibenzofenona, 2,2-dimetóxi-2-fenilacetofenona (DMPA), 4-(dimetilamino)benzofenona, 4,4'-dimetilbenzila, 2,5-dimetilbenzofenona, 3,4-dimetilbenzofenona, 4'-etoxiacetofenona, 2-etilantraquinona, 3'-hidroxiacetofenona, 4'-hidroxiacetofenona, 3-hidroxibenzofenona, 4-hidroxibenzofenona, 1-hidroxiciclohexil fenil cetona, 2-hidróxi-2-metilpropiofenona, 2-metilbenzofenona, 3-metilbenzofenona, metilbenzoilformato, 2-metil-4'-(metiltio)-2-morfolinopropiofenona, fenantrenoquinona, 4'-fenoxiacetofenona e tioxanten-9-ona.

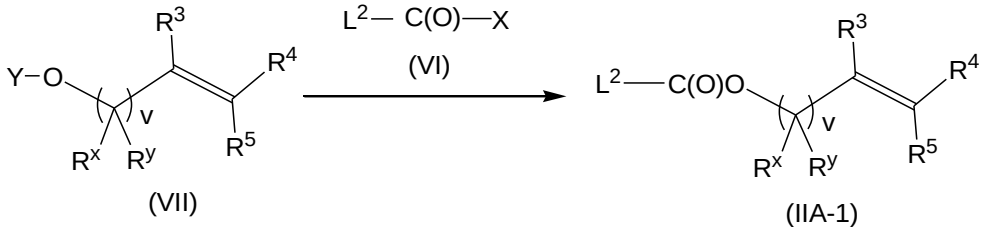
[926] Uma pessoa versada na técnica terá também a capacidade de selecionar iniciadores de radicais livres apropriados para uso no método levando em consideração, por exemplo, a natureza dos parceiros de conjugação contendo lipídio, parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo, um parceiro de conjugação

contendo peptídeo, e quaisquer outros componentes presentes na mistura de reação. Em algumas modalidades, o iniciador está presente na reação em uma razão estequiométrica em relação ao material de partida que compreende o tiol de cerca de 20:1 a cerca de 0,05:1, de cerca de 10:1 a cerca de 0,05:1, de cerca de 5:1 a cerca de 0,05:1, de cerca de 3:1 a cerca de 0,5:1.

[927] Os parceiros de conjugação contendo lipídio e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo, um parceiro de conjugação contendo peptídeo, podem ser preparados com o uso de conjuntos de procedimentos de química sintética conhecidos (por exemplo, os métodos descritos, de modo geral, em Louis F Fieser e Mary F, *Reagents for Organic Synthesis* v. 1 a 19, Wiley, Nova York (1967 a 1999 ed.) ou *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. Ed. Springer-Verlag Berlin, incluindo suplementos (também disponíveis por meio do banco de dados on-line Beilstein)) ou, em algumas modalidades, podem estar comercialmente disponíveis.

[928] Por exemplo, os compostos parceiros de conjugação contendo lipídio da fórmula (IIA-1) podem ser preparados reagindo-se um composto da fórmula (VI), em que X é OH ou um grupo de saída adequado com um composto da fórmula (VII), em que Y é H, um metal ou metaloide, ou acila (por exemplo, alquilcarbonila) sob condições eficazes para esterificação (ou transesterificação, quando Y é um grupo acima) (Esquema C2).

Esquema C2. Preparação de compostos da fórmula (IIA-1).



[929] Os métodos para esterificação (ou transesterificação) são bem conhecidos na técnica. Por exemplo, quando X é cloro e Y é H, a

reação pode ser executada na presença de uma base, tal como piridina ou trietilamina, em um solvente adequado. O cloreto de ácido pode ser convertido *in situ* em uma espécie mais reativa (por exemplo, no iodeto correspondente, com o uso de idodeto de sódio). A temperatura à qual a reação é executada depende da reatividade da espécie de ácido e do solvente usado.

[930] Por exemplo, ésteres vinílicos da fórmula (IIA-1) podem ser produzidos por transesterificação com acetato de vinila (o próprio produzido industrialmente pela reação de ácido acético e acetileno ou ácido acético e etileno sobre um catalisador adequado) com o uso de um catalisador ácido ou metálico. Consultar, por exemplo, o documento nº EP0376075A2 e S. K. Karmee, *J. Oil Palm Res.*, **2012**, 1.518 a 1.523.

[931] Os ésteres vinílicos da fórmula (IIA-1) podem ser também preparados pela adição de um ácido carboxílico a um acetileno terminal na presença de um catalisador (usualmente um complexo de paládio ou rutênio). Consultar, por exemplo, V. Cadierno, J. Francos, J. Gimeno *Organometallics*, **2011**, *30*, 852 a 862; S. Wei, J. Pedroni, A. Meissner, A. Lumbroso, H.-J. Drexler, D. Heller, B. Breit, *Chem. Eur. J.*, **2013**, *19*, 12.067 a 12.076. Acetilenos não terminais podem ser também reagidos. Consultar, por exemplo, N. Tsukada, A. Takahashi, Y. Inoue, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, *52*, 248 a 250 e M. Rotem, Y. Shvo, *J. Organometallic Chem.* **1993**, *448*, 159 a 204.

[932] Outros exemplos de métodos para preparar ésteres vinílicos de fórmula (IIA-I) incluem: reação de divinilmercúrio com ácidos aromáticos e alifáticos [consultar, por exemplo, D. J. Foster, E. Tobler, *J. Am. Chem. Soc*. **1961**, *83*, 851]; esterificação catalisada por Cu(II) de ácido areno carboxílicos com trimetoxi(vinil)silano na presença de AgF [consultar, por exemplo, F. Luo, C. Pan, P. Qian, J. Cheng, *Synthesis* **2010**, 2005]; reações de transferência de vinila de acetato de vinila para álcoois primários e secundários e também para ácidos carboxílicos com

um sistema de catalisador que consiste em 2% em mol de [AuCl(PPh_3)] e 2% em mol de AgOAc [consultar, por exemplo, A. Nakamura, M. Tokunaga, *Tetrahedron Lett*. **2008**, *49*, 3.729]; e transvinilação catalisada por complexo de Ir ([Ir(cod)Cl]$_2$/P(OMe)$_3$) [consultar, por exemplo, H. Nakagawa, Y. Okimoto, S. Sakaguchi, Y. Ishii, Tetrahedron Lett. 2003, 44, 103].

[933] Outros métodos adequados para preparar compostos de fórmula (II-A) serão evidentes àqueles versados na técnica.

[934] Os compostos parceiros de conjugação contendo lipídio da fórmula (IIB-1) podem ser preparados de uma forma análoga, em que os compostos de fórmula (IIA-1) e (IIB-1) são diferentes.

[935] Inúmeros compostos de fórmula (VI) estão comercialmente disponíveis. Outros podem ser preparados com o uso de conjuntos de procedimentos de química sintética padrão a partir de precursores comercialmente disponíveis. Por exemplo, os compostos de fórmula (VI) em que X é cloro podem ser preparados tratando o ácido carboxílico correspondente com cloreto de tionila em um solvente ou mistura de solventes adequada.

[936] Similarmente, os compostos de fórmula (VII) estão também comercialmente disponíveis ou podem ser preparados a partir de precursores comercialmente disponíveis com o uso de conjuntos de procedimentos de química sintética padrão.

[937] A ordem em que os parceiros de conjugação contendo lipídio e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo, um parceiro de conjugação contendo peptídeo, e quaisquer outros componentes presentes na mistura de reação são introduzidos no vaso de reação pode variar. A reação pode ser executada como um procedimento de um recipiente.

[938] A razão entre os parceiros de conjugação contendo lipídio e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo,

um parceiro de conjugação contendo peptídeo, na reação pode variar. Em algumas modalidades, a razão molar entre o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio combinados (isto é, no total) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é pelo menos 7:1, por exemplo, 8:1, 9:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1, 60:1 ou 70:1.

[939] A reação pode ser executada a qualquer temperatura adequada. Em algumas modalidades, a reação é executada a uma temperatura de cerca de -25°C a cerca de 200°C, de cerca de -10°C a cerca de 150°C, de cerca de 0°C a cerca de 125°C, de cerca da temperatura ambiente a cerca de 100°C. Em algumas modalidades, a reação é executada a uma temperatura menor do que cerca de 200°C, menor do que cerca de 175°C, menor do que cerca de 150°C, menor do que cerca de 125°C ou menor do que cerca de 100°C.

[940] Em algumas modalidades, a reação é executada a uma temperatura acima da temperatura ambiente. Em uma modalidade, a reação é executada a uma temperatura de 40 a 200°C, de 50 a 150°C, de 60 a 100°C, de 65 a 90°C ou de 70 a 80°C. Em algumas modalidades, a reação é executada a uma temperatura maior do que 40°C, maior do que 50°C, maior do que 75°C, maior do que 100°C ou maior do que 150°C.

[941] A temperatura à qual a reação é executada pode depender de como os radicais livres são gerados na reação. A temperatura usada pode ser selecionada para controlar a taxa da reação. A temperatura pode ser ajustada durante o curso da reação para controlar a taxa da reação.

[942] Se radicais livres forem gerados termicamente (por exemplo, com o uso de um iniciador térmico), a reação será, de modo geral, executada a uma temperatura acima da temperatura do meio ambiente. A temperatura dependerá da reatividade das espécies das quais os radicais livres são gerados.

[943] Se radicais livres forem gerados fotoquimicamente, a reação pode ser executada, vantajosamente, à temperatura do meio ambiente. Em certas modalidades, pode ser desejável resfriar a mistura de reação para retardar a taxa de reação ou aquecer em contrapartida a mistura de reação para aumentar a taxa de reação.

[944] Um versado na técnica será capaz de selecionar as temperaturas adequadas para executar o método que tem relação com a reatividade dos materiais de partida e outros reagentes presentes.

[945] A temperatura em que a reação é executada pode ser controlada aquecendo-se ou resfriando-se a mistura de reação por um método adequado conhecido na técnica. Calor pode ser aplicado à mistura de reação, por exemplo, com o uso de um trocador de calor dentro do vaso de reação, uma camisa de aquecimento que circunda o vaso de reação ou imergindo-se o vaso de reação em um líquido aquecido (por exemplo, um óleo ou banho de areia). Em certas modalidades exemplificativas, a mistura de reação é aquecida por irradiação de micro-ondas.

[946] O progresso da reação pode ser monitorado por quaisquer meios adequados, por exemplo, por cromatografia de camada fina (TLC) ou cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). A reação pode ser deixada progredir até conclusão substancial, conforme monitorado pelo consumo de pelo menos um dos materiais de partida. Em algumas modalidades, a reação é deixada progredir por um período de tempo de 1 minuto a 7 dias, 5 minutos a 72 horas, 10 minutos a 48 horas, 10 minutos a 24 horas. Em outras modalidades, a reação é deixada progredir por um período de tempo menor que 72 horas , menor que 48 horas , menor que 24 horas , menor que 12 horas , menor que 6 horas , menor que 4 horas , menor que duas horas ou menor que uma hora.

[947] Em algumas modalidades, a reação é executada até que

pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 99% do parceiro de conjugação que compreende aminoácido tenham sido consumidos. O consumo de materiais de partida pode ser monitorado por qualquer método adequado, por exemplo, HPLC.

[948] A mistura de reação pode ser misturada por qualquer método adequado conhecido na técnica, por exemplo, com o uso de um agitador mecânico ou magnético. O método usado pode depender da escala em que a reação é executada.

[949] A reação é, de modo geral, executada em um meio de reação líquido. O meio de reação líquido pode compreender um solvente. Os exemplos de solventes adequados incluem N-metilpirrolidona (NMP), dimetilformamida, diclorometano, 1,2-dicloroetano, clorofórmio, tetracloreto de carbono, água, metanol, etanol, dimetilsulfóxido, ácido trifluoroacético, ácido acético, acetonitrila e misturas dos mesmos.

[950] O solvente pode ser selecionado com base na solubilidade dos materiais de partida e outros reagentes presentes, por exemplo, o iniciador de radical livre. Em algumas modalidades, os parceiros de conjugação contendo lipídio são hidrofóbicos. A hidrofobicidade ou hidrofilicidade de um parceiro de conjugação que compreende aminoácido pode variar dependendo, por exemplo, da sequência de aminoácidos do peptídeo de um parceiro de conjugação contendo peptídeo. A presença de um grupo solubilizante no parceiro de conjugação contendo peptídeo pode aumentar a solubilidade nos solventes polares, tal como água. Um versado na técnica será capaz de selecionar um solvente adequado sem experimento indevido.

[951] A reação pode ser executada sob condições substancialmente sem oxigênio. O oxigênio pode suprimir os radicais

livres formados na reação. A mistura de reação pode ser desgaseificada com um gás inerte (por exemplo, nitrogênio ou argônio) que é substancialmente sem oxigênio para remover qualquer oxigênio dissolvido antes dos radicais livres serem gerados. Alternativamente, os componentes individuais da mistura de reação podem ser desgaseificados com gás inerte que é substancialmente sem oxigênio antes de serem combinados no vaso de reação. A reação pode ser executada sob uma atmosfera de gás inerte que é substancialmente isenta de oxigênio.

[952] O método da presente invenção pode ser executado a uma pressão ambiente.

[953] Um aditivo que inibe a formação de subprodutos indesejados e/ou que aprimora o rendimento de ou a conversão no produto desejado pode estar incluído na mistura de reação no método de tioleno da presente invenção. O um ou mais aditivos podem ser um tiol estranho, um ácido, um organossilano ou uma combinação de quaisquer dois ou mais dos mesmos.

[954] Os inventores concluíram que, em algumas modalidades, a inclusão de um tiol estranho ou exógeno como um aditivo na mistura de reação reduz a formação de subprodutos indesejáveis. O tiol estranho pode, em algumas modalidades, aumentar a eficácia ou a conversão da reação de tioleno desejada. Os exemplos de tióis externos incluem, porém, sem limitação, glutationa reduzida, DODT, DTT, proteína, tióis estericamente impedidos e similares.

[955] Em algumas modalidades, o tiol estranho é DTT.

[956] Em outras modalidades, o tiol estranho é um tiol estericamente impedido. Os exemplos não limitantes de um tiol externo estericamente impedido adequado incluem *terc*-butil mercaptano e 1-meilpropil mercaptano.

[957] Sem o desejo de se vincular à teoria, os inventores acreditam

que, em certas modalidades, um tiol estranho, tal como *terc*-butilmercaptano, pode fornecer um próton para suprimir o intermediário de radical formado na propagação do radical de fórmula (X) com o alceno de fórmula (IIB) para fornecer o composto desejado de fórmula (IB) e o radical tiila resultante pode propagar a reação gerando outro mol de radical tiila a partir do parceiro de conjugação que compreende aminoácido de fórmula (III).

[958] Será percebido que os tióis estranhos podem, em certas modalidades, também ter capacidade de suprimir prematuramente a reação fornecendo-se um radical de próton de fórmula (X). Em tais modalidades, o tiol estranho e a quantidade em que o mesmo é usado podem ser selecionados de modo que o rendimento do ou a conversão no (conforme determinado por HPLC) composto de fórmula (IB) seja otimizado.

[959] Em várias modalidades, o tiol estranho está presente na reação em uma razão estequiométrica em relação ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido de cerca de 200:1 a cerca de 0,05:1, 100:1 a 0,05:1, 80:1 a 0,05:1, 60:1 a 0,05:1, 40:1 a 0.05:1, 20:1 a cerca de 0,05:1, 10:1 a cerca de 0,5:1, 5:1 a cerca de 1:1 ou 3:1 a cerca de 1:1. Em certas modalidades, um tiol estericamente impedido, tal como t-BuSH, está presente na reação em uma razão estequiométrica em relação ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido de cerca de 100:1 a 0,05:1, por exemplo, cerca de 80:1, cerca de 40:1 ou cerca de 3:1.

[960] A inclusão de um ácido, em algumas modalidades, pode também reduzir a formação de subprodutos indesejáveis. O ácido pode ser um ácido inorgânico forte, por exemplo, HCl, ou ácido orgânico, por exemplo, TFA. Em certas modalidades, o aditivo é TFA. Sem o desejo de se vincular à teoria, os inventores acreditam que diminuir o pH da mistura de reação pode resultar na protonação de cadeias laterais ricas

em elétron de resíduos, tais como lisina, etc., que poderiam participar de outro modo em transferências de elétron único e formam espécies de radical na reação. Em várias modalidades, a mistura de reação compreende de cerca de 0,01 a 25, 0,01 a 15, 0,01 a 10 ou 1 a 10% em v/v de aditivo ácido. Em certas modalidades, a mistura de reação compreende de 1 a 10% em v/v de TFA, por exemplo, 5% em v/v de TFA.

[961] Os inventores concluíram que, em algumas modalidades, incluir tanto *ter*c-butil mercaptano quanto TFA como aditivos na mistura de reação pode reduzir a formação de subprodutos indesejados e aumentam a conversão de material de partida ao produto desejado. Consequentemente, em certas modalidades exemplificativas, a mistura de reação compreende uma combinação de um ácido e um tiol estranho, tal como uma combinação de um ácido orgânico forte e um tiol estericamente impedido, por exemplo, uma combinação de TFA e *terc*-butil mercaptano.

[962] Um organossilano pode estar também incluído como um aditivo na reação de tioleno. Os organossilanos são agentes redutores à fase de radical, cuja atividade pode ser modulada variando-se os substituintes no átomo de silício. Em várias modalidades, o organossilano é um composto da fórmula $(R^q)_3SiH$, em que Rq, em cada ocorrência, é, independentemente, hidrogênio ou um grupo orgânico, por exemplo, alquila ou arila, desde que pelo menos um Rq não seja hidrogênio. Os exemplos de organossilano incluem, porém sem limitação, trietilsilano (TES), trifenilsilano, difenilsilano, tri-isopropilsilano (TIPS) e similares. Em várias modalidades, o organossilano é um trialquilsilano, por exemplo, TIPS ou TES.

[963] Sem o desejo de se vincular à teoria, os inventores acreditam que, como com um tiol estranho, em certas modalidades, um organossilano, tal como TIPS, podem atuar como um doador de

hidrogênio para fornecer o composto desejado de fórmula (IB) e promovem a propagação da reação.

[964] Em várias modalidades, o organossilano está presente na reação em uma razão estequiométrica em relação ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido de cerca de 200:1 a cerca de 0,05:1, 100:1 a 0,05:1, 80:1 a 0,05:1, 60:1 a 0,05:1, 40:1 a 0.05:1, 20:1 a 0,05:1, 10:1 a 0,5:1, 5:1 a cerca de 1:1 ou 3:1 a cerca de 1:1. Em certas modalidades, um trialquilsilano, tal como TIPS, está presente na reação em uma razão estequiométrica em relação ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido de cerca de 100:1 a 0,05:1, por exemplo, cerca de 80:1 ou cerca de 40:1.

[965] O organossilano pode ser usado como um aditivo em combinação com um tiol estranho. Alternativamente, o organossilano pode ser usado em vez de um tiol estranho. Um ácido, tal como TFA, pode também estar presente. Os inventores constataram que, em certas modalidades, usar TIPS na reação juntamente com TFA, mas sem qualquer tiol estranho, pode fornecer conversão mais alta no composto desejado de fórmula (IB) do que quando uma combinação de TIPS, t-BuSH e TFA é usada.

[966] O aditivo é, de modo geral, usado em uma quantidade suficiente para minimizar a formação de subprodutos indesejáveis sem afetar adversamente a reação ou etapas quaisquer, opcionais, subsequentes no método.

[967] Os produtos formados na reação e na conversão no produto desejado pode ser determinada, por exemplo, por HPLC.

[968] A concentração dos parceiros de conjugação contendo lipídio e parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo, um parceiro de conjugação contendo peptídeo, respectivamente, na mistura de reação pode também afetar a reação. Aqueles versados na técnica são capazes de variar a concentração dos

parceiros de conjugação contendo lipídio e do parceiro de conjugação contendo peptídeo na mistura de reação para, por exemplo, otimizar o rendimento e a pureza sem experimento indevido.

[969] Em algumas modalidades, o material de partida que compreende o tiol está presente em uma concentração de cerca de 0,05 mM a cerca de 1 M, de cerca de 0,5 mM a cerca de 1 M, de cerca de 1 mM a cerca de 1 M. Em algumas modalidades, a concentração é pelo menos cerca de 0,05 mM, 0,5 mM ou 1 mM.

[970] Em algumas modalidades, a concentração dos materiais de partida que compreendem os alcenos são pelo menos cerca de 0,05 mM, 0,5 mM ou 1 mM.

[971] Em algumas modalidades, o conjugado de aminoácido ou conjugado de peptídeo é separado do meio de reação após a reação e opcionalmente purificado. O conjugado pode ser separado do meio de reação com o uso de qualquer método adequado na técnica, por exemplo, por precipitação.

[972] Em algumas modalidades, o conjugado de aminoácido ou peptídeo é purificado após a separação do mesmo do meio de reação. Por exemplo, o conjugado pode ser purificado por HPLC com o uso de um ou mais solventes adequados.

[973] A presente invenção também fornece um método para produzir o conjugado de peptídeo, em que o método compreende

[974] fornecer um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), mas excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto ou um sal ou solvato do mesmo, e

[975] acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo da fórmula (I) ou sal ou solvato do mesmo.

[976] O conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), mas

excluindo as cláusulas (1) e (2) do primeiro aspecto ou um sal ou solvato do mesmo pode ser fornecido pelos métodos descritos no presente documento.

[977] O conjugado de peptídeo produzido por e/ou o parceiro de conjugação contendo peptídeo e/ou os peptídeos acoplados nos métodos da presente invenção podem compreender um peptídeo sintético. Os peptídeos sintéticos podem ser preparados com o uso de síntese de peptídeo de fase sólida (SPPS).

[978] O princípio básico para síntese de peptídeo de fase sólida (SPPS) é uma adição em etapas de aminoácidos a uma cadeia de polipeptídeo em crescimento ancorada por meio de uma molécula ligante a um suporte de fase sólida, tipicamente uma partícula de resina, que permite a clivagem e a purificação uma vez que a cadeia de polipeptídeo esteja completa. Em resumo, um suporte de resina de fase sólida e um aminoácido de partida são fixados um ao outro por meio de uma molécula ligante. Tais matrizes de resina-ligante-ácido estão comercialmente disponíveis.

[979] O aminoácido a ser acoplado à resina é protegido em sua Nα-terminação por um grupo protetor químico.

[980] O aminoácido pode ter também um grupo protetor de cadeia lateral. Tais grupos protetores impedem que reações indesejadas ou deletérias ocorram durante o processo de formação da nova ligação de peptídeo entre o grupo carboxila do aminoácido a ser acoplado e o grupo Nα-amino desprotegido da cadeia de peptídeo ligada à resina.

[981] O aminoácido a ser acoplado é reagido com o grupo Nα-amino desprotegido do aminoácido N-terminal da cadeia de peptídeo, aumentando o comprimento de cadeia da cadeia de peptídeo por um aminoácido. O grupo carboxila do aminoácido a ser acoplado pode ser ativado com um agente ativador químico adequado para promover a reação com o grupo Nα-amino da cadeia de peptídeo. O grupo protetor

Nα do aminoácido N-terminal da cadeia de peptídeo é, então, removido na preparação para acoplamento com o resíduo de aminoácido seguinte. Essa técnica consiste em muitas etapas repetitivas que produzem automação atrativa sempre que possível. Aqueles versados na técnica perceberão que peptídeos podem ser acoplados ao grupo Nα-amino do aminoácido ou peptídeo ligado de fase sólida em vez de um aminoácido individual, por exemplo, em que uma síntese de peptídeo convergente é desejada.

[982] Quando a sequência desejada de aminoácidos é atingida, o peptídeo é clivado do suporte de fase sólida na molécula ligante.

[983] SPPS pode ser atingida com o uso de um método de fluxo contínuo ou um método de fluxo a batelada. O fluxo contínuo permite monitoramento em tempo real do progresso da reação por meio de um espectrofotômetro, mas tem duas desvantagens distintas - os reagentes em contato com o peptídeo na resina são diluídos e a escala é mais limitada devido às restrições de tamanho físico da resina de fase sólida. O fluxo a batelada ocorre em um vaso de reação de filtro e é útil devido ao fato de que os reagentes são acessível e podem ser adicionados manual ou automaticamente.

[984] Dois tipos de grupos protetores são comumente úteis para proteger a terminação N-alfa-amino: "Boc" (terc-butiloxicarbonil) e "Fmoc" (9-fluorenilmetiloxicarbonil). Os reagentes para o método de Boc são relativamente não dispendiosos, mas são altamente corrosivos e exigem equipamento dispendioso e que precauções mais rigorosas sejam tomadas. O método de Fmoc, que usa reagentes menos corrosivos, embora mais dispendiosos, é tipicamente preferencial.

[985] Para SPPS, uma ampla variedade de fases de suporte sólido está disponível. O suporte de fase sólida usado para síntese pode ser uma resina sintética, um filme de polímero sintético ou uma superfície de silício ou silicato (por exemplo, vidro de poro controlado) adequado

para propósitos de síntese. De modo geral, uma resina é usada, comumente suspensões de poliestireno ou poliestireno-polietilenoglicol ou suportes de polímero, por exemplo, poliamida. Os exemplos de resinas funcionalizadas com ligantes adequados para química de Boc incluem resina PAM, resina de oxima SS, resina de fenol, resina de Wang brominada e resina de PPOA brominada. Os exemplos de resinas adequados para química de Fmoc incluem resinas de amino-metil poliestireno, resina AMPB-BHA, resina de amina Sieber, resina ácida Rink, resina Tentagel S AC, resina de cloreto de 2-clorotritila, resina de álcool 2-clorotritílico, resina TentaGel S Trt-OH, resina de Knorr-2-clorotritila, resina de hidrazina-2-clorotritila, resina ANP, resina fotolábil Fmoc, resina HMBA-MBHA, resina TentaGel S HMB, resina Aromatic Safety Catch resinBAI e resina de Fmoc-hidroxilamina 2 clorotritila. Outras resinas incluem resina PL Cl-Trt, resina PL-Oxima e resina PL-HMBA. De modo geral, as resinas são intercambiáveis.

[986] Para cada resina, as condições de acoplamento adequadas são conhecidas na literatura para a ligação do monômero de partida ou subunidade.

[987] A preparação do suporte de fase sólida inclui solvatar o suporte em um solvente adequado (por exemplo, dimetilformamida). A fase sólida tipicamente aumenta em volume durante a solvatação, que, por sua vez, aumenta a área superficial disponível para executar a síntese de peptídeo.

[988] Uma molécula ligante é, então, ligada ao suporte para conectar a cadeia de peptídeo ao suporte de fase sólida. As moléculas ligantes são, de modo geral, projetadas de modo que a clivagem eventual forneça um ácido livre ou amida na terminação C. Os ligantes são, de modo geral, não específicos para resina. Exemplos de ligantes incluem ácidos peptídicos, por exemplo, 4-hidroximetilfenoxiacetil-4'-metilbenzididrilamina (HMP), ou amidas de peptídeo, por exemplo,

derivados da benzidrilamina, ou o ligante hidroximetilfenoxipropionil (HMPP).

[989] O primeiro aminoácido da sequência de peptídeos pode ser ligado ao ligante após o ligante ser ligado ao suporte de fase sólida ou ligado ao suporte de fase sólida com o uso de um ligante que inclui o primeiro aminoácido da sequência de peptídeos. Os ligantes que incluem aminoácidos estão comercialmente disponíveis.

[990] A etapa seguinte é desproteger o grupo Nα-amino do primeiro aminoácido. Para SPPS de Fmoc, a desproteção do grupo Nα-amino pode ser executada com um tratamento de base branda (piperazina ou piperidina, por exemplo). Os grupos protetores de cadeia lateral podem ser removidos por acidólise moderada (ácido trifluoroacético (TFA), por exemplo). Para SPPS de Boc, a desproteção do grupo Nα-amino pode ser executada com o uso de, por exemplo, TFA.

[991] Após a desproteção, a extensão de cadeia de aminoácido, ou acoplamento, progride pela formação de ligações de peptídeo. Esse processo exige a ativação do grupo C-α-carboxila do aminoácido a ser acoplado. Isso pode ser realizado com o uso, por exemplo, de reagentes *in situ*, anidridos simétrico pré-formados, ésteres ativos, haletos ácidos ou N-carboxianidridos protegidos com uretano. O método *in situ* permite a ativação e o acoplamento concomitantes. Os reagentes de acoplamento incluem derivados de carbodiimida, por exemplo, N,N'-diciclo-hexilcarbodiimida ou N,N-di-isopropilcarbodiimida. Os reagentes de acoplamento também incluem derivados de sal de urônio ou fosfônio de benzotriazol. Os exemplos de tais sais de urônio e fosfônio incluem HBTU (hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurônio), BOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-óxi-tris-(dimetilamino)-fosfônio), PyBOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-óxi-tripirrolidinofosfônio), PyAOP, HCTU (hexafluorofosfato de O-(1H-6-

cloro-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio), TCTU (tetrafluoroborato de O-(1H-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio), HATU (hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio), TATU (tetrafluoroborato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio), TOTU (tetrafluoroborato de O-[ciano(etoxicarbonil)metilenoamino]-N,N,N',N″-tetrametilurônio) e HAPyU (hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)oxibis-(pirrolidino)-urônio. Em algumas modalidades, o reagente de acoplamento é HBTU, HATU, BOP ou PyBOP.

[992] Após a sequência de aminoácidos desejada ter sido sintetizada, o peptídeo é clivado da resina. As condições usadas nesse processo dependem da sensibilidade da composição de aminoácido do peptídeo e os grupos protetores de cadeia lateral. De modo geral, a clivagem é executada em um ambiente que contém uma pluralidade de agentes sequestrantes para suprimir os íons de carbônio reativos que se originam dos grupos protetores e ligantes. Os agentes de clivagem comuns incluem, por exemplo, TFA e fluoreto de hidrogênio (HF). Em algumas modalidades, nos casos em que o peptídeo é ligado ao suporte de fase sólida por meio de um ligante, a cadeia de peptídeo é clivada do suporte de fase sólida clivando-se o peptídeo do ligante.

[993] As condições usadas para clivar o peptídeo da resina podem concomitantemente remover um ou mais grupos protetores de cadeia lateral.

[994] O uso de grupos protetores em SPPS é bem estabelecido. Os exemplos de grupos protetores comuns incluem, porém, sem limitação, acetamidometila (Acm), acetila (Ac), adamantilóxi (AdaO), benzoíla (Bz), benzila (Bzl), 2-bromobenzila, benzilóxi (BzlO), benziloxicarbonila (Z), benziloximetila (Bom), 2-bromobenziloxicarbonila (2-Br-Z), terc-butóxi (tBuO), terc-butoxicarbonila (Boc), terc-butoximetila (Bum), terc-butila (tBu), terc-butiltio (tButio), 2-clorobenziloxicarbonila

(2-Cl-Z), ciclo-hexilóxi (cHxO), 2,6-diclorobenzila (2,6-DiCl-Bzl), 4,4'-dimetoxibenzidrila (Mbh), 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxo-ciclo-hexilideno)3-metil-butila (ivDde), 4-{N-[1-(4,4-dimetil-2,6-dioxo-ciclo-hexilideno)3-metilbutil]-amino)benzilóxi (ODmab), 2,4-dinitrofenila (Dnp), fluorenilmetoxicarbonila (Fmoc), formila (For), mesitileno-2-sulfonila (Mts), 4-metoxibenzila (MeOBzl), 4-metóxi-2,3,6-trimetil-benzenossulfonila (Mtr), 4-metoxitritila (Mmt), 4-metilbenzila (MeBzl), 4-metiltritila (Mtt), 3-nitro-2-piridinassulfenila (Npys), 2,2,4,6,7-pentametildi-hidrobenzofurano-5-sulfonila (Pbf), 2,2,5,7,8-pentametil-cromano-6-sulfonila (Pmc), tosila (Tos), trifluoroacetila (Tfa), trimetilacetamidometila (Tacm), tritila (Trt) e xantila (Xan).

[995] Nos casos em que uma ou mais das cadeias laterais dos aminoácidos do peptídeo contêm grupos funcionais, tais como, por exemplo, grupos adicionais carboxílicos, amino, hidróxi ou tiol, grupos protetores adicionais podem ser necessários. Por exemplo, se a estratégia de Fmoc for usada, Mtr, Pmc, Pbf podem ser usados para proteção de Arg; Trt, Tmob podem ser usados para a proteção de Asn e Gln; Boc pode ser usado para a proteção de Trp e Lys; tBu pode ser usado para a proteção de Asp, Glu, Ser, Thr e Tyr; e Acm, tBu, tButio, Trt e Mmt podem ser usados para a proteção de Cys. Uma pessoa versada na técnica perceberá que há inúmeras outras combinações adequadas.

[996] Os métodos para SPPS apresentados acima são bem conhecidos na técnica. Consultar, por exemplo, Atherton e Sheppard, "Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach", New York: IRL Press, 1989; Stewart e Young: "Solid-Phase Peptide Synthesis 2ª Edição," Rockford, Illinois: Pierce Chemical Co., 1984; Jones, "The Chemical Synthesis of Peptides", Oxford: Clarendon Press, 1994; Merrifield, *J. Am. Soc.* 85:2.146 a 2.149 (1963); Marglin, A. e Merrifield, R.B. *Annu. Rev. Biochem.* 39:841 a 866 (1970); e Merrifield R.B. JAMA.

210(7):1.247 a 1.254 (1969); e "Solid Phase Peptide Synthesis - A Practical Approach" (W.C. Chan e P.D. White, eds. Oxford University Press, 2000). O equipamento para síntese automatizada de peptídeos ou polipeptídeos está comercialmente disponível de modo fácil por fornecedores tais como Perkin Elmer/Applied Biosystems (Foster City, CA) e pode ser operado de acordo com as instruções do fabricante.

[997] Após a clivagem da resina, o peptídeo pode ser separado do meio de reação, por exemplo, por centrifugação ou filtração. O peptídeo pode ser, então, subsequentemente purificado, por exemplo, por HPLC, com o uso de um ou mais solventes adequados.

[998] Vantajosamente, os inventores concluíram que, em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo pode ser usado nos métodos da presente invenção sem purificação após a clivagem do peptídeo da resina.

[999] Os inventores também concluíram vantajosamente que, em algumas modalidades, o método de tioleno da presente invenção pode ser executado com o uso de um parceiro de conjugação contendo peptídeo, em que o peptídeo não contém um grupo protetor de grupo Nα-amido ou quaisquer grupos protetores de cadeia lateral. A reação é, de modo geral, seletiva para reação de um tiol e uma ligação dupla de carbono-carbono não aromática.

[1000] Pode ser necessário proteger os grupos tiol presentes no parceiro de conjugação contendo peptídeo (por exemplo, em resíduos de cisteína do peptídeo) com um grupo protetor para impedir reações de competição indesejáveis nos métodos da presente invenção. Os grupos tiol podem ser protegidos com um grupo protetor que não é removível sob as condições usadas para remover um ou mais outros grupos protetores presentes no peptídeo ou para clivar o peptídeo da resina.

[1001] Tipicamente, o peptídeo será sintetizado com o uso de

aminoácidos que portam os grupos protetores adequados. Uma pessoa versada na técnica será capaz de selecionar grupos protetores adequados sem experimento indesejado.

[1002] O parceiro de conjugação que compreende aminoácido e/ou parceiros de conjugação contendo lipídio podem compreender uma ou mais ligações de carbono-carbono insaturadas adicionalmente às ligações duplas de carbono-carbono dos parceiros de conjugação contendo lipídio a serem reagidos. Aqueles versados na técnica perceberão que a seletividade do tiol pela ligação dupla de carbono-carbono a ser reagida em tais modalidades pode depender, por exemplo, no ambiente estérico e/ou eletrônico da ligação dupla de carbono-carbono em relação às um ou mais ligações de carbono-carbono insaturadas adicionais. Em certas modalidades, as ligações duplas de carbono-carbono a serem reagidas são ativadas em relação a quaisquer outras ligações de carbono-carbono insaturadas no parceiro de conjugação que compreende aminoácido e no parceiro de conjugação que contém lipídio. Em certas modalidades, as ligações duplas de carbono-carbono a serem reagidas são ativadas em relação a quaisquer outras ligações de carbono-carbono insaturadas no parceiro de conjugação contendo peptídeo e no parceiro de conjugação que contém lipídio.

[1003] Em algumas modalidades, o grupo Nα-amino do aminoácido do parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende o tiol é acilado, por exemplo, acetilado. Em algumas modalidades, os métodos da presente invenção podem compreender acilar, por exemplo, acetilar, o grupo Nα-amino do aminoácido do parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende a ligação dupla de carbono-carbono ou tiol a ser reagida.

[1004] Nos casos em que um parceiro de conjugação contendo peptídeo foi sintetizado por SPPS, acilação pode ser executada antes

ou depois da clivagem da resina. Em algumas modalidades, o resíduo de aminoácido do parceiro de conjugação contendo peptídeo que porta o tiol a ser reagida é um resíduo de aminoácido N-terminal, por exemplo, cisteína, e o método compreende acilar o grupo amino N-terminal antes de clivar peptídeo.

[1005] Em algumas modalidades, o método compreende, ainda, acilar, por exemplo, acetilar, o grupo Nα-amino do aminoácido do conjugado de aminoácido ou do resíduo de aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas lipídio são conjugadas.

[1006] A acilação do grupo Nα-amino de um aminoácido pode ser executada reagindo-se um aminoácido ou peptídeo com um agente acilante na presença de base em um solvente adequado, por exemplo, DMF. Os exemplos não limitantes de agentes acilantes incluem haletos ácidos, por exemplo, cloretos ácidos, tal como cloreto de acetila, e anidridos ácidos, por exemplo, anidrido acético. Tais agentes estão comercialmente disponíveis e podem ser preparados por métodos conhecidos na técnica. Os exemplos não limitantes de bases adequadas incluem trietilamina, di-isopropiletilamina, 4-metilmorfolina e similares.

[1007] Em outras modalidades, a síntese do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende acoplar um aminoácido ou um peptídeo que compreende um aminoácido que é acilado, por exemplo, acetilado no grupo Nα-amino e compreende o tiol a ser reagido a um ou mais aminoácidos e/ou um ou mais peptídeos.

[1008] Em algumas modalidades, o método compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um aminoácido ou um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo. Em algumas modalidades, o método compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um aminoácido ou peptídeo ligado a um suporte de resina de fase sólida por SPPS. Em algumas modalidades,

o método compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um peptídeo ligado a um suporte de resina de fase sólida por SPPS. O método pode compreender sintetizar o peptídeo ligado ao suporte de resina de fase sólida por SPPS.

[1009] Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um peptídeo de modo a fornecer um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo. Em algumas modalidades, o peptídeo a ser acoplado compreende um epítopo de peptídeo. Em outras modalidades, um epítopo de peptídeo é formado em acoplamento. O acoplamento pode ser executado por SPPS conforme descrito no presente documento.

[1010] Em algumas modalidades, o método compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um peptídeo ligado a um suporte de resina de fase sólida por SPPS de modo a fornecer um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo.

[1011] Em uma modalidade, o peptídeo do conjugado de peptídeo a ser acoplado é ligado a um suporte de resina de fase sólida, e o método compreende acoplar um aminoácido do conjugado de peptídeo a ser acoplado a um aminoácido ou um peptídeo de modo a fornecer um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo.

[1012] Em uma modalidade alternativa, o método compreende acoplar um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou peptídeo ligado a um suporte de resina de fase sólida por SPPS de modo a fornecer o conjugado de peptídeo que compreende um peptídeo epítopo.

[1013] Em algumas modalidades, o método compreende, ainda, acoplar um epítopo, por exemplo, um peptídeo epítopo, ao conjugado de aminoácido ou conjugado de peptídeo. Nos casos em que o método

compreende acoplar um peptídeo epítopo, o acoplamento pode ser executado por SPPS conforme descrito no presente documento.

[1014] Em certas modalidades, o epítopo, por exemplo, um epítopo de peptídeo, é acoplado ou ligado por meio de um grupo ligante. Em certas modalidades, o grupo ligante é uma sequência de amino, por exemplo, uma sequência de dois ou mais, três ou mais ou quatro ou mais aminoácidos contíguos. Em certas modalidades, o ligante compreende de cerca de 2 a 20, 2 a 18, 2 a 16, 2 a 14, 2 a 12, 2 a 10, 4 a 20, 4 a 18, 4 a 16, 4 a 14, 4 a 12 ou 4 a 10 aminoácidos.

[1015] Será percebido por aqueles que são versados na técnica que acoplar um aminoácido ou um peptídeo a outro aminoácido ou peptídeo, conforme descrito no presente documento, pode compreender formar uma ligação de peptídeo entre o Nα-terminal do aminoácido ou um aminoácido do peptídeo de um parceiro de acoplamento e o C-terminal do aminoácido ou um aminoácido do peptídeo do outro parceiro de acoplamento.

[1016] Em algumas modalidades, o método da presente invenção compreende sintetizar a sequência de aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo por SPPS; e reagir o parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[1017] Em algumas modalidades, o método da presente invenção compreende sintetizar a sequência de aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo por SPPS; e reagir os parceiros de conjugação contendo lipídio com o parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[1018] Em algumas modalidades, sintetizar a sequência de aminoácidos do peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo por SPPS compreende acoplar um aminoácido ou peptídeo a um aminoácido ou peptídeo ligado a um suporte de resina de fase sólida para fornecer a sequência de aminoácidos do peptídeo ou uma porção

do mesmo. Em certas modalidades, a sequência de aminoácidos do peptídeo inteiro do parceiro de conjugação contendo peptídeo é sintetizada por SPPS.

[1019] O parceiro de conjugação contendo peptídeo pode ser reagido, por exemplo, com os parceiros de conjugação contendo lipídio no método de tioleno, enquanto ligados a um suporte de resina de fase sólida. Alternativamente, o peptídeo pode ser clivado do suporte de resina de fase sólida e, opcionalmente, purificado, antes da reação, por exemplo, com os parceiros de conjugação contendo lipídio.

[1020] O conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido, por exemplo, um parceiro de conjugação contendo peptídeo, podem compreender um ou mais grupos solubilizantes. O um ou mais grupos solubilizantes aumentam a solubilidade, por exemplo, do parceiro de conjugação contendo peptídeo em solventes polares, tal como água. Em modalidades exemplificativas, o grupo solubilizante não afeta adversamente a atividade biológica do conjugado de peptídeo.

[1021] A presença de um grupo solubilizante pode ser vantajosa para formulação e/ou administração do conjugado de peptídeo como uma composição farmacêutica.

[1022] Em algumas modalidades, o grupo solubilizante é ligado ao peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo. Em algumas modalidades, o grupo solubilizante é ligado ao peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo. Em algumas modalidades, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou o peptídeo do parceiro que contém peptídeo compreendem um grupo solubilizante. Em algumas modalidades, o peptídeo do parceiro que contém peptídeo compreende um grupo solubilizante.

[1023] Em algumas modalidades, o grupo solubilizante é ligado à cadeia lateral de um aminoácido na cadeia de peptídeo. Em algumas

modalidades, o grupo solubilizante é ligado ao C- ou N-terminal da cadeia de peptídeo. Em algumas modalidades, o grupo solubilizante é ligado entre dois resíduos de aminoácido na cadeia de peptídeo. Em algumas modalidades, o grupo solubilizante é ligado ao grupo Nα-amino de um resíduo de aminoácido na cadeia de peptídeo e o grupo carboxila de outro resíduo de aminoácido na cadeia de peptídeo.

[1024] Os exemplos de grupos solubilizantes adequados incluem, porém, sem limitação, sequências de aminoácidos hidrofílicas ou polietileno glicóis (PEGs).

[1025] Em uma modalidade, o grupo solubilizante é uma sequência de aminoácidos hidrofílica que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo. Em algumas modalidades, o grupo solubilizante é uma sequência de aminoácidos que compreende uma sequência de dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos consecutivos na cadeia de peptídeo. Tais grupos solubilizantes podem ser formados adicionando-se cada aminoácido do grupo solubilizante à cadeia de peptídeo por SPPS.

[1026] Em outra modalidade, o grupo solubilizante é um polietilenoglicol. Em algumas modalidades, o polietilenoglicol é ligado ao grupo Nα-amino de um resíduo de aminoácido na cadeia de peptídeo e o grupo carboxila de outro resíduo de aminoácido na cadeia de peptídeo.

[1027] Em algumas modalidades, o polietileno glicol compreende de cerca de 1 a cerca de 100, cerca de 1 a cerca de 50, cerca de 1 a cerca de 25, cerca de 1 a cerca de 20, cerca de 1 a cerca de 15, cerca de 1 a cerca de 15, cerca de 1 a cerca de 10, cerca de 2 a cerca de 10 ou cerca de 2 a cerca de 4 unidades monoméricas de etileno glicol. Os métodos para acoplar polietileno glicóis a peptídeos são conhecidos.

[1028] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um antígeno,

por exemplo, um peptídeo antigênico. Em uma modalidade, o peptídeo do conjugado de peptídeo ou parceiro de conjugação contendo peptídeo é ou compreende um antígeno; ou um antígeno é ligado ao peptídeo, opcionalmente, por meio de um ligante. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um antígeno, por exemplo, um peptídeo antigênico. Em uma modalidade, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo é ou compreende um antígeno; ou um antígeno é ligado ao peptídeo, opcionalmente, por meio de um ligante.

[1029] Em uma modalidade, o antígeno compreende um peptídeo que compreende um epítopo. Em uma modalidade, o peptídeo que compreende um epítopo é um glicopeptídeo que compreende um epítopo. Em uma modalidade, o antígeno compreende um glicopeptídeo que compreende um epítopo.

[1030] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo. Em algumas modalidades, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo. Em algumas modalidades, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo.

[1031] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende dois ou mais epítopos, por exemplo, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende dois ou mais epítopos.

[1032] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo é ou compreende um glicopeptídeo que compreende um epítopo. Em algumas modalidades, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação

contendo peptídeo é um glicopeptídeo. Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um glicopeptídeo que compreende um epítopo ligado ao peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo é ou compreende um glicopeptídeo que compreende um epítopo. Em algumas modalidades, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo é um glicopeptídeo. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um glicopeptídeo que compreende um epítopo ligado ao peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[1033] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um sítio de clivagem proteolítica. Em algumas modalidades, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um sítio de clivagem proteolítica. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um sítio de clivagem proteolítica. Em algumas modalidades, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um sítio de clivagem proteolítica.

[1034] Em algumas modalidades, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um ou mais grupos ligantes. Em algumas modalidades, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um ou mais grupos ligantes.

[1035] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um grupo ligante. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um grupo ligante.

[1036] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo e/ou

parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo ligado ao peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo por meio de um grupo ligante. Em algumas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo ligado ao peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo por meio de um grupo ligante.

[1037] Os exemplos de grupos ligantes incluem, porém, sem limitação, sequências de aminoácidos (por exemplo, um peptídeo), polietileno glicol, alquil aminoácidos e similares. Em algumas modalidades, o ligante é ou compreende um sítio de clivagem proteolítica. Em algumas modalidades, o ligante é ou compreende um grupo solubilizante.

[1038] Em algumas modalidades, o ligante é ligado entre dois resíduos de aminoácido na cadeia de peptídeo.

[1039] Em algumas modalidades, o grupo ligante é ligado ao grupo Nα-amino de um resíduo de aminoácido no conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo e o grupo carboxila de outro resíduo de aminoácido no parceiro de conjugação contendo peptídeo. Em algumas modalidades, o grupo ligante é ligado ao grupo Nα-amino de um resíduo de aminoácido no parceiro de conjugação contendo peptídeo e o grupo carboxila de outro resíduo de aminoácido no parceiro de conjugação contendo peptídeo.

[1040] Em certas modalidades, o grupo ligante é clivável *in vivo* dos aminoácidos aos quais está ligado. Em certas modalidades, o grupo ligante é clivável por hidrólise *in vivo*. Em certas modalidades, o grupo ligante é clivável por hidrólise enzimática *in vivo*. Os grupos ligantes podem ser introduzidos por qualquer método conhecido na técnica.

[1041] O método pode compreender, ainda, acoplar um epítopo ao aminoácido do conjugado de aminoácido ou o peptídeo do conjugado

de peptídeo. O epítopo pode estar ligado por meio de um grupo ligante, conforme descrito acima. Em algumas modalidades, o epítopo é um epítopo de peptídeo. Em algumas modalidades, o método compreende acoplar um glicopeptídeo que compreende um epítopo.

[1042] Será percebido que, em certas modalidades desejáveis, os conjugados de peptídeo da invenção mantêm absorção, processamento e apresentação adequados por células apresentadoras de antígeno. Desejavelmente, o conjugado que contém lipídio não interfere na apresentação de qualquer peptídeo antigênico presente no conjugado por células apresentadoras de antígeno.

[1043] A confirmação da identidade dos peptídeos sintetizados pode ser convenientemente atingida por, por exemplo, análise de aminoácido, espectrometria de massa, degradação de Edman e similares.

[1044] O método da presente invenção pode compreender, ainda, separar o conjugado de aminoácido do meio de reação líquido. Alternativamente, o método da presente invenção pode compreender, ainda, separar o conjugado de peptídeo do meio de reação líquido. Quaisquer métodos de separação conhecidos na técnica podem ser usados, por exemplo, precipitação e filtração. O conjugado pode ser subsequentemente purificado, por exemplo, por HPLC com o uso de um ou mais solventes adequados.

[1045] A presente invenção também se refere a conjugados de peptídeo produzidos pelos métodos da presente invenção.

[1046] Os conjugados de peptídeo podem ser puros ou purificados ou substancialmente puros.

[1047] Conforme usado no presente documento, "purificado" não exige pureza absoluta; em vez disso, é concebido como um termo relativo em que o material em questão é mais piro que no ambiente em que o mesmo estava anteriormente. Na prática, o material foi

tipicamente, por exemplo, submetido a fracionamento para remover vários outros componentes, e o material resultante manteve substancialmente sua atividade ou atividades biológicas desejadas. O termo "substancialmente purificado" refere-se a materiais que são pelo menos cerca de 60% isentos, de preferência, pelo menos cerca de 75% isentos e, com preferência máxima, pelo menos cerca de 90% isentos, pelo menos cerca de 95% isentos, pelo menos cerca de 98% isentos, ou mais, de outros componentes com os quais os mesmos estão associados durante a fabricação.

[1048] O termo "α-aminoácido" ou "aminoácido" se refere a uma molécula contendo tanto um grupo amino quanto um grupo carboxila ligados a um carbono que é designado como o α-carbono. Os aminoácidos adequados incluem, sem limitação, ambos os isômeros D e L dos aminoácidos de ocorrência natural, assim como aminoácidos de ocorrência não natural preparados por síntese orgânica ou outras vias metabólicas. A não ser que o contexto indique especificamente de outro modo, o termo aminoácido, conforme usado no presente documento, é concebido incluindo análogos de aminoácido.

[1049] Em certas modalidades, o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende apenas aminoácidos naturais. O termo "aminoácido de ocorrência natural" se refere a qualquer um dos vinte aminoácidos comumente encontrados em peptídeos sintetizados na natureza e conhecidos pelas abreviações de uma letra A, R, N, C, D, Q, E, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y e V.

[1050] O termo "análogo de aminoácido" ou "aminoácido de ocorrência não natural" se refere a uma molécula que é estruturalmente similar a um aminoácido e que pode ser substituída por um aminoácido. Os análogos de aminoácido incluem, sem limitação, compostos que são estruturalmente idênticos a um aminoácido, conforme definido no presente documento, exceto pela inclusão de um ou mais grupos

metileno adicionais entre o grupo amino e carboxila (por exemplo, ácidos a-amino β-carbóxi), ou pela substituição do grupo amino ou carbóxi por um grupo similarmente reativo (por exemplo, substituição da amina primária por uma amina secundária ou terciária, ou substituição ou o grupo carbóxi por um éster ou carboxamida).

[1051] A não ser que indicado de outro modo, as técnicas convencionais de biologia molecular, microbiologia, biologia celular, bioquímica e imunologia, que estão dentro da habilidade da técnica, podem ser empregadas na prática dos métodos descritos no presente documento. Tais técnicas são explicadas completamente na literatura, tal como Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edição (Sambrook *et al*., 1989); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir & C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller & M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel *et al*., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis *et al*., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan *et al*., eds., 1991); The Immunoassay Handbook (David Wild, ed., Stockton Press NY, 1994); Antibodies: A Laboratory Manual (Harlow *et al*., eds., 1987); e Methods of Immunological Analysis (R. Masseyeff, W.H. Albert, e N.A. Staines, eds., Weinheim: VCH Verlags gesellschaft mbH, 1993).

[1052] O termo "peptídeo" e similares é usado no presente documento para referência a qualquer polímero de resíduos de aminoácido de qualquer comprimento. O polímero pode ser linear ou não linear (por exemplo, ramificado), pode compreender aminoácidos modificados ou análogos de aminoácido. O termo também abrange polímeros de aminoácido que foram modificados naturalmente ou por intervenção, por exemplo, por formação de ligação de dissulfeto, glicosilação, lipidação, acetilação, fosforilação ou qualquer outra

modificação ou manipulação, por exemplo, conjugação com componentes de identificação ou bioativos.

[1053] Os inventores revelaram que os conjugados de peptídeo da presente invenção têm atividade imunológica.

[1054] A imunidade mediada por células é principalmente mediada por linfócitos T. Os antígenos patogênicos são expressos na superfície de células apresentadoras de antígeno (tais como macrófagos, linfócitos B e células dendríticas) ligadas a moléculas de MHC Classe I ou MHC Classe II de histocompatibilidade maior. A apresentação de antígeno patogênico acoplado a MHC Classe II ativa uma resposta de célula T auxiliar (CD4+). Mediante ligação da célula T ao complexo de antígeno-MHC II, as células T CD4+ liberam citocinas e proliferam.

[1055] A apresentação de antígenos patogênicos ligados a moléculas de MHC Classe I ativa uma resposta de célula T citotóxica (CD8+). Mediante ligação da célula T ao complexo de antígeno-MHC I, as células CD8+ secretam perforina e outros mediadores, resultando na morte de célula alvo. Sem se ater a qualquer teoria, os requerentes acreditam que, em certas modalidades, uma resposta intensificada por células CD8+ é atingida na presença de um ou mais epítopos reconhecidos por células CD4+.

[1056] Os métodos para avaliar e monitorar o início ou a progressão de uma resposta mediada por células em um indivíduo são bem conhecidos na técnica. Os métodos exemplificativos convenientes incluem aqueles em que a presença ou o nível de uma ou mais citocinas associadas a uma resposta mediada por células, tais como aquelas identificadas no presente documento, é avaliado. Similarmente, os métodos baseados em célula para avaliar ou monitorar o início ou a progressão de uma resposta mediada por células são passíveis de uso na presente invenção e podem incluir ensaios de ativação e proliferação celular, incluindo ensaios direcionados a identificar a ativação e a

expansão de uma ou mais populações de células imunes, tais como linfócitos T.

[1057] Em certas modalidades, os métodos da invenção produzem tanto uma resposta imunológica mediada por células como uma resposta humoral.

[1058] A resposta imunológica humoral é mediada por anticorpos secretados produzidos por células B. Os anticorpos secretados se ligam a antígenos apresentados na superfície de patógenos invasores, marcando os mesmos para destruição.

[1059] Novamente, os métodos para avaliar e monitorar o início ou a progressão de uma resposta humoral são bem conhecidos na técnica. Os mesmos incluem ensaios de ligação a anticorpo, ELISA, testes de punção cutânea e similares.

[1060] Sem o desejo de se vincular à teoria, os inventores acreditam que os conjugados de peptídeo, em algumas modalidades, estimulam os receptores do tipo Toll (TLRs).

[1061] Os receptores do tipo Toll (TLRs) são receptores de reconhecimento de padrão altamente conservados (PRRs) que reconhecem padrões moleculares associados a patógeno e transmitem sinais de perigo para a célula (Kawai, T., Akira, S., *Immunity* **2011,** *34*, 637 a 650). TLR2 é um receptor de superfície celular expresso em uma gama de tipos de célula diferentes, incluem células dendríticas, macrófagos e linfócitos (Coffman, R. L., Sher, A., Seder, R. A., *Immunity* **2010,** *33,* 492 a 503).

[1062] TLR2 reconhece uma ampla gama de componentes microbianos, incluindo lipopolissacarídeos, peptidoglicanos e ácido lipoteicoico. Esse é exclusivo entre os TLRs pelo fato de que forma heterodímeros, com TLR1 ou TLR6; a capacidade de formar complexos com outros PRRs pode explicar a ampla gama de agonistas para TLR2 (Feldmann, M., Steinman, L., *Nature* **2005,** *435*, 612 a 619). Mediante

ligação de ligante e heterodimerização, ocorre a sinalização por meio da trajetória de MyD88, levando à ativação de NFκB e consequente produção de citocinas inflamatórias e efetoras.

[1063] Os lipopeptídeos di e triacilados derivados de componentes de parede de células bacterianas foram extensivamente estudados como agonistas de TLR2 (Eriksson, E. M. Y., Jackson, D. C., *Curr. Prot. and Pept. Sci.* **2007,** *8*, 412 a 417). Relatou-se que os lipopeptídeos promovem a maturação de células dendríticas, causando a regulação crescente de moléculas coestimulatórias na superfície celular e apresentação de antígeno intensificada. Relatou-se também que os causando estimulam macrófagos para liberar citocinas e promovem a ativação de linfócitos, incluindo células B e células T CD8+.

[1064] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2. *S*-(2,3-bis(palmitoiloxi)-(2*RS*)-propil)-N-palmitoil-(R-)-Cys-Lys-Lys-Lys-Lys-OH (Pam3CSK4) é um potente agonista de TLR2 e pode ser selecionado como referência contra a qual o agonismo de TLR2 dos compostos conjugados de peptídeo da invenção pode ser comparado. Em algumas modalidades, o conjugado peptídico tem uma potência agonista de TLR2 de 1.000, 100 ou 10 vezes menos do que a potência de Pam3CSK4 a 1.000, 100 ou 10 vezes mais do que a potência de Pam3CSK4. Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2 comparável a Pam3CSK4. Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2 pelo menos cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 90% aquela de Pam3CSK4. Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2 maior do que a de Pam3CSK4. Por exemplo, em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2 maior do que 100%, 150%, 200% ou 500%. Em outras modalidades, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de

TLR2 10 vezes ou 100 vezes maior do que a de Pam3CSK4. Em algumas modalidades, por exemplo, em modalidades em que uma resposta imunológica modulada é desejável, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2 menor do que aquela de Pam3CSK4. Por exemplo, o conjugado de peptídeo tem atividade de agonista de TLR2 menor do que cerca de 50%, menor do que cerca de 40%, menor do que cerca de 30%, menor do que cerca de 20%, menor do que cerca de 10%, menor do que cerca de 1% ou menor do que 0,1 % do Pam3CSK4.

[1065] Em algumas modalidades, a atividade de agonista de TLR2 é determinada como o uso de um ensaio de células Hek-Blue™ (por exemplo, seguindo-se um procedimento análogo ao descrito nos Exemplos do presente documento).

[1066] Em algumas modalidades, o TLR2 é TLR2 murino ou TLR2 humano. Em certas modalidades exemplificativas, o TLR2 (mTLR2) é TLR2 humano (hTLR2).

[1067] Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem um EC_{50} para agonismo de TLR2 (preferencialmente hTLR2) inferior a cerca de 500 nM, como determinado com o uso de um ensaio de células HEK-Blue™ (por exemplo, seguindo-se um procedimento análogo ao descrito nos Exemplos do presente documento), por exemplo, menos do que cerca de 400, 300, 250, 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, 20, 15, 10, 5, 4, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,9 , 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 ou 0,1 nM e intervalos úteis podem ser selecionados a partir de quaisquer dois desses valores, por exemplo, de cerca de 0,1 nM a 500 nM, 0,1 nM a 150 nM ou 0,1 nM a 10 nM. Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo tem um EC_{50} para agonismo de TLR2 (preferencialmente hTLR2) de pelo menos cerca de 0,01 nM, como determinado com o uso de um ensaio de células HEK-Blue™ (por exemplo, seguindo-se um procedimento análogo ao descrito nos exemplos do presente

documento), por exemplo, pelo menos 0,05, 0,1, 0,5, 1, 1,5 ou 2 nM, e intervalos úteis podem ser selecionados a partir de quaisquer dois desses valores, por exemplo, de cerca de 0,01 nM a 2 nM, 0,01 nM a 1,5 nM ou 0,01 nM a 1 nM. Em algumas modalidades, o peptídeo do conjugado de peptídeo e/ou parceiro de conjugação contendo peptídeo compreendem um resíduo de aminoácido serina adjacente ao aminoácido através do qual as porções químicas de lipídio são conjugadas ao peptídeo. Em algumas modalidades, a serina está ligada às terminações C do aminoácido. A presença do resíduo de aminoácido serina em sua posição pode intensificar a ligação de TLR2.

[1068] Conforme será percebido por aqueles que são versados na técnica na leitura desta revelação, o conjugado de peptídeo pode compreender um epítopo, incluindo, por exemplo, dois ou mais epítopos. O epítopo pode ser acoplado ou ligado ao peptídeo por meio de um grupo ligante. Em algumas modalidades, o epítopo é um epítopo de peptídeo. Um versado na técnica perceberá que uma ampla gama de epítopos de peptídeo pode ser empregada na presente invenção.

Antígenos

[1069] Será percebido que muitos antígenos, por exemplo, antígenos tumorais ou antígenos de vários organismos patogênicos, foram caracterizados e são adequados para uso na presente invenção. Todos os antígenos, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

[1070] Consequentemente, dependendo da escolha de antígeno, os conjugados da presente invenção encontram aplicação em uma ampla gama de imunoterapias, incluindo, porém sem limitação, o tratamento e a prevenção de doença infecciosa, o tratamento e a prevenção de câncer, e o tratamento de reativação viral durante ou após a imunossupressão, por exemplo, em pacientes que passaram por

transplantes de medula óssea ou transplantes de células-tronco hematopoiéticas.

[1071] São também contemplados antígenos que compreendem uma ou mais substituições de aminoácidos, tais como uma ou mais substituições de aminoácidos conservativas.

[1072] Uma "substituição de aminoácido conservativa" é aquela em que um resíduo de aminoácido é substituído por outro resíduo que tem uma cadeia lateral quimicamente similar ou derivada. As famílias de resíduos de aminoácidos que têm cadeias laterais similares, por exemplo, foram definidas na técnica. Essas famílias incluem aminoácidos com cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais ácidas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares não carregadas (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadeias laterais não polares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais beta-ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina). Os análogos de aminoácido (por exemplo, aminoácidos fosforilados ou glicosilados) são também contemplados na presente invenção, assim como peptídeos substituídos por aminoácidos de ocorrência não natural, incluindo, porém, sem limitação, aminoácidos N-alquilados (por exemplo, N-metil aminoácidos), D-aminoácidos, β-aminoácidos e γ-aminoácidos.

[1073] Os fragmentos e as variantes de antígenos são também especificamente contemplados.

[1074] Um "fragmento" de um peptídeo é uma subsequência do peptídeo que realiza uma função que é exigida para a atividade de ligação ou enzimática e/ou fornece uma estrutura tridimensional do peptídeo, tal como a estrutura tridimensional de um polipeptídeo.

[1075] O termo "variante", conforme usado no presente documento, refere-se a sequências de peptídeos, incluindo, por exemplo, sequências de peptídeos diferentes das sequências especificamente identificadas, em que um ou mais resíduos de aminoácido são deletados, substituídos ou adicionados. As variantes são variantes de ocorrência natural ou variantes de ocorrência não natural. As variantes são da mesma espécie ou de outras espécies e podem abranger homólogos, parálogos ou ortólogos. Em certas modalidades, variantes de peptídeos, incluindo peptídeos, possuem atividades biológicas que são iguais ou similares àquelas dos peptídeos do tipo selvagem. O termo "variante" em referência a peptídeos abrange todas as formas de peptídeos conforme definido no presente documento.

[1076] Aqueles versados na técnica perceberão que os conjugados da presente invenção são, em certas modalidades, particularmente adequados para estimular respostas de célula T, por exemplo, no tratamento de doenças neoplásicas, incluindo câncer. Os conjugados da presente invenção que compreendem um ou mais antígenos tumorais são especificamente contemplados. Será percebido que os antígenos tumorais contemplados para uso na preparação de conjugados de peptídeo da invenção compreenderão, de modo geral, um ou mais peptídeos. Em certas modalidades da invenção, incluindo, por exemplo, composições farmacêuticas da invenção, um ou mais antígenos tumorais adicionais podem estar presentes, em que o um ou mais antígenos tumorais não compreendem peptídeo. Os antígenos tumorais são tipicamente classificados como antígenos exclusivos ou antígenos compartilhados, com o último grupo incluindo antígenos de diferenciação, antígenos específicos para câncer e antígenos superexpressos. Os exemplos de cada classe de antígenos são passíveis de uso na presente invenção. Os antígenos tumorais representativos para uso no tratamento, por exemplo, tratamento

imunoterapêutico ou vacinação contra doenças neoplásicas, incluindo câncer, são discutidos abaixo. Compostos, vacinas e composições que compreendem um ou mais antígenos preparados com o uso desses métodos de imunização são especificamente contemplados.

[1077] Em certas modalidades, o antígeno tumoral é um antígeno tumoral contendo peptídeo, tal como um antígeno tumoral de polipeptídeo ou antígenos tumorais de glicoproteína. Em certas modalidades, o antígeno tumoral é um antígeno tumoral contendo sacarídeo, tal como um antígeno tumoral de glicolipídio ou um antígeno tumoral de gangliosídeo. Em certas modalidades, o antígeno tumoral é um antígeno tumoral contendo polinucleotídeo que expressa um antígeno tumoral contendo polipeptídeo, por exemplo, um construto de vetor de RNA ou um construto de vetor de DNA, tal como DNA plasmídeo.

[1078] Os antígenos tumorais adequados para uso na presente invenção abrangem uma ampla variedade de moléculas, tal como (a) antígenos tumorais que contêm peptídeo, incluindo epítopos de peptídeo (que podem estar na faixa de, por exemplo, de 8 a 20 aminoácidos de comprimento, embora comprimentos fora dessa faixa também sejam comuns), lipopolipeptídeos e glicoproteínas, (b) antígenos tumorais contendo sacarídeo, incluindo polissacarídeos, mucinas, gangliosídeos, glicolipídios e glicoproteínas, incluindo e (c) polinucleotídeos que expressam polipeptídeos antigênicos. Novamente, aqueles que são versados na técnica perceberão que um antígeno tumoral presente em um conjugado ou composição da presente invenção compreenderá tipicamente peptídeo. Entretanto, as modalidades da invenção em que um ou mais conjugados compreendem um antígeno tumoral que não compreende o próprio um peptídeo, mas, por exemplo, está ligado ao parceiro de conjugação contendo peptídeo ou que compreende aminoácido, são contempladas.

Similarmente, as composições da invenção em que um ou mais antígenos tumorais que não compreendem os próprios um peptídeo estão presentes são contempladas.

[1079] Em certas modalidades, os antígenos tumorais são, por exemplo, (a) moléculas de comprimento completo associadas a células cancerosas, (b) homólogos e formas modificadas das mesmas, incluindo moléculas com porções deletadas, adicionadas e/ou substituídas, e (c) fragmentos do mesmo, contanto que tais fragmentos permaneçam antigênicos ou imunogênicos. Em certas modalidades, os antígenos tumorais são fornecidos em forma recombinante. Em certas modalidades, os antígenos tumorais incluem, por exemplo, antígenos restritos à classe I reconhecidos por linfócitos CD8+ ou antígenos restritos à classe II reconhecidos por linfócitos CD4+. Em certas modalidades, os antígenos tumorais incluem peptídeos sintéticos que compreendem antígenos restritos à classe I reconhecidos por linfócitos CD8+ ou antígenos restritos à classe II reconhecidos por linfócitos CD4+.

[1080] Os antígenos tumorais compartilhados são, de modo geral, considerados como sendo sequências nativas e sem mutação que são expressas por tumores devido às alterações epigenéticas que permitem a desrepressão de genes reprimidos no desenvolvimento. De modo correspondente, os antígenos compartilhados são tipicamente considerados preferenciais para antígenos superexpressos ou associados à diferenciação devido ao fato de que não há expressão em tecidos normais. Além disso, os mesmos antígenos podem ser direcionados em diversos pacientes com câncer. Por exemplo, o antígeno de câncer do testículo NY-ESO-1 está presente na maioria dos pacientes com muitos tumores, e uma minoria considerável de pacientes com outros tumores. Em outro exemplo, os antígenos tumorais de diferenciação de mama NYBR-1 e NYBR-1.1 são

encontrados em uma proporção de pessoas que sofrem de câncer de mama. Os antígenos tumorais compartilhados, assim, representam um alvo atrativo para desenvolvimento.

[1081] O uso de antígenos tumorais compartilhados, tais como antígenos de câncer de testículo, incluindo NY-ESO-1, CTSP-1, CTSP-2, CTSP-3, CTSP-4, SSX2 e SCP1, e antígenos de câncer de mama NYBR-1 e NYBR-1.1, em conjugados da presente invenção, é especificamente contemplado no presente documento.

[1082] Em uma modalidade exemplificativa, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo ou do conjugado de peptídeo, compreende um ou mais epítopos derivados de NY-ESO-1. Em uma modalidade, o peptídeo compreende um ou mais epítopos derivados de resíduos 79 a 116 de NY-ESO-1. Em uma modalidade, o peptídeo compreende um ou mais epítopos derivados de resíduos 118 a 143 de NY-ESO-1. Em uma modalidade, o peptídeo compreende um ou mais epítopos derivados de resíduos 153 a 180 de NY-ESO-1.

[1083] Em uma modalidade especificamente contemplada, o peptídeo do parceiro de conjugação contendo peptídeo ou do conjugado de peptídeo, compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em 8 ou mais aminoácidos contíguos, 10 ou mais aminoácidos contíguos, 12 ou mais aminoácidos contíguos, 15 ou mais aminoácidos contíguos, 20 ou mais aminoácidos contíguos ou 25 ou mais aminoácidos contíguos de qualquer uma das SEQ ID Nºs: 9 a 28.

[1084] Em várias modalidades, o peptídeo compreende mais de uma sequência de aminoácidos selecionada a partir do grupo que consiste em qualquer uma das SEQ ID Nºs: 9 a 28. Em uma modalidade, o peptídeo compreende uma ou mais sequências de aminoácidos selecionadas a partir do grupo que consiste em SEQ ID Nºs: 12 a 15, 20, 21, e 26 a 28.

[1085] Similarmente, a vacina de próstata Sipuleucel-T (APC8015, Provenge™), que compreende o antígeno ácido prostático fosfatase (PAP), está presente em 95% de células de câncer de próstata. Pelo menos em parte devido a seu potencial para eficácia em uma proporção significativa de pessoas que sofrem de câncer de próstata, Sipuleucel-T foi aprovado pelo FDA em 2010 para uso no tratamento de câncer de próstata assintomático, refratário a hormônio. O uso de antígeno PAP em conjugados da presente invenção é especificamente contemplado na presente invenção.

[1086] Os antígenos exclusivos são considerados como sendo aqueles antígenos que são exclusivos para um indivíduo ou são compartilhados por uma pequena proporção de pacientes com câncer e tipicamente resultam de mutações que levam a sequências de proteínas exclusivas. Os exemplos representativos de antígenos tumorais exclusivos incluem antígenos de Ras com mutação e antígenos p53 com mutação. Conforme será percebido por aqueles que são versados na técnica que leram este relatório descritivo, os métodos da presente invenção possibilitam a pronta preparação de conjugados que compreendem um ou mais antígenos tumorais exclusivos, por exemplo, para estimular respostas de célula T específicas para um ou mais antígenos tumorais exclusivos, por exemplo, na preparação de terapias específicas para paciente.

[1087] Consequentemente, os antígenos tumorais representativos incluem, porém, sem limitação, (a) antígenos, tais como polipeptídeos da família RAGE, BAGE, GAGE e MAGE, por exemplo, GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6 e MAGE-12 (que podem ser usados, por exemplo, para tratar melanoma, tumores de pulmão, cabeça e pescoço, NSCLC, mama, gastrointestinais, e da bexiga), (b) antígenos com mutação, por exemplo, p53 (associados a vários tumores sólidos, por exemplo,

câncer colorretal, pulmão, cabeça e pescoço), p21/Ras (associado a, por exemplo, melanoma, câncer pancreático e câncer colorretal), CDK4 (associado a, por exemplo, melanoma), MUM1 (associado a, por exemplo, melanoma), caspase-8 (associado a, por exemplo, câncer de cabeça e pescoço), CIA 0205 (associado a, por exemplo, câncer de bexiga), HLA-A2-R1701, beta catenina (associada a, por exemplo, melanoma), TCR (associado a, por exemplo, linfoma não Hodgkins de célula T), BCR-abl (associado a, por exemplo, leucemia mieloide crônica), triosefosfato isomerase, MA 0205, CDC-27 e LDLR-FUT, (c) antígenos superexpressos, por exemplo, Galectina 4 (associada a, por exemplo, câncer colorretal), Galectina 9 (associada a, por exemplo, doença de Hodgkin), proteinase 3 (associada a, por exemplo, leucemia mieloide crônica), antígeno tumoral-1 de Wilm's (WT 1, associado a, por exemplo, várias leucemias), anidrase carbônica (associada a, por exemplo, câncer renal), aldolase A (associada a, por exemplo, câncer de pulmão), PRAME (associado a, por exemplo, melanoma), HER-2/neu (associado a, por exemplo, câncer de mama, cólon, pulmão e ovário), alfa-fetoproteína (associada a, por exemplo, hepatoma), KSA (associada a, por exemplo, câncer colorretal), gastrina (associada a, por exemplo, câncer pancreático e gástrico), proteína catalítica de telomerase, MUC-1 (associada a, por exemplo, câncer de mama e ovário), G-250 (associado a, por exemplo, carcinoma de célula renal), p53 (associado a, por exemplo, câncer de mama, cólon), e antígeno carcinoembrionário (associado a, por exemplo, câncer de mama, câncer de pulmão, e cânceres do trato gastrointestinal, tal como câncer colorretal), (d) antígenos compartilhados, por exemplo, antígenos de diferenciação de melanócito de melanoma, tal como MART-1/Melan A, gp100, MC1R, receptor de hormônio de estimulação de melanócito, tirosinase, proteína 1 relacionada a tirosinase/TRP1 e proteína 2 relacionada a tirosinase/TRP2 (associada a, por exemplo, melanoma),

(e) antígenos associados à próstata, tal como PAP, antígeno sérico prostático (PSA), PSMA, PSH-P1, PSM-P1, PSM-P2, associado a, por exemplo, câncer de próstata, (f) idiotipos de imunoglobulina (associados a mieloma e linfomas de célula B, por exemplo), e (g) outros antígenos tumorais, tais como antígenos que contém polipeptídeo e sacarídeo, incluindo (i) glicoproteínas, tal como sialil Tn e sialil Le.sup.x (associadas a, por exemplo, câncer de mama e colorretal) assim como várias mucinas; glicoproteínas são acopladas a uma proteína carreadora (por exemplo, MUC-1 são acoplados a KLH); (ii) lipopolipeptídeos (por exemplo, MUC-1 ligado a uma porção química de lipídio); (iii) polissacarídeos (por exemplo, hexassacarídeo sintético Globo H), que são acoplados a proteínas carreadoras (por exemplo, a KLH), (iv) gangliosídeos, tal como GM2, GM12, GD2, GD3 (associados a, por exemplo, câncer de cérebro, pulmão, melanoma), que também são acoplados a proteínas carreadoras (por exemplo, KLH).

[1088] Outros antígenos tumorais representativos passíveis de uso na presente invenção incluem TAG-72, (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 5.892.020; antígeno de carcinoma humano (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 5.808.005); antígenos TP1 e TP3 de células de osteocarcinoma (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 5.855.866); antígeno de Thomsen-Friedenreich (TF) de células de adenocarcinoma (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 5.110.911); antígeno KC-4 de adenocarcinoma de próstata humano (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.743.543); um antígeno de câncer colorretal (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.921.789); antígeno CA125 de cistadenocarcinoma (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.921.790); antígeno DF3 de adenocarcinoma de carcinoma de mama humano (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.963.484 e 5.053.489); um antígeno tumoral de mama humano (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.939.240); antígeno p97 de

melanoma humano (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.918.164); carcinoma ou antígeno relacionado a orosomucoide (CORA) (Consultar, por exemplo, a Patente Nº U.S. 4.914.021); haptenos T e Tn em glicoproteínas de carcinoma de mama humano, glicoproteína de carcinoma de mama MSA; antígeno de carcinoma de mama MFGM; antígeno de carcinoma pancreático DU-PAN-2; antígeno de carcinoma de ovário CA125; antígeno de carcinoma de pulmão YH206, Alfafetoproteína (AFP), antígeno de carcinoma hepatocelular; antígeno carcinoembrionário (CEA); antígeno de câncer intestinal; antígeno tumoral epitelial (ETA); antígeno de câncer de mama; Tirosinase; o produto de oncogene raf; gp75; gp100; EBV-LMP 1 & 2; EBV-EBNA 1, 2 & 3C; HPV-E4, 6, 7; CO17-1A; GA733; gp72; p53; proteinase 3; telomerase; e gangliosídeos de melanoma. Esses e outros antígenos tumorais, sejam ou não caracterizados no presente documento, são contemplados para uso na presente invenção.

[1089] Em certas modalidades, os antígenos tumorais são derivados de componentes celulares com mutação ou alterados. Os exemplos representativos de componentes celulares alterados incluem, porém, sem limitação, ras, p53, Rb, proteína alterada codificada pelo gene do tumor de Wilms, ubiquitina, mucina, proteína codificada pelos genes de DCC, APC e MCC, assim como receptores ou estruturas similares a receptor, tal como neu, receptor de hormônio da tireoide, receptor de fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF), receptor de insulina, receptor de fator de crescimento epidérmico (EGF) e o receptor de fator de estimulação de colônia (CSF).

[1090] Os antígenos contendo polinucleotídeo usados na presente invenção incluem polinucleotídeos que codificam antígenos tumorais de polipeptídeo, tais como aqueles listados acima. Em certas modalidades, os antígenos contendo polinucleotídeo incluem, porém, sem limitação, construtos de vetor de DNA ou RNA, tais como vetores plasmídeos (por

exemplo, pCMV), que têm capacidade de expressar antígenos tumorais de polipeptídeo *in vivo*.

[1091] A presente invenção também contempla a preparação de conjugados que compreendem antígenos virais que têm capacidade de estimular a célula T a produzir imunidade antiviral eficaz em pacientes que são ou foram imunossuprimidos, por exemplo, pacientes que passaram por transplantes de medula óssea, transplantes de células-tronco hematopoiéticas, ou estão passando de outro modo por imunossupressão.

[1092] Similarmente, antígenos derivados de vírus associados à incidência aumentada de câncer, ou que são relatados como sendo causadores de câncer, tal como papilomavírus humano, vírus da hepatite A e vírus da hepatite B, são contemplados para uso na presente invenção.

[1093] Por exemplo, em certas modalidades, os antígenos tumorais incluem, porém, sem limitação, p15, Hom/Mel-40, H-Ras, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, antígenos de vírus Epstein-Barr, antígenos de papilomavírus humano (HPV), incluindo E6 e E7, antígenos de vírus da hepatite B e C, antígenos do vírus linfotrópico de célula T humana, TSP-180, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, mn-23H1, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, p16, TAGE, PSCA, CT7, 43-9F, 5T4, 791 Tgp72, beta-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\KP1, CO-029, FGF-5, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90 (proteína de ligação de Mac-2\proteína associada a ciclofilina C), TAAL6, TAG72, TLP, TPS e similares.

[1094] Em certas modalidades, os antígenos tumorais incluem proteínas virais implicadas em oncogênese, tais como antígenos de vírus Epstein Barr, papilomavírus humano (HPV), incluindo E6 e E7, e hepatite B e C, e vírus linfotrópico de célula T humano.

[1095] Será percebido que tais proteínas virais, assim como várias outras proteínas virais, podem também ser alvos para a atividade de células T, por exemplo, no tratamento contra doença viral. De fato, a presente invenção pode ser útil em qualquer infecção em que se sabe que a atividade de células T exerce um papel na imunidade (efetivamente todas as infecções virais e muitas infecções bacterianas também, tal como tuberculose). As doenças infecciosas descritas no presente documento são fornecidas a título de exemplo apenas e não pretendem de nenhuma forma limitar o escopo da invenção. Será percebido que a presente invenção pode ser útil no tratamento de várias outras doenças e afecções.

[1096] Os antígenos representativos para uso na vacinação contra organismos patogênicos são discutidos abaixo. Compostos, vacinas e composições que compreendem um ou mais antígenos preparados com o uso desses métodos de imunização são especificamente contemplados.

Antígenos de Tuberculose

[1097] Será percebido que muitos antígenos de *M. tuberculosis* foram caracterizados e são adequados para uso na presente invenção. Todos os antígenos de *M. tuberculosis*, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade para suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

[1098] Os antígenos de *M. tuberculosis* exemplificativos adequados para uso incluem alvo antigênico secretório precoce (ESAT) -6, Ag85A, Ag85B (MPT59), Ag85B, Ag85C, MPT32, MPT51, MPT59, MPT63, MPT64, MPT83, MPB5, MPB59, MPB64, MTC28, Mtb2, Mtb8.4, Mtb9.9, Mtb32A, Mtb39, Mtb41, TB10.4, TB10C, TB11B, TB12.5, TB13A, TB14, TB15, TB15A, TB16, TB16A, TB17, TB18, TB21, TB20.6, TB24, TB27B, TB32, TB32A, TB33, TB38, TB40.8, TB51, TB54, TB64, CFP6, CFP7, CFP7A, CFP7B, CFP8A, CFP8B, CFP9, CFP10, CFP11, CFP16,

CFP17, CFP19, CFP19A, CFP19B, CFP20, CFP21, CFP22, CFP22A, CFP23, CFP23A, CFP23B, CFP25, CFP25A, CFP27, CFP28, CFP28B, CFP29, CFP30A, CFP30B, CFP50, CWP32, hspX (alfa-cristalino), APA, derivado de proteína purificada Tuberculina (PPD), ST-CF, PPE68, LppX, PstS-1, PstS-2, PstS-3, HBHA, GroEL, GroEL2, GrpES, LHP, lipoproteína 19 kDa, 71 kDa, RD1-ORF2, RD1-ORF3, RD1-ORF4, RD1-ORF5, RD1-ORF8, RD1-ORF9A, RD1-ORF9B, Rv1984c, Rv0577, Rv1827, BfrB, Tpx. Rv1352, Rv1810, PpiA, Cut2, FbpB, FbpA, FbpC, DnaK, FecB, Ssb, RplL, FixA, FixB, AhpC2, Rv2626c, Rv1211, Mdh, Rv1626, Adk, ClpP, SucD (Belisle et al, 2005; US 7.037.510; US 2004/0057963; US 2008/0199493; US 2008/0267990), ou pelo menos uma porção antigênica ou epítopo de célula T de qualquer um dos antígenos mencionados acima.

Antígenos de Hepatite

[1099] Diversos antígenos de hepatite foram caracterizados e são adequados para uso na presente invenção. Os antígenos de hepatite C exemplificativos incluem C – p22, E1 – gp35, E2 - gp70, NS1 – p7, NS2 – p23, NS3 – p70, NS4A – p8, NS4B – p27, NS5A – p56/58 e NS5B – p68 e, juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados dos mesmos, são, cada um (seja sozinho ou em combinação), adequados para aplicação na presente invenção. Todos os antígenos de hepatite, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade para suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Influenza

[1100] Muitos antígenos de influenza foram caracterizados e são adequados para uso na presente invenção. Os antígenos de influenza exemplificativos adequados para uso na presente invenção incluem PB, PB2, PA, qualquer uma das proteínas hemaglutinina (HA) ou neuramimidase (NA), NP, M e NS, e juntamente com uma ou mais

porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas são, cada um (sejam sozinhos ou em combinação), adequados para aplicação na presente invenção. Todos os antígenos de gripe, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade para suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Antraz

[1101] Diversos antígenos de *B. anthracis* foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina e são úteis na presente invenção. Por exemplo, PA83 é tal antígeno para desenvolvimento de vacina. Atualmente, apenas uma vacina licenciada pelo FDA para antraz está disponível, chamada "Anthrax Vaccine Adsorbed" (AVA) ou BioThrax®. Essa vacina é derivada do sobrenadante sem célula de uma cepa não encapsulada de *B. anthracis* adsorvida ao adjuvante de alumínio. PA é o imunógeno primário em AVA. Outros antígenos de antraz exemplificativos adequados para uso na presente invenção incluem antígeno protetor (PA ou PA63), LF e EF (proteínas), cápsula de poli-gama-(D-glutamato), antígeno de esporo (componentes específicos de endósporo), BclA (proteína específica de exospório), BxpB (proteína associada a esporo) e proteínas secretadas. Todos os antígenos de antraz juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Tularemia

[1102] Diversos antígenos de *F. tularensis* foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina e são úteis na presente invenção. Por exemplo, AcpA e IglC são antígenos adequados para desenvolvimento de vacina. Outros antígenos de Tularemia exemplificativos adequados para uso na presente invenção incluem O-antígeno, CPS, proteínas de membrana externa (por exemplo, FopA),

lipoproteínas (por exemplo, Tul4), proteínas secretadas e lipopolissacarídeo. Todos os antígenos de tularemia juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Brucelose

[1103] Diversos antígenos de *B. abortusis* foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina e são úteis na presente invenção. Por exemplo, Omp16 é tal antígeno para desenvolvimento de vacina. Outros antígenos de brucelose exemplificativos adequado para uso na presente invenção incluem O-antígeno, lipopolissacarídeo, proteínas de membrana externa (por exemplo, Omp16), proteínas secretadas, proteínas ribossômicas (por exemplo, L7 e L12), bacterioferritina, p39 (uma proteína de ligação periplásmica putativa), groEL (proteína de choque térmico), lumazina sintase, proteína de superfície BCSP31, lipoproteína PAL16.5 OM, catalase, proteína periplásmica 26 kDa, Omp31 3l kDa, Omp 28 kDa, Omp 25 kDa e lipoproteína Om 10 kDA. Todos os antígenos de brucelose juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Meningite

[1104] Diversos antígenos de *N. meningitidis* foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina e são úteis na presente invenção. Por exemplo, Cys6, PorA, PorB, FetA e ZnuD são antígenos adequados para desenvolvimento de vacina. Outros antígenos de meningite exemplificativos adequados para uso na presente invenção incluem O-antígeno, proteína de ligação de fator H (fHbp), TbpB, NspA, NadA, proteínas de membrana externa, CPS de

grupo B, proteínas secretadas e lipopolissacarídeo. Todos os antígenos de meningite juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de dengue

[1105] Diversos antígenos de Flavivírus foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina para tratar dengue e são úteis na presente invenção. Por exemplo, a proteínas de envelope de vírus da dengue E1 a E4 e as proteínas membrânicas M1 a M4 são antígenos adequados para o desenvolvimento de vacina. Outros antígenos de dengue exemplificativos adequados para uso na presente invenção incluem C, preM, 1, 2A, 2B, 3, 4A, 4B e 5. Todos os antígenos de dengue juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Ebola

[1106] Diversos antígenos de vírus do ebola foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina para tratar infecção por ebola e são úteis na presente invenção. Por exemplo, o Zaire ebolavirus *Filoviridae* e antígenos precursores de glicoproteína esporão de vírion ZEBOV-GP e SEBOV-GP, respectivamente, são adequados para desenvolvimento de vacina. Outros antígenos de ebola exemplificativos adequados para uso na presente invenção incluem NP, vp35, vp40, GP, vp30, vp24 e L. Todos os antígenos de ebola juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente, que têm capacidade para suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

Antígenos de Nilo Ocidental

[1107] Diversos antígenos de vírus do Nilo Ocidental foram identificados como candidatos potenciais para desenvolvimento de vacina para tratar infecção e são úteis na presente invenção. Por exemplo, o antígeno de envelope de *Flavivirus* (E) de vírus do Nilo Ocidental (WNV) é uma proteína não tóxica expressa na superfície de vírions WNV (WNVE) e é adequado para desenvolvimento de vacina. Outros antígenos WNV exemplificativos para uso na presente invenção incluem Cp, Prm, NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5.

[1108] Todos os antígenos de Nilo Ocidental juntamente com uma ou mais porções antigênicas ou epítopos derivados das mesmas, estejam ou não caracterizados no presente documento, que têm capacidade de suscitar uma resposta imunológica são contemplados.

[1109] Os antígenos listados acima ou referidos são exemplificativos, não limitantes, da presente invenção.

[1110] A presente invenção também se refere à composição farmacêutica que compreende uma quantidade eficaz de um conjugado de peptídeo da presente invenção ou um solvente ou sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e um carreador farmaceuticamente aceitável.

[1111] As composições farmacêuticas podem compreender uma quantidade eficaz de dois ou mais conjugados de peptídeo da invenção em combinação. Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas podem compreender um ou mais conjugados de peptídeo da invenção e um ou mais peptídeos conforme descrito no presente documento.

[1112] O termo "carreador farmaceuticamente aceitável" refere-se a um carreador (adjuvante ou veículo) que pode ser administrado a um indivíduo juntamente com o conjugado de peptídeo da presente

invenção, ou um solvente ou sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e um carreador farmaceuticamente aceitável.

[1113] Os carreadores farmaceuticamente aceitáveis que podem ser usados nas composições incluem, porém, sem limitação, trocadores de íon, alumina, estearato de alumínio, lecitina, sistemas de entrega de fármaco de autoemulsificação (SEDDS) tal como succinato de d-α-tocoferol polietilenoglicol 1000, tensoativos usados em formas de dosagem farmacêuticas, tal como Tweens ou outras matrizes de entrega polimérica similares, proteínas séricas, tal como albumina sérica humana, substâncias tampão, tais como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potássio, misturas de glicerídeo parciais de ácidos graxos vegetais saturados, água, sais ou eletrólitos, tal como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de dissódio, hidrogenofosfato de potássio, cloreto de sódio, sais de zinco, sílica coloidal, trissilicato de magnésio, polivinil pirrolidona, substâncias à base de celulose, polietileno glicol, carboximetilcelulose sódica, poliacrilatos, ceras, polímeros em bloco de polietileno-polioxipropileno, polietileno glicol e gordura de lã. Ciclodextrinas, tal como α-, β- e γ-ciclodextrina, ou derivados quimicamente modificados, tais como hidroxialquilciclodextrinas, incluindo 2- e 3-hidroxipropil-β-ciclodextrinas, ou outros derivados solubilizados podem ser também vantajosamente usados para intensificar a entrega. As soluções ou suspensões de óleo podem também conter um diluente ou dispersante de álcool de cadeia longa ou carboximetil celulose ou agentes dispersantes similares, que são comumente usados na formulação de formas de dosagem farmaceuticamente aceitáveis, tais como emulsões e/ou suspensões.

[1114] As composições são formuladas para permitir a administração a um indivíduo por qualquer via escolhida, incluindo, porém, sem limitação, a administração oral ou parenteral (incluindo tópica, subcutânea, intramuscular e intravenosa).

[1115] Por exemplo, as composições podem ser formuladas com um carreador farmaceuticamente aceitável apropriado (incluindo excipientes, diluentes, auxiliares e combinações dos mesmos) selecionado em relação à via de administração pretendida e prática farmacêutica padrão. Por exemplo, as composições podem ser administradas por via oral como um pó, líquido, tablete ou cápsula, ou por via tópica como uma pomada, creme ou loção. As formulações adequadas podem conter agentes adicionais conforme exigido, incluindo agente emulsificantes, antioxidantes, flavorizantes ou corantes, e podem ser adaptadas para entrega imediata, atrasada, modificada, sustentada, pulsada ou controlada.

[1116] As composições podem ser formuladas para otimizar a biodisponibilidade, a imunogenicidade, ou para manter as concentrações de plasma, sangue ou tecido dentro da faixa imunogênica ou terapêutica, incluindo por períodos estendidos. As preparações de entrega controlada podem ser também usadas para otimizar a concentração de antígeno no sítio de ação, por exemplo.

[1117] As composições podem ser formuladas para administração periódica, por exemplo, para fornecer exposição continuada. As estratégias para suscitar uma resposta imunológica benéfica, por exemplo, aquelas que empregam uma ou mais vacinações de "reforço", são bem conhecidas na técnica e tais estratégias podem ser adotadas.

[1118] As composições podem ser administradas por meio da via parenteral. Os exemplos de formas de dosagem parenterais incluem soluções aquosas, solução salina isotônica ou 5% de glicose do agente ativo ou outros excipientes farmaceuticamente aceitáveis bem conhecidos. As ciclodextrinas, por exemplo, ou outros agentes de solubilização bem conhecidos por aqueles familiarizados com a técnica podem ser utilizados como excipientes farmacêuticos para a entrega do agente terapêutico.

[1119] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração oral incluem, porém, sem limitação, tabletes, cápsulas, comprimidos ou formas similares, ou quaisquer formas líquidas, tais como xaropes, soluções aquosas, emulsões e similares, que têm capacidade de fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição. As cápsulas podem conter quaisquer materiais farmaceuticamente aceitáveis padrão tais como gelatina ou celulose. Os tabletes podem ser formulados em conformidade com os procedimentos convencionais comprimindo as misturas dos ingredientes ativos com um carreador sólido e um lubrificante. Os exemplos de carreadores incluem amido e bentonita de açúcar. Os ingredientes ativos podem também ser administrados em uma forma de um tablete de invólucro duro ou uma cápsula que contém um ligante, por exemplo, lactose ou manitol, uma carga convencional e um agente de formação de tablete.

[1120] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração transdérmica incluem, porém, sem limitação, emplastros transdérmicos, bandagens transdérmicas e similares.

[1121] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração tópica das composições incluem qualquer loção, bastão, aspersão, pomada, pasta, creme, gel, etc., seja aplicado diretamente à pele ou por meio de um intermediário, tal como uma esponja, emplastro ou similares.

[1122] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração de supositório das composições incluem qualquer forma de dosagem sólida inserida em um orifício do corpo, particularmente aqueles inseridos por via retal, vaginal ou uretral.

[1123] Os exemplos de dosagem de formas adequadas para injeção das composições incluem entrega por meio de bolus, tais como administrações únicas ou múltiplas por injeção intravenosa,

subcutânea, subdérmica e administração intramuscular ou administração oral.

[1124] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração de depósito das composições incluem péletes dos conjugados de peptídeo ou formas sólidas em que os conjugados de peptídeo são capturados em uma matriz de polímeros biodegradáveis, microemulsões, lipossomas ou são microencapsulados.

[1125] Os exemplos de dispositivos de infusão para as composições incluem bombas de infusão para fornecer um número desejado de doses ou administração em estado estável e incluem bombas de fármaco implantáveis.

[1126] Os exemplos de dispositivos de infusão implantáveis para composições incluem qualquer forma sólida em que os conjugados de peptídeo estejam encapsulados dentro ou dispersos através de um polímero biodegradável ou polímero sintético, tal como silicone, borracha de silicone, silástico ou polímero similar.

[1127] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para entrega transmucosal das composições incluem soluções de depósito para enemas, pessários, absorventes internos, cremes, géis, pastas, espumas, soluções nebulizadas, pós e formulações similares que contêm, adicionalmente aos ingredientes ativos, tais como carreadores, conforme são conhecidos na técnica como sendo adequados. Tais formas de dosagem incluem formas adequadas para inalação ou insuflação das composições, incluindo composições que compreendem soluções e/ou suspensões em solventes orgânicos, aquosos ou aceitáveis farmaceuticamente, ou mistura dos mesmos e/ou pós. A administração transmucosal das composições podem utilizar qualquer membrana mucosa, mas comumente utiliza os tecidos nasal, bucal, vaginal e retal. As formulações adequadas para administração nasal das composições podem ser administradas em uma forma líquida, por

exemplo, aspersão nasal, gotas nasais, ou por administração de aerossol por nebulizador, incluindo soluções aquosas ou oleosas das partículas poliméricas. As formulações podem ser preparadas como soluções aquosas, por exemplo, sem solução salina, soluções que empregam álcool benzílico ou outros conservantes adequados, promotores de absorção para intensificar a biodisponibilidade, fluorocarbonos, e/ou outros agentes solubilizantes ou dispersantes conhecidos na técnica.

[1128] Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração bucal ou sublingual das composições incluem comprimidos, tabletes e similares. Os exemplos de formas de dosagem adequadas para administração oftálmica para as composições incluem insertos e/ou composições que compreendem soluções e/ou suspensões em solventes orgânicos, aquosos ou aceitáveis farmaceuticamente.

[1129] Os exemplos de formulações de composições, incluindo vacinas, podem ser encontrados em, por exemplo, Sweetman, S. C. (Ed.). Martindale. The Complete Drug Reference, 33ª Edição, Pharmaceutical Press, Chicago, 2002, página 2.483; Aulton, M. E. (Ed.) Pharmaceutics. The Science of Dosage Form Design. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000, página 734; e, Ansel, H. C., Allen, L. V. e Popovich, N. G. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª Edição, Lippincott 1999, página 676. Os excipientes empregados na fabricação de sistema de entrega de fármaco são descritos em várias publicações conhecidas por aqueles versados na técnica, incluindo, por exemplo, Kibbe, E. H. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Edição, American Pharmaceutical Association, Washington, 2000, página 665. A USP também fornece exemplos de formas de dosagem orais de liberação modificada, incluindo aquelas formuladas como tabletes ou cápsulas. Consultar, por

exemplo, The United States Pharmacopeia 23/National Formulary 18, The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville MD, 1995 (doravante "a USP"), que também descreve testes específicos para determinar as capacidades de entrega de fármaco de tabletes e cápsulas de liberação estendida e liberação retardada. O teste da USP para a liberação de fármaco para artigos de liberação estendida e liberação retardada é baseado em dissolução de fármaco da unidade de dosagem contra o tempo de teste decorrido. As descrições de vários aparelhos e procedimentos de teste podem ser encontradas na USP. Diretrizes adicionais em relação à análise de formas de dosagem de liberação estendida foram fornecidas pelo F.D.A. (Consultar Guidance for Industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations. Rockville, MD: Center for Drug Evaluation e Research, Food e Drug Administration, 1997).

[1130] Embora a composição possa compreender um ou mais adjuvantes extrínsecos, vantajosamente, em algumas modalidades, isso não é necessário. Em algumas modalidades, o conjugado de peptídeo compreende um epítopo e é auto-adjuvante.

[1131] A presente invenção fornece um método para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um conjugado de peptídeo da presente invenção. A presente invenção também se refere a um conjugado de peptídeo da invenção para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo e ao uso de um conjugado de peptídeo da invenção na fabricação de um medicamento para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

[1132] A presente invenção também fornece um método para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz da

composição farmacêutica da presente invenção. A presente invenção também se refere a uma composição farmacêutica da invenção para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo e ao uso de um ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção na fabricação de um medicamento para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

[1133] A presente invenção também fornece um método para ativar TLR2 em um indivíduo que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um ou mais conjugados de peptídeo da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica da invenção. A presente invenção também fornece o uso de um ou mais compostos conjugados de peptídeo da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica da invenção na fabricação de um medicamento para ativar TLR2 em um indivíduo e um ou mais compostos conjugados peptídicos da invenção ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo ou uma composição farmacêutica da invenção em um indivíduo para ativar TLR2 em um indivíduo. A ativação de TLR2 pode estimular e/ou provocar uma resposta imune no indivíduo e, em algumas modalidades, fornecer imunidade.

[1134] A administração ou o uso de um ou mais peptídeos descritos no presente documento e/ou um ou mais conjugados de peptídeo da presente invenção, por exemplo, um ou mais peptídeos descritos no presente documento em conjunto com um ou mais conjugados de peptídeo, para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo é contemplada no presente documento.

[1135] Nos casos em que dois ou mais conjugados de peptídeo ou um ou mais peptídeos e um ou mais conjugados de peptídeo são administrados ou usados, os dois ou mais conjugados de peptídeo, ou

um ou mais peptídeos e um ou mais conjugados de peptídeo podem ser administrados ou usados de modo simultâneo, sequencial ou separado.

[1136] Um "indivíduo" refere-se a um vertebrado que é um mamífero, por exemplo, um ser humano. Os mamíferos incluem, porém, sem limitação, seres humanos, animais de fazenda, animais de esporte, animais de estimação, camundongos e ratos. O indivíduo pode precisar da dita vacinação, suscitar uma resposta imune ou ativar TLR2.

[1137] Uma "quantidade eficaz" é uma quantidade suficiente para efetuar resultados benéficos ou desejados, incluindo resultados clínicos. Uma quantidade eficaz pode ser administrada em uma ou mais administrações por várias vias de administração.

[1138] A quantidade eficaz variará dependendo, entre outros fatores, da doença indicada, da gravidade da doença, da idade e da saúde relativa do indivíduo, da potência do composto administrado, do modo de administração e do tratamento desejado. Uma pessoa versada na técnica será capaz de determinar as dosagens adequadas que têm relação com esses e quaisquer outros fatores relevantes.

[1139] A eficácia de uma composição pode ser avaliada tanto in vitro quanto in vivo. Por exemplo, a composição pode ser testada *in vitro* ou *in vivo* quanto à sua capacidade de induzir uma resposta imunológica mediada por células. Para estudos *in vivo*, a composição pode ser alimentada a ou injetada em um animal (por exemplo, um camundongo) e seus efeitos sobre a produção de uma resposta imunológica são, então, avaliados. Com base nos resultados, uma faixa de dosagem apropriada e via de administração pode ser determinada.

[1140] A composição pode ser administrada como uma dose única ou um cronograma de múltiplas doses. Múltiplas doses podem ser usadas em um cronograma de imunização primário e/ou em um cronograma de imunização de reforço.

[1141] Em certas modalidades, suscitar uma resposta imunológica

compreende elevar ou intensificar uma resposta imunológica. Em modalidades exemplificativas, suscitar uma resposta imunológica compreende suscitar uma resposta humoral e mediada por células.

[1142] Em certas modalidades, suscitar uma resposta imunológica fornece imunidade.

[1143] A resposta imunológica é produzida para tratar uma doença ou afecção. Uma pessoa versada na técnica perceberá que os conjugados de peptídeo descritos no presente documento são úteis para tratar uma variedade de doenças e afecções, dependendo, por exemplo, da natureza do epítopo.

[1144] Em algumas modalidades, as doenças ou afecções são selecionadas dentre aquelas associadas aos vários antígenos descritos no presente documento.

[1145] Em algumas modalidades, a doença ou condição é uma doença infecciosa, câncer ou reativação viral após transplante de medula óssea ou após indução de imunossupressão profunda por qualquer outra razão.

[1146] O termo "tratamento", e termos relacionados, tal como "que trata" e "tratar", conforme usado no presente documento, referem-se, de modo geral, a tratamento, de um ser humano ou um indivíduo não humano, em que algum efeito terapêutico desejado é atingido. O efeito terapêutico, por exemplo, pode ser inibição, redução, atenuação, parada ou prevenção de uma doença ou afecção.

[1147] As composições podem ser usadas para produzir imunidade sistêmica e/ou mucosal. A imunidade sistêmica e/ou mucosal intensificada pode ser refletida em uma resposta imunológica de TH1 e/ou TH2 intensificada. A resposta imunológica intensificada pode incluir um aumento na produção de IgG1 e/ou IgG2a e/ou IgA.

Exemplos

1. Exemplo 1

[1148] Esse exemplo descreve a síntese de conjugados de aminoácidos diastereomericamente puros **6A** e **6B.**

1.1 Preparação e uso de epóxidos enantiopuros 102A e 102B

[1149] Os conjugados de aminoácidos diastereomericamente puros **6A** e **6B** podem ser preparados com o uso de epóxido enantiopuro **102A** ou epóxido enantiopuro **102B** produzido estereoespecificamente a partir de um material de partida enantiomericamente puro.

[1150] O epóxido enantiopuro **102A** e o epóxido enantiopuro **102B** foram preparados a partir de ácido L-aspártico e ácido D-aspártico, respectivamente, seguindo-se o procedimento descrito em Volkmann, R. A. et al. *J. Org. Chem.,* **1992**, *57*, 4.352 a 4.361 para a preparação de (*R*)-(2-hidroxietil)oxirano (**102A**) a partir de ácido L-aspártico.

Ácido (*S*)-2-bromossuccínico

[1151] A uma solução de brometo de sódio (15,46 g, 150,24 mmols) em 6N de H_2SO_4 (33 ml) a 0°C foi adicionado ácido L-aspártico (5,00 g, 37,56 mmols). À mistura resultante, foi adicionado nitrito de sódio (3,11 g, 45,07 mmols) em porções durante 90 min. A mistura de reação foi deixada em agitação a 0°C por mais duas horas. A mistura foi, então, diluída com H_2O (17 ml) e extraída com Et_2O (100 ml). A camada aquosa foi diluída com salmoura (20 ml) e, adicionalmente, extraída com Et_2O (3 × 100 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secos sobre Na_2SO_4 anidro e concentrados a vácuo para dar ácido (S)-2-bromosuccínico (2,98 g, 41%) como um sólido branco. O produto bruto foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem purificação adicional. $\mathbf{[\alpha]_D^{19,7}}$ -71,5 (c 0,46 em EtOAc) (lit -73,5 (c 6,0 in EtOAc); $\mathbf{\delta_H}$ (400 MHz; DMSO) 12,8 (2H, br s, 2 × CO_2H), 4,54 (1H, dd, *J* = 8,5, 6,4 Hz, H-1), 3,10 (1H, dd, *J* = 17,2, 8,6 Hz, H-2), 2,90 (1H, dd, *J* = 17,1, 6,4 Hz, H-2); $\mathbf{\delta_C}$ (100 MHz; DMSO) 171,0 (C, CO_2H), 170,1 (C, CO_2H), 40,5 (CH,

C-1), 39,5 (CH_2, C-2). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Ácido (*R*)-2-bromossuccínico

[1152] O ácido (*R*)-2-bromossuccínico foi preparado seguindo-se o procedimento descrito acima para a preparação de ácido (*S*)-2-bromossuccínico, mas com o uso de ácido D-aspártico em vez de ácido L-aspártico. $[\alpha]_D^{20,2}$ +66,5 (c 0,2 em EtOAc). Os dados espectroscópicos restantes foram idênticos àqueles observados para ácido (*S*)-2-bromossuccínico.

(*S*)-2-Bromo-1,4-butanodiol

[1153] A uma solução de ácido (*S*)-2-bromossuccínico (2,98 g, 15,20 mmols) em THF (35 ml) a -78°C, foi adicionado complexo BH_3•DMS (4,33 ml, 45,61 mmols) por gotejamento durante 90 min. A reação foi deixada em agitação a -78°C por duas horas e, então, amornada à t.a. e deixada em agitação por mais 60 h. A reação foi, então, resfriada a 0°C e MeOH (15 ml) foi adicionada lentamente. A mistura foi, então, concentrada a vácuo e o resíduo diluído com MeOH (15 ml). Esse processo foi repetido 3 vezes para dar o 2-bromo-1,4-butanodiol (2,55 g, quant.) como um óleo amarelo. O produto bruto foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem purificação adicional. $[\alpha]_D^{19,6}$ -36,8 (c 0,5 em $CHCl_3$); δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 4,34 (1H, dq, *J* = 7,7, 5,3 Hz, H-2), 3,92-3,78 (4H, m, H-1, H-4), 2,40 (2H, br s, 2 × OH), 2,20-2,06 (2H, m, H-3); δ_C (100 MHz; $CDCl_3$) 67,1 (CH_2, C-1), 60,1 (CH_2, C-4), 55,2 (CH, C-2), 37,8 (CH_2, C-3). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

(*R*)-2-Bromo-1,4-butanodiol

[1154] (*R*)-2-Bromo-1,4-butanodiol foi preparado seguindo o procedimento descrito acima para a preparação de (*S*)-2-bromo-1,4-butanodiol, mas com o uso de ácido (*R*)-2-bromossuccínico em vez de ácido (*S*)-2-bromossuccínico. $[\alpha]_D^{21,3}$ +20,0 (c 0,17 em $CHCl_3$). Os

dados espectroscópicos restantes foram idênticos àqueles observados para (*S*)-2-bromo-1,4-butanodiol.

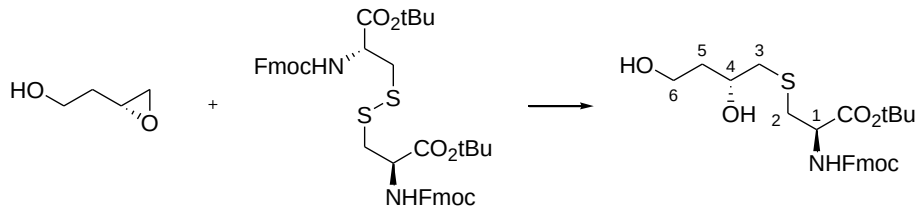
(*R*)-(2-Hidroxietil)oxirano (102A)

[1155] A uma solução de (*S*)-2-bromo-1,4-butanodiol (2,31 g, 13,76 mmols) em CH_2Cl_2 (46 ml) à t.a., foi adicionado Cs_2CO_3 (8,74 g, 24,77 mmol). A mistura resultante foi deixada agitar à t.a. durante 72 horas. A reação foi, então, filtrada através de um filtro de Celite® e concentrada a vácuo para gerar (R)-(2-hidroxietil)oxirano **(102A)** como um óleo amarelo com conversão quantitativa. O material bruto foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem purificação adicional. $\mathbf{[\alpha]_D^{22,9}}$ +35,0 (c 0,61 em $CHCl_3$); $\mathbf{\delta_H}$ (400 MHz; $CDCl_3$) 3,83-3,79 (2H, m, H-1), 3,12-3,08 (1H, m, H-3), 2,81 (1H, dd, *J* = 4,8, 4,1 Hz, H-4), 2,60 (1H, dd, *J* = 4,8, 2,8 Hz, H-4), 2,03-1,95 (1H, m, H-2), 1,78 (1H, t, *J* = 5,4 Hz, OH), 1,71 (1H, dq, *J* = 14,6, 5,9 Hz, H-2); $\mathbf{\delta_C}$ (100 MHz; $CDCl_3$) 60,0 (CH_2, C-1), 50,5 (CH, C-3), 46,5 (CH_2, C-4), 34,6 (CH_2, C-2). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

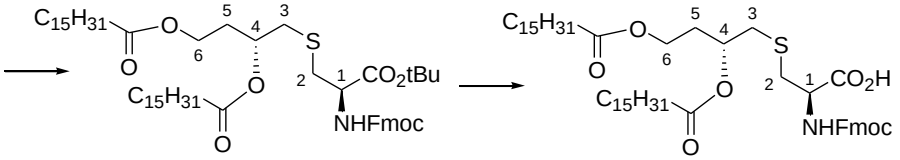
(*S*)-(2-hidroxietil)oxirano (102B)

[1156] (*S*)-(2-Hidroxietil)oxirano (**102B**) foi preparado seguindo o procedimento descrito acima para a preparação de (*R*)-(2-hidroxietil)oxirano (**102A**), mas com o uso de (*R*)-2-bromo-1,4-butanodiol em vez de (*S*)-2-bromo-1,4-butanodiol. $\mathbf{[\alpha]_D^{22,9}}$ -35,2 (c 0,23 em $CHCl_3$). Os dados espectroscópicos restantes foram idênticos àqueles observados para (*S*)-2-bromo-1,4-butanodiol.

Preparação de 6A diastereomericamente puro



102A **804** **103A**



201A **6A**

[1157] A uma solução adequada de dissulfeto **804** (1,59 g, 2,06 mmols) em CH_2Cl_2 (10 ml) a 0°C, foi adicionado zinco em pó (0,94 g, 14,42 mmols) e uma mistura recém-preparada de metanol, ácido clorídrico concentrado e ácido sulfúrico concentrado (100:7:1, 5 ml). A mistura resultante foi deixada em agitação a 0°C por 30 min, após o qual foi adicionado epóxido **102A** (0,73 g, 8,24 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação a 55°C ou refluída a 70°C por 17 h. A mistura foi, então, diluída com CH_2Cl_2 (30 ml), filtrada através de um filtro de Celite® e lavada com salmoura (50 ml). A camada aquosa foi extraída com CH_2Cl_2 (3 × 50 ml) e os extratos orgânicos combinados foram secos sobre $MgSO_4$ anidro e concentrados a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia de coluna rápida (hexanos-EtOAc, 1:3) para gerar **103A** (1,72 g, 88%) como um óleo incolor.

[1158] **R_f** 0,15 (hexanos-EtOAc 1:3); **$[\alpha]_D^{20,2}$** -3,5 (c 0,32 in $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 3.347, 2.976, 1.703, 1.518, 1.449, 1.413, 1.369, 1.335, 1.249, 1.151; **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 7,77 (2H, d, *J* = 7,5, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,32 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, FmocH), 5,81 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, NH), 4,53-4,50 (1H, m, H-1), 4,40 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, FmocCH_2), 4,23 (1H, t, *J* = 7,0 Hz, FmocCH), 3,94-3,88 (1H, m, H-4), 3,85-3,81 (2H, m, H-6), 3,03 (1H, dd, *J* = 14,0,

4,2 Hz, H-2), 2,94 (1H, dd, *J* = 14,3, 6,1 Hz, H-2), 2,82 (1H, dd, *J* = 14,0, 2,9 Hz, H-3), 2,56 (1H, dd, *J* = 14,0, 9,0 Hz, H-3), 1,74-1,71 (1H, m, H-5), 1,50 (9H, s, C(C*H*$_3$)$_3$); **δc** (100 MHz; $CDCl_3$) 169,7 (C, *C*OOtBu),156,0 (C, C(O)Fmoc), 143,6 (C, Fmoc), 141,0 (C, Fmoc), 127,5 (CH, Fmoc), 126,9 (CH, Fmoc), 125,0 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 82,6 (C, *C*(CH*3*)$_3$), 69,5 (CH, C-4), 67,2 (CH_2, FmocCH$_2$), 60,2 (CH_2, C-6), 54,5 (CH, C-1), 46,9 (CH, FmocCH), 40,5 (CH_2, C-3), 37,5 (CH_2, C-5), 35,2 (CH_2, C-2), 27,8 (3 × CH_3, C(*C*H$_3$)$_3$); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 510,1921 calculado para $C_{26}H_{33}NNaO_6S$ 510,1921.

Síntese do composto **6A** (Procedimento A):

[1159] A uma solução agitada de diol **103A** (1,52 g, 3,12 mmols) e ácido palmítico (2,40 g, 9,35 mmols) em THF (45 ml) à t.a., foram adicionados N,N'-diisopropilcarbodiimida (1,93 ml, 12,46 mmols) e 4-dimetilaminopiridina (0,04 g, 0,31 mmol). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 19 h. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite®, diluída com EtOAc (50 ml), lavada com ácido cítrico aquoso 1 M (30 ml) e salmoura (30 ml) e concentrada a vácuo. O resíduo foi, então, redissolvido em TFA (3 ml) e deixado em agitação à t.a. por 30 min. A mistura de reação foi novamente concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para dar origem ao composto em epígrafe **6A** (1,98 g, 70%) como um óleo incolor. **$[\alpha]_D^{23,9}$** +8,4 (c 0,44 em $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 2.922, 2.852, 1.733, 1.525, 1.450, 1.168, 1.110; RMN de ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$) *δ* 7,75 (2H, d, *J* = 7,5 Hz), 7,61 (2H, d, *J* = 7,2 Hz), 7,38 (2H, t, *J* = 7,4 Hz), 7,30 (2H , t, *J* = 7,4 Hz), 5,89 (1H, d, *J* = 7,8 Hz), 5,13 a 5,06 (1H, m), 4,69 a 4,63 (1H, m), 4,39 (2H, d, *J* = 6,5 Hz) , 4,23 (1H, t, *J* = 7,0 Hz), 4,16 a 4,06 (2H, m), 3,16 (1H, dd, *J* = 13,8, 4,0 Hz), 3,03 (1H, dd, *J* = 13,8, 6,1 Hz), 2,81 a 2,70 (2H, m), 2,33 a 2,26 (4H, m), 2,10 a 1,89 (2H, m), 1,60 a 1,58 (4H, m)), 1,35 a 1,20 (48H, m), 0,89 (6H, t, *J* = 6,8 Hz); RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) *δ* 174,0, 173,6, 156,0,

143,6, 141,2, 127,6, 127,0, 125,1, 120,0, 69,5, 67,3, 60,3, 53,6, 47,0, 36,3, 34,5, 34,3, 34,1, 32,0, 31,8 , 29,6, 29,4, 29,3, 29,2, 29,1, 25,0, 22,6, 14,0; **HRMS** (ESI+) $[M + H]^+$ 908,6069 calculado para $C_{54}H_{86}NO_6S$ 908,6065, $[M + Na]^+$ 930,5888 calculado para $C_{54}H_{85}NNaO_8S$ 930,5875.

Síntese do composto **6A** (Procedimento B):

[1160] O diol **103A** diastereomericamente puro também foi convertido no conjugado diastereomericamente puro **6A** seguindo procedimentos análogos aos procedimentos representativos descritos abaixo.

Procedimento representativo para conversão de **103A** em**201A**

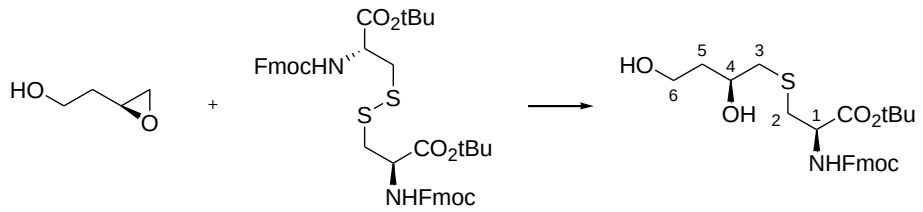
[1161] A uma solução agitada de diol **103A** (0,327 g, 0,67 mmol) e ácido palmítico (0,516 g, 2,01 mmol) em THF (9 ml) à t.a., são adicionadas di-isopropilcarbodiimida (0,414 ml, 2,68 mmols) e 4-dimetilaminopiridina (0,01 g, 0,07 mmol). A mistura de reação é deixada em agitação à t.a. por 19 h. A mistura é, então, diluída com EtOAc (30 ml), filtrada através de um leito de Celite® e concentrada a vácuo. O produto bruto é purificado por cromatografia em coluna flash (CH_2Cl_2) para gerar **201A** como um óleo amarelo.

Procedimento representativo para conversão de **201A** em **6A**

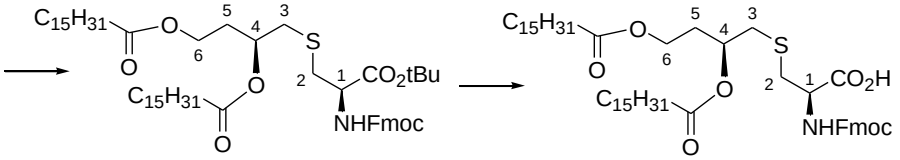
[1162] Uma solução de diéster **201A** (0,35 g, 0,364 mmol) em ácido trifluoroacético (2 ml) é deixada em agitação à t.a. por uma hora, após a qual a mistura é concentrada a vácuo. O produto bruto é purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para gerar **6A** como um óleo incolor.

[1163] Fmoc-Cys-OH é descrito na literatura: H.-K. Cui, Y. Guo, Y. He, F.-L. Wang, H.-H. Chang, Y. J. Wang, F.-M. Wu, C.-L. Tian, L. Lu, *Angew. Chem. Int. Eng.*, **2013**, 52(36), 9.558 a 9.562.

Preparação de 6B diastereomericamente puro



102B **804** **103B**



201B **6B**

Síntese do composto **103B**:

[1164] A uma solução adequada de dissulfeto **804** (2,01 g, 2,53 mmols) em CH_2Cl_2 (14 ml) a 0°C, foi adicionado zinco em pó (1,15 g, 17,51 mmols) e uma mistura recém-preparada de metanol, ácido clorídrico concentrado e ácido sulfúrico concentrado (100:7:1, 7 ml). A mistura resultante foi deixada em agitação a 0°C por 30 min, após o qual foi adicionado epóxido **102B** (0,89 g, 10,11 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação a 55°C ou refluída a 70°C por 17 h. A mistura foi, então, diluída com CH_2Cl_2 (30 ml), filtrada através de um filtro de Celite® e lavada com salmoura (50 ml). A camada aquosa foi extraída com CH_2Cl_2 (3 × 50 ml) e os extratos orgânicos combinados foram secos sobre $MgSO_4$ anidro e concentrados a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia de coluna rápida (hexanos-EtOAc, 3:1) para gerar o **103B** (2,17 g, 88%) como um óleo incolor.

[1165] **R_f** 0,15 (hexanos-EtOAc 1:3);**$[\alpha]_D^{22}$** +8,5 (c 0,3 in CHCl3); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 3.347, 2.976, 1.703, 1.518, 1.449, 1.413, 1.369, 1.335, 1.249, 1.151; **δ_H** (400 MHz; CDCl3) 7,77 (2H, d, J = 7,5 Hz, FmocH), 7,61 (2H, d, J = 7,4 Hz, FmocH), 7,40 (2H, t, J = 7,4 Hz, FmocH), 7,32 (2H, t, J = 7,5 Hz, FmocH), 5,74 (1H, d, J = 7,0 Hz, NH), 4,51-4,47 (1H, m, H-1), 4,42-4,39 (2H, m, FmocCH2), 4,24 (1H, t, J = 7,0 Hz, FmocCH),

3,93 (1H, br s, H-4), 3,85-3,81 (2H, m, H-6), 3,31 (1H, br s, OH-4), 3,00-2,78 (2H, m, H-2), 2,80 (1H, dd, J = 13,5, 3,2 Hz, H-3), 2,55 (1H, dd, J = 13,8, 8,4, Hz, H-3), 2,36 (1H, br s, OH-6) 1,73 (2H, q, J = 5,3, H-5), 1,50 (9H, s, C $(CH_3)_3$); **HRMS δC** (100 MHz; $CDCl_3$) 169,8 (C, COOtBu), 156,1 (C, C (O) Fmoc), 143,8 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,7 (CH, Fmoc), 127,1 (CH , Fmoc), 125,1 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 83,0 (C, C $(CH_3)_3$), 69,9 (CH, C-4), 67,2 (CH_2, FmocCH_2), 60,7 (CH_2, C-6), 54,7 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 40,9 (CH_2, C-3), 37,6 (CH_2, C-5), 35,5 (CH_2, C-2), 28,0 (3 × CH_3, $C(CH_3)_3$); **HRMS** (ESI+) [M + Na]+ 510,1921 calculado para $C_{26}H_{33}NNaO_6S$ 510,1921.

Síntese do composto **6B** (Procedimento A):

[1166] A uma solução agitada de diol **103B** (1,68 g, 3,44 mmols) e ácido palmítico (2,65 g, 10,31 mmols) em THF (50 ml) à t.a., foram adicionados N,N'-diisopropilcarbodiimida (2,13 ml, 13,75 mmols) e 4-dimetilaminopiridina (0,04 g, 0,34 mmol). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 19 h. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite®, diluída com EtOAc (50 ml), lavada com ácido cítrico aquoso 1 M (30 ml) e salmoura (30 ml) e concentrada a vácuo. O resíduo foi, então, redissolvido em TFA (3 ml) e deixado em agitação à t.a. por 30 min. A mistura de reação foi novamente concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para dar origem ao composto em epígrafe **6**B (2,02 g, 65%) como um óleo incolor. $[\alpha]_D^{23,4}$ -4,0 (c 0,2 em $CHCl_3$); ν_{max}(puro)/cm^{-1} 2.922, 2.852, 1.733, 1.525, 1.450, 1.168, 1.110; RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,75 (2H, d, J = 7,5 Hz), 7,61 (2H, d, J = 7,4 Hz), 7,39 (2H, t, J = 7,4 Hz), 7,40 (2H , t, J = 7,4 Hz), 5,86 (1H, d, J = 7,5), 5,13-5,03 (1H, m), 4,72 a 4,62 (1H, m), 4,40 (2H, d, J = 6,9 Hz), 4,24 (1H, t, J = 7,0 Hz), 4,11 (2H, t, J = 6,5 Hz), 3,14 (1H, dd, J = 12,9, 3,5 Hz), 3,08 (1H, dd, J = 13,8, 4,4 Hz), 2,82-2,69 (2H, m), 2,31-2,26 (4H, m), 2,10 a 1,87 (2H, m), 1,65 a 1,54 (4H, m), 1,33 a 1,22 (48H, m), 0,89

(6H , t, *J* = 6,8 Hz); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) *δ* 174,1, 173,7, 155,0, 143,7, 141,3, 127,8, 127,1, 125,2, 120,0, 69,7, 67,5, 60,5, 53,7, 47,1, 36,5, 34,8, 34,4, 34,3, 32,2, 32,0 , 29,8, 29,7, 29,6, 29,4, 29,2, 25,0, 22,8, 14,1; **HRMS** (ESI +) $[M + H]^+$ 908,6069 calculado para $C_{54}H_{86}NO_6S$ 908,6065, $[M + Na]^+$ 930,5888 calculado para $C_{54}H_{85}NNaO_8S$ 930,5875.

Síntese do composto **6B** (Procedimento B):

[1167] O diol **103B** diastereomericamente puro também foi convertido no conjugado diastereomericamente puro **6B** seguindo procedimentos análogos aos procedimentos representativos descritos abaixo.

Procedimento representativo para a conversão de **103B** em **201B**

[1168] A uma solução agitada de diol **103B** (0,327 g, 0,67 mmol) e ácido palmítico (0,516 g, 2,01 mmols) em THF (9 ml) à t.a., são adicionadas di-isopropilcarbodiimida (0,414 ml, 2,68 mmols) e 4-dimetilaminopiridina (0,01 g, 0,07 mmol). A mistura de reação é deixada em agitação à t.a. por 19 h. A mistura é, então, diluída com EtOAc (30 ml), filtrada através de um leito de Celite® e concentrada a vácuo. O produto bruto é purificado por cromatografia em coluna flash (CH_2Cl_2) para gerar **201B** como um óleo amarelo.

Procedimento representativo para a conversão de **201B** em **6B**

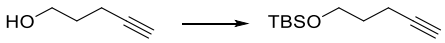
[1169] Uma solução de diéster **201B** (0,35 g, 0,364 mmol) em ácido trifluoroacético (2 ml) é deixada em agitação à t.a. por uma hora, após a qual a mistura é concentrada a vácuo. O produto bruto é purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para gerar **6A** como um óleo incolor.

2. Exemplo 2

[1170] Esse exemplo demonstra a síntese de conjugados de aminoácido a partir de vários materiais de partida.

7.1 Síntese de conjugado de aminoácido 806 a partir de álcool 800

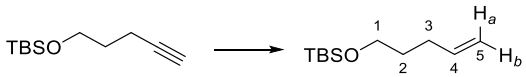
Etapa i



800 **801**

[1171] A uma solução agitada de 4-pentin-1-ol **800** (5 ml, 53,72 mmols) em CH_2Cl_2 (150 ml) à t.a., foi adicionado imidazol (3,66 g, 53,72 mmols) e cloreto de *terc*-butildimetilsilila (8,10 g, 53,72 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 24 h. A mistura foi, então, diluída com Et_2O (200 ml) e lavada com água (3 × 100 ml) e salmoura (100 ml). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por filtração através de gel de sílica para gerar **801** (10,64 g, quant.) como um líquido incolor. Alcino **801** foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem caracterização.

Etapa ii



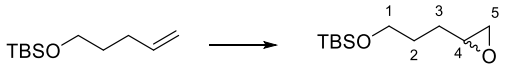
801 **802**

[1172] A uma solução agitada de alcino **801** (14,08 g, 70,00 mmols) em hexano (150 ml) à t.a., foi adicionada quinolina (11,75 ml, 100,00 mmols) e catalisador de Lindar (1,408 g). A mistura de reação foi conectada a um balão preenchido com H_2 (1 atm) e deixada em agitação à t.a. por 5 h. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite® e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9:1) para gerar **802** (14,09 g, 99%) como um óleo incolor.

[1173] $\mathbf{R_f}$ 0,88 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); $\mathbf{\delta_H}$ (400 MHz; $CDCl_3$) 5,82 (1H, ddt, *J* = 17,0, 10,2, 6,7 Hz, H-4), 5,02 (1H, d, *J* = 17,1 Hz, H_a-5), 4,95 (1H, d, *J* = 10,4 Hz, H_b-5), 3,62 (2H, t, *J* = 6,5 Hz, H-1), 2,10 (2H, q, *J* = 7,2 Hz, H-3), 1,61 (2H, p, *J* = 7,0 Hz, H-2), 0,90 (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0,05 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); $\mathbf{\delta_C}$ (100 MHz; $CDCl_3$) 138,6 (CH, C-4), 114,5 (CH_2, C-5), 62,6 (CH_2, C-1), 32,0 (CH_2, C-2), 30,5 (CH_2, C-3),

26,0 (3 × CH_3, SiC(CH_3)$_3$), 18,4 (C, SiC(CH_3)$_3$), -5,3 (2 × CH_3, Si(CH_3)$_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa iii

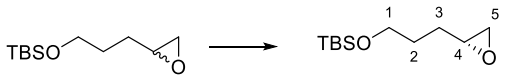


802 **803**

[1174] A uma solução agitada de alceno **802** (8,646 g, 43,16 mmols) em CH_2Cl_2 (100 ml) à t.a. foi adicionado *m*CPBA (8,191 g, 47,47 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 15 horas. A mistura foi, então, filtrada através de Celite®, diluída com Et_2O (100 ml) e lavada com $NaHCO_3$ aquoso saturado (3 × 100 ml) e salmoura (100 ml). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9:1) para gerar **803** (8,09 g, 87%) como um óleo incolor.

[1175] **R_f** 0,51 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 3,70-3,60 (2H, m, H-1), 2,96-2,92 (1H, m, H-4), 2,75 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Hz, H-5), 2,47 (1H, dd, *J* = 5,0, 2,8 Hz, H-5), 1,73-1,53 (4H, m, H-2, H-3), 0,89 (9H, s, SiC(CH_3)$_3$), 0,04 (6H, s, Si(CH_3)$_2$); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 62,7 (CH_2, C-1), 52,2 (CH, C-4), 47,1 (CH_2, C-5), 29,1 (CH_2, C-2), 29,0 (CH_2, C-3), 25,9 (3 × CH_3, SiC(CH_3)$_3$), 18,3 (C, SiC(CH_3)$_3$), -5,3 (2 × CH_3, Si(CH_3)$_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa iv



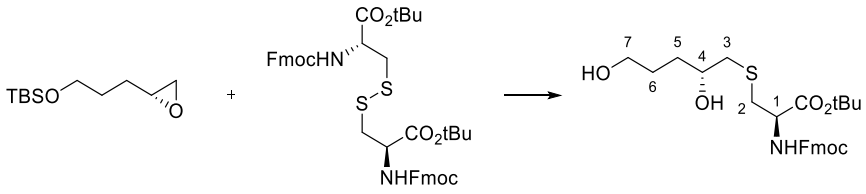
803 **803a**

[1176] A uma solução agitada de epóxido racêmico **803** (8,272 g, 38,24 mmols), (*R*,*R*)-(+)-*N*,*N'*-bis(3,5-di-*terc*-butilsalicilideno)-1,2-ciclo-hexanodiaminocobalto(II) (0,121 g, 0,19 mmol) e ácido acético glacial (0,04 ml, 0,76 mmol) em THF (0,35 ml) a 0°C, foi adicionada água (0,38

ml) por gotejamento. A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 48 h. A mistura foi, então, concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9: 1) para gerar **803a** (4,12 g, 49%) como um óleo amarelo.

[1177] **R_f** 0,51 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **$[\alpha]_D^{21,4}$** +4,65 (c 1,15 em $CHCl_3$); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 3,61 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-1), 2,93 a 2,88 (1H, m, H-4), 2,74 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Hz, H-5), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 3,0 Hz, H-5), 1,63 a 1,46 (4H, m, H-2, H-3), 0,89 (9H, s, SiC(CH_3)$_3$), 0,04 (6H, s, Si(CH_3)$_2$); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 63,0 (CH_2, C-1), 52,3 (CH, C-4), 47,1 (CH_2, C-5), 32,6 (CH_2, C-2), 32,3 (CH_2, C-3), 26,0 (3 × CH_3, SiC(CH_3)$_3$), 18,4 (C, SiC(CH_3)$_3$), -5,3 (2 × CH_3, Si(CH_3)$_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa v



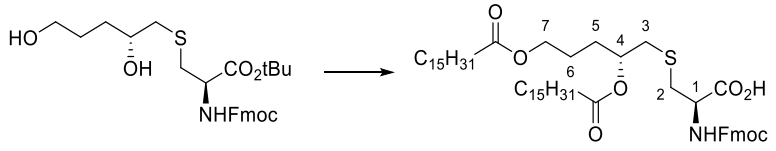
803a **804** **805**

[1178] A uma solução adequada de dissulfeto **804** (0,751 g, 0,94 mmol), que está comercialmente disponível, em CH_2Cl_2 (5 ml) a 0°C, foi adicionado zinco em pó (0,508 g, 7,78 mmols) e uma mistura recém-preparada de metanol, ácido clorídrico concentrado e ácido sulfúrico concentrado (100:7:1, 2 ml). A mistura resultante foi deixada em agitação a 0°C por 30 min. A mistura foi, então, deixada em agitação a 70°C ou 65°C por 5 min, após os quais foi adicionado epóxido **803a** (0,839 g, 3,88 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação a 65°C por 19 h. A mistura foi, então, diluída com EtOAc (50 ml), filtrada através de um filtro de Celite® e lavada com salmoura (50 ml). A camada aquosa foi extraída com EtOAc (3 × 50 ml) e os extratos orgânicos combinados foram secos sobre Na_2SO_4 anidro e concentrados a vácuo.

O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 1:3) para gerar **805** (0,568 g, 60%) como um óleo incolor.

[1179] **R_f** 0,34 (hexano-EtOAc 1:3); **$[\alpha]_D^{21,0}$** -26,7 (c 0,03 in $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 3.321, 2.931, 1.706, 1.532, 1.450, 1.369, 1.248, 1.152, 1.050; **δ_H** (400 MHz; $CHCl_3$) 7,76 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,31 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 5,90 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, NH), 4,51 (1H, dd, *J* = 12,3, 5,2 Hz, H-1), 4,39 (2H, d, *J* = 7,1 Hz, FmocCH_2), 4,23 (1H, t, *J* = 7,1 Hz, FmocCH), 3,73-3,58 (3H, m, H-4, H-7), 3,03 (1H, dd, *J* = 13,9, 4,4 Hz, H-2), 2,95 (1H, dd, *J* = 13,9, 5,7 Hz, H-2), 2,80 (1H, dd, *J* = 13,6, 2,9 Hz, H-3), 2,53 (1H, dd, *J* = 13,6, 8,9 Hz, H-3), 1,72-1,61 (4H, m, H-5, H-6), 1,49 (9H, s, C(C*H*$_3$)$_3$)); **δ_C** (100 MHz; $CHCl_3$) 169,8 (C, *C*O_2tBu), 156,1 (C, FmocCO), 143,9 (C, Fmoc), 141,1 (C, Fmoc), 127,9 (CH, Fmoc), 127,2 (CH, Fmoc), 125,3 (CH, Fmoc), 120,1 (CH, Fmoc), 83,2 (C, *C*$(CH_3)_3$), 70,1 (CH, C-4), 67,3 (CH_2, FmocCH_2), 62,8 (CH_2, C-7), 54,7 (CH, C-1), 47,2 (CH, FmocCH), 41,2 (CH_2, C-3), 35,5 (CH_2, C-2), 33,4 (CH_2, C-5), 29,2 (CH_2, C-6), 28,1 (3 × CH_3, C(*C*H_3)$_3$); **HRMS** (ESI+) [M + Na]$^+$ 524,2077 calculado para $C_{27}H_{35}NNaO_6S$ 524,2075.

Etapa vi



805 **806**

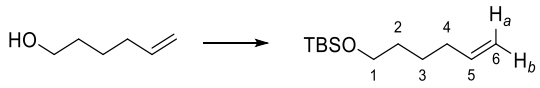
[1180] A uma solução agitada de diol **805** (0,114 g, 0,243 mmol) e ácido palmítico (0,180 g, 0,702 mmol) em THF (3 ml) à t.a., foi adicionada *N*,*N'*-di-isopropilcarbodiimida (0,145 ml, 0,936 mmol) e 4-dimetilaminopiridina (0,011 g, 0,094 mmol). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 17 h. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite®, diluída com EtOAc (30 ml), lavada com ácido

cítrico aquoso 1 M (30 ml) e salmoura (30 ml) e concentrada a vácuo. O resíduo foi, então, redissolvido em TFA (3 ml) e deixado em agitação à t.a. por 45 min. A mistura de reação foi novamente concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para gerar **806** (0,220 g, 98%) como um óleo incolor.

[1181] **R_f** 0,15 (éter de petróleo-EtOAc 1:1); **$[\alpha]_D^{21,3}$** +10,0 (c 0,08 em $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 2.919, 2.851, 1.723, 1.521, 1.521, 1.221, 1.108, 1.054; **δ_H** (400 MHz; $CHCl_3$) 7,76 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, FmocH), 7,62 (2H, d, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,39 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,30 (2H, td, *J* = 11,2, 0,9 Hz, FmocH), 5,78 (1H, d, *J* =7,6 Hz, NH), 5,04-4,95 (1H, m, H-4), 4,60 (1H, dd, *J* = 12,2, 5,2 Hz, H-1), 4,38 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, FmocCH_2), 4,24 (2H, t, *J* = 7,1 Hz, FmocCH), 4,13-3,99 (2H, m, H-7), 3,16 (1H, dd, *J* = 13,9, 4,5 Hz, H-2), 3,04 (1H, dd, *J* = 14,0, 5,3 Hz, H-2), 2,78-2,70 (2H, m, H-3), 2,34-2,25 (4H, m, 2 × Pam$CH_{2\alpha}$alquila), 1,74-1,56 (8H, m, 2 × Pam$CH_{2\beta}$alquila, H-5, H-6), 1,32-1,22 (48H, m, 24 × PamCH_2alquila), 0,88 (6H, t, *J* = 6,9 Hz, 2 × PamCH_3alquila); **δ_C** (100 MHz; $CHCl_3$) 174,3 (C, *C*O_2H), 174,0 (C, Pam*C*O_2), 173,5 (C, Pam*C*O_2), 156,0 (C, FmocCO), 143,7 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 121,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 72,1 (CH, C-4), 67,5 (CH_2, FmocCH_2), 63,8 (CH_2, C-7), 53,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 36,5 (CH_2, C-3), 34,6 (CH_2, Pam$CH_{2\alpha}$alquila), 34,5 (CH_2, Pam$CH_{2\alpha}$alquila), 34,3 (CH_2, C-2), 31,9 (2 × CH_2, PamCH_2alquila), 29,7-29,2 (21 × CH_2, PamCH_2alquila, C-5), 25,0 (2 × CH_2, Pam$CH_{2\beta}$alquila), 24,6 (CH_2, C-6), 22,7 (2 × CH_2, PamCH_2alquila), 14,1 (2 × CH_3, PamCH_3alquila); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 944,6045 calculado para $C_{55}H_{87}NNaO_8S$ 944,6028.

7.1.2 Síntese de conjugado de aminoácido 811 a partir de álcool 807

Etapa i



807 **808**

[1182] A uma solução agitada de 5-hexen-1-ol **807** (5,00 ml, 41,64 mmols) em CH_2Cl_2 (150 ml) à t.a., foi adicionado imidazol (2,86 g, 43,06 mmols) e cloreto de *terc*-butildimetilsilila (6,34 g, 42,06 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 19 h. A mistura foi, então, diluída com EtOAc (400 ml), lavada com água (200 ml) e salmoura (200 ml), seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo) para gerar **808** (8,846 g, quant.) como um óleo incolor.

[1183] $\mathbf{R_f}$ 0,90 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); $\mathbf{\delta_H}$ (400 MHz; $CDCl_3$) 5,81 (1H, ddt, *J* = 17,1, 10,1, 6,7 Hz, H-5), 5,00 (1H, dq, *J* = 17,2, 1,7 Hz, H_a-6), 4,94 (1H, d, *J* = 10,5 Hz, H_b-6), 3,61 (2H, t, *J* = 6,2 Hz, H-1), 2,06 (2H, q, *J* = 7,1 Hz, H-4), 1,59-1,50 (2H, m, H-2), 1,47-1,39 (2H, m, H-3), 0,89 (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0,05 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); $\mathbf{\delta_C}$ (100 MHz; $CDCl_3$) 139,0 (CH, C-5), 114,3 (CH_2, C-6), 63,1 (CH_2, C-1), 33,5 (CH_2, C-4), 32,3 (CH_2, C-2), 26,0 (3 × CH_3, $SiC(CH_3)_3$), 25,2 (CH_2, C-3), 18,4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5,3 (2 × CH_3, $Si(CH_3)_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa ii



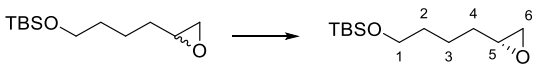
808 **809**

[1184] A uma solução agitada de alceno **808** (7,58 g, 35,35 mmols) em CH_2Cl_2 (150 ml) à t.a., foi adicionado *m*CPBA (9,15 g, 53,05 mmols) em porções. A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 18 horas. A mistura foi, então, diluída com Et_2O (200 ml), filtrada através de Celite®, lavada com NaOH aquoso 2 M (200 ml) e salmoura (200 ml),

seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9:1) para gerar **809** (6,91 g, 85%) como um óleo incolor.

[1185] **R_f** 0,60 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 3,61 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-1), 2,93-2,88 (1H, m, H-5), 2,74 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Hz, H-6), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 3,0 Hz, H-6), 1,63-1,46 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, SiC(CH_3)$_3$), 0,04 (6H, s, Si(CH_3)$_2$); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 63,0 (CH_2, C-1), 52,3 (CH, C-5), 47,1 (CH_2, C-6), 32,6 (CH_2, C-4), 32,3 (CH_2, C-2), 26,0 (3 × CH_3, SiC(CH_3)$_3$), 22,3 (CH_2, C-3), 18,4 (C, SiC(CH_3)$_3$), -5,3 (2 × CH_3, Si(CH_3)$_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa iii



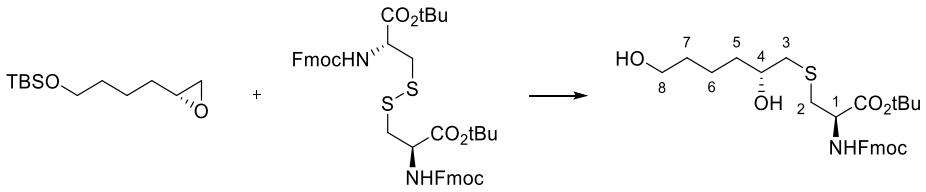
809 **809a**

[1186] A uma solução agitada de epóxido racêmico **809** (5,887 g, 25,56 mmols), (*R*,*R*)-(+)-*N*,*N'*-bis(3,5-di-*terc*-butilsalicilideno)-1,2-ciclo-hexanodiaminocobalto(II) (0,083 g, 0,13 mmol) e ácido acético glacial (0,03 ml, 0,51 mmol) em THF (0,3 ml) a 0°C, foi adicionada água (0,253 ml) por gotejamento. A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 48 h. A mistura foi, então, concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9: 1) para gerar **809a** (2,913 g, 49%) como um óleo amarelo.

[1187] **R_f** 0,60 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **$[\alpha]_D^{20,4}$** +5,0 (c 0,02 in $CHCl_3$); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 3,61 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, H-1), 2,93-2,88 (1H, m, H-5), 2,74 (1H, dd, *J* = 5,0, 4,0 Hz, H-6), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 3,0 Hz, H-6), 1,63-1,46 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, SiC(CH_3)$_3$), 0,04 (6H, s, Si(CH_3)$_2$); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 63,0 (CH_2, C-1), 52,3 (CH, C-5), 47,1 (CH_2, C-6), 32,6 (CH_2, C-4), 32,3 (CH_2, C-2), 26,0 (3 × CH_3, SiC(CH_3)$_3$), 22,3 (CH_2, C-3), 18,4 (C, SiC(CH_3)$_3$), -5,3 (2 × CH_3,

Si(CH_3)$_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa iv



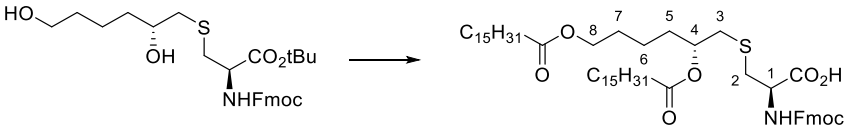
809a **804** **810**

[1188] A uma solução adequada de dissulfeto **804** (0,500 g, 0,649 mmol) em CH_2Cl_2 (5 ml) a 0°C, foi adicionado zinco em pó (0,300 g, 4,54 mmols) e uma mistura recém-preparada de metanol, ácido clorídrico concentrado e ácido sulfúrico concentrado (100:7:1, 2 ml). A mistura resultante foi deixada em agitação a 0°C por 30 min. A mistura foi, então, deixada em agitação a 65°C por 5 min, após os quais foi adicionado epóxido **809a** (0,600 g, 2,60 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação a 65°C por 19 horas. A mistura foi, então, diluída com EtOAc (50 ml), filtrada através de um filtro de Celite® e lavada com salmoura (50 ml). A camada aquosa foi extraída com EtOAc (3 × 50 ml) e os extratos orgânicos combinados foram secos sobre Na_2SO_4 anidro e concentrados a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 4:1 → 1:3) para gerar **810** (0,553 g, 83%) como um óleo incolor.

[1189] **R_f** 0,39 (hexano-EtOAc 1:3); **$[\alpha]_D^{21,2}$** -25,0 (c 0,07 em $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 3.343, 2.934, 2.862, 1.705, 1.513, 1.450, 1.369, 1.344, 1.248, 1.152; **δ_H** (400 MHz; $CHCl_3$) 7,76 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,0 Hz, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,30 (2H, td, *J* = 11,2, 1,1 Hz, FmocH), 5,88 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, NH), 4,52 (1H, dd, *J* = 12,5, 5,2 Hz, H-1), 4,39 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, FmocCH_2), 4,23 (1H, t, *J* = 7,1 Hz, FmocCH), 3,70-3,59 (3H, m, H-4, H-8), 3,03 (1H, dd, *J* = 13,7, 4,7 Hz, H-2), 2,94 (1H, dd, *J* = 13,7, 5,4 Hz, H-2), 2,80 (1H, dd, *J* = 13,6, 3,4 Hz, H-3), 2,51 (1H, dd, *J* = 13,4, 8,7 Hz, H-3), 1,60-1,38 (15H, m, H-

5, H-6, H-7, C(CH_3)$_3$)); **δ_C** (100 MHz; $CHCl_3$) 169,7 (C, CO_2tBu), 156,0 (C, FmocCO), 143,8 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 125,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 83,1 (C, $C(CH_3)_3$), 69,8 (CH, C-4), 67,2 (CH_2, FmocCH_2), 62,5 (CH_2, C-8), 54,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 41,1 (CH_2, C-3), 35,8 (CH_2, C-5), 35,4 (CH_2, C-2), 32,4 (CH_2, C-7), 28,0 (3 × CH_3, C(CH_3)$_3$), 21,9 (CH_2, C-6); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 538,2226 calculado para $C_{28}H_{37}NNaO_6S$ 538,2234.

Etapa v



810 **811**

[1190] A uma solução agitada de diol **810** (0,190 g, 0,370 mmol) e ácido palmítico (0,284 g, 1,10 mmol) em THF (3 ml) à t.a., foi adicionada *N*,*N*′-di-isopropilcarbodiimida (0,226 ml, 1,47 mmol) e 4-dimetilaminopiridina (0,018 g, 0,147 mmol). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 17 h. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite®, diluída com EtOAc (50 ml), lavada com ácido cítrico aquoso 1 M (30 ml) e salmoura (30 ml) e concentrada a vácuo. O resíduo foi, então, redissolvido em TFA (3 ml) e deixado em agitação à t.a. por 45 min. A mistura de reação foi novamente concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para gerar **811** (0,301 g, quant.) como um óleo incolor.

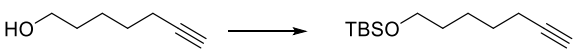
[1191] **R_f** 0,20 (éter de petróleo-EtOAc 1:1); **$[\alpha]_D^{21,2}$** +10,0 (c 0,07 em $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 3.331, 2.917, 2.850, 1.728, 1.692, 1.532, 1.467, 1.451, 1.244, 1.221, 1.198, 1.175; **δ_H** (400 MHz; $CHCl_3$) 7,76 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, FmocH), 7,62 (2H, d, *J* = 7,2 Hz, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,30 (2H, td, *J* = 11,2, 1,0 Hz, FmocH), 5,82 (1H, d, *J* = 7,9 NH), 5,03 a 4,92 (1H, m, H-4), 4,71 a 4,60 (1H, m, H-1), 4,40 (2H, d, *J* =

7,0 Hz, FmocCH$_2$), 4,24 (1H, t, *J* = 7,1 Hz, FmocCH), 4,11 a 4,00 (2H, m, H-8), 3,15 (1H, dd, *J* = 13,9, 4,4 Hz, H-2), 3,04 (1H, dd, *J* = 13,8, 5,8 Hz, H-2), 2,78 a 2,65 (2H, m, H-3), 2,31 (2H, t, *J* = 7,6 Hz, PamCH$_{2\alpha}$alquila), 2,28 (2H, t, *J* = 7,6 Hz, PamCH$_{2\alpha}$alquila), 1,74 a 1,55 (8H, m, 2 × PamCH$_{2\beta}$alquila, H-5, H-7), 1,45 a 1,17 (50H, m, 24 × PamCH$_2$alquila, H-6), 0,88 (6H, t, *J* = 6,8 Hz, 2 × PamCH$_3$alquila); **δ_C** (100 MHz; CHCl$_3$) 174,3 (C, *C*O$_2$H), 174,0 (C, Pam*C*O$_2$), 173,9 (C, Pam*C*O$_2$), 156,1 (C, FmocCO), 143,7 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 125,2 (CH, Fmoc), 120,0 (CH, Fmoc), 72,4 (CH, C-4), 67,4 (CH$_2$, FmocCH$_2$), 64,0 (CH$_2$, C-8), 53,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 36,6 (CH$_2$, C-3), 34,6 (CH$_2$, PamCH$_{2\alpha}$alquila), 34,5 (CH$_2$, PamCH$_{2\alpha}$alquila), 34,4 (CH$_2$, C-2), 32,7 (CH$_2$, C-5), 32,0 (2 × CH$_2$, PamCH$_2$alquila), 29,7 a 29,3 (20 × CH$_2$, PamCH$_2$alquila), 28,3 (CH$_2$, C-7) , 25,0 (2 × CH$_2$, PamCH$_{2\beta}$alquila), 25,0 (2 × CH$_2$, PamCH$_{2\beta}$alquila), 22,7 (2 × CH$_2$, PamCH$_2$alquila), 21,7 (CH$_2$, C-6), 14,4 (2 × CH$_3$, PamCH$_3$alquila); **HRMS** (ESI+) [M + Na]$^+$ 958,6239 calculado para $C_{56}H_{89}NNaO_8S$ 958,6238.

7.1.3 Síntese de conjugado de aminoácido 820 a partir de alceno 814

A) Síntese de alceno 814 a partir de álcool 812

Etapa i

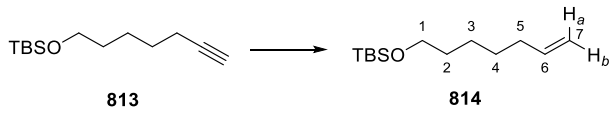


812 **813**

[1192] A uma solução agitada de 6-heptin-1-ol **812** (3,33 ml, 26,75 mmols) em CH_2Cl_2 (80 ml) à t.a., foi adicionado imidazol (1,76 g, 27,01 mmols) e cloreto de *terc*-butildimetilsilila (4,07 g, 27,01 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 24 h. A mistura foi, então, diluída com Et_2O (100 ml) e lavada com água (3 × 100 ml) e salmoura (100 ml). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por filtração através de gel de sílica para gerar alcino **813** (5,68 g, quant.) como um líquido

incolor. Alcino **813** foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem caracterização.

Etapa ii



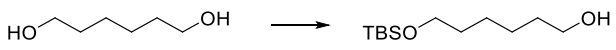
813 **814**

[1193] A uma solução agitada de alcino **813** (5,34 g, 25,18 mmols) em hexano (140 ml) à t.a., foi adicionada quinolina (4,18 ml, 35,26 mmols) e catalisador de Lindar (0,53 g). A mistura de reação foi conectada a um balão preenchido com H_2 (1 atm) e deixada em agitação à t.a. por duas horas. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite® e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9:1) para gerar **814** (5,34 g, quant.) como um óleo incolor.

[1194] $\mathbf{R_f}$ 0,91 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); $\boldsymbol{\delta_H}$ (400 MHz; $CDCl_3$) 5,81 (1H, ddt, *J* = 17,0, 10,3, 6,7 Hz, H-6), 4,99 (1H, dd, *J* =17,0 Hz, H_a-7) 4,93 (1H, dd, *J* = 10,1 Hz, H_b-7), 3,60 (2H, t, *J* = 6,6 Hz, H-1), 2,05 (2H, q, *J* = 7,0 Hz, H-5), 1,56-1,31 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0,05 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); $\boldsymbol{\delta_C}$ (100 MHz; $CDCl_3$) 139,1 (CH, C-6), 114,2 (CH_2, C-7), 63,2 (CH_2, C-1), 33,8 (CH_2, C-5), 33,7 (CH_2, C-4), 28,7 (CH_2, C-3), 26,0 (3 × CH_3, $SiC(CH_3)_3$), 25,3 (CH_2, C-2), 18,4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5,3 (2 × CH_3, $Si(CH_3)_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

B) Síntese de alceno 814 a partir de álcool 815

Etapa i

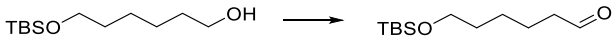


815 **816**

[1195] A uma solução agitada de 1,6-hexanodiol **(815)** (16,00 g, 135,39 mmols) em CH_2Cl_2 (150 ml) à t.a., foi adicionado imidazol (9,22 g, 135,39 mmols) e cloreto de terc-butildimetilsilila (20,41 g, 135,39 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 19 horas.

A mistura foi, então, filtrada, lavada com H_2O (100 ml) e salmoura (100 ml), seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 4:1) para gerar **816** (25,13 g, 80%) como um óleo incolor. Álcool **816** foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem caracterização.

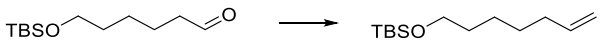
Etapa ii



816 **817**

[1196] A uma solução agitada de álcool **816** (4,90 g, 21,10 mmols) em CH_2Cl_2 (11 ml) a 0°C, foi adicionado dimetilsulfóxido (11,08 ml, 154,05 mmols), Et_3N (14,71 ml, 105,52 mmols) e complexo de trióxido de enxofre e piridina (9,89 g, 63,31 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação a 0°C por 30 min. A mistura foi, então, suprimida com água (20 ml) e extraída com EtOAc (2 × 50 ml). Os extratos orgânicos combinados foram lavados com água (50 ml), salmoura (50 ml), secos sobre Na_2SO_4 e concentrados a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9:1) para gerar **817** (4,71 g, 97%) como um óleo incolor. Aldeído **817** foi usado em etapas sintéticas subsequentes sem caracterização.

Etapa iii



817 **814**

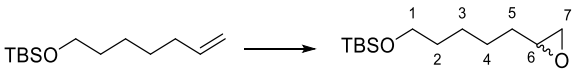
[1197] A uma solução agitada de brometo de metiltrifenilfosfônio (4,60 g, 12,89 mmols) em THF (30 ml) a -78°C, foi adicionada uma solução de *n*-butil-lítio (7,16 ml, 1,8 M, 12,89 mmols) por gotejamento. A mistura resultante foi amornada à t.a. e deixada em agitação por uma hora. A mistura de reação foi, então, resfriada a -78°C e aldeído **817** (2,56 g, 11,21 mmols) em THF (6 ml) foi adicionado por gotejamento. A mistura de reação foi deixada em agitação a -78°C por 3 horas e, então, amornada à t.a. e deixada em agitação por mais 15 horas. A mistura foi, então, suprimida com NH_4Cl aquoso saturado (10 ml) e extraída com

EtOAc (3 × 70 ml). Os extratos orgânicos combinados foram lavados com água (2 × 50 ml), salmoura (50 ml), secos sobre Na_2SO_4 e concentrados a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 99:1) para gerar **814** (2,50 g, 98%) como um óleo incolor.

[1198] **R_f** 0,91 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 5,81 (1H, ddt, *J* = 17,0, 10,3, 6,7 Hz, H-6), 4,99 (1H, dd, *J* =17,0 Hz, H_a-7) 4,93 (1H, dd, *J* = 10,1 Hz, H_b-7), 3,60 (2H, t, *J* = 6,6 Hz, H-1), 2,05 (2H, q, *J* = 7,0 Hz, H-5), 1,56-1,31 (6H, m, H-2, H-3, H-4), 0,89 (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0,05 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 139,1 (CH, C-6), 114,2 (CH_2, C-7), 63,2 (CH_2, C-1), 33,8 (CH_2, C-5), 33,7 (CH_2, C-4), 28,7 (CH_2, C-3), 26,0 (3 × CH_3, $SiC(CH_3)_3$), 25,3 (CH_2, C-2), 18,4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5,3 (2 × CH_3, $Si(CH_3)_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

C) Síntese de conjugado de aminoácido 820 a partir de alceno 814

Etapa i



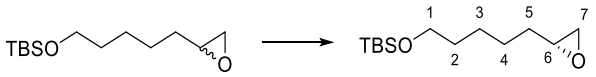
814 **818**

[1199] A uma solução agitada de alceno **814** (4,30 g, 18,40 mmols) em CH_2Cl_2 (40 ml) à t.a. foi adicionado *m*CPBA (4,46 g, 25,84 mmols). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 7 h. A mistura foi, então, filtrada através de Celite®, diluída com Et_2O (60 ml) e lavada com $NaHCO_3$ aquoso saturado (3 × 100 ml) e salmoura (100 ml). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9:1) para gerar **818** (4,30 g, 96%) como um óleo incolor.

[1200] **R_f** 0,63 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 3,60 (2H, t, *J* = 6,5 Hz, H-1), 2,92-2,88 (1H, m, H-6), 2,74 (1H, t, *J* = 4,5 Hz, H-7), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 2,8 Hz, H-7), 1,56-1,36 (8H, m, H-2, H-3, H-4, H-5), (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0,04 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); **δ_C** (100 MHz;

$CDCl_3$) 63,1 (CH_2, C-1), 52,3 (CH, C-6), 47,1 (CH_2, C-7), 32,8 (CH_2, C-5), 32,5 (CH_2, C-2), 26,0 (3 × CH_3, $SiC(CH_3)_3$), 25,8 (CH_2, C-4), 25,7 (CH_2, C-3), 18,4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5,3 (2 × CH_3, $Si(CH_3)_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa ii

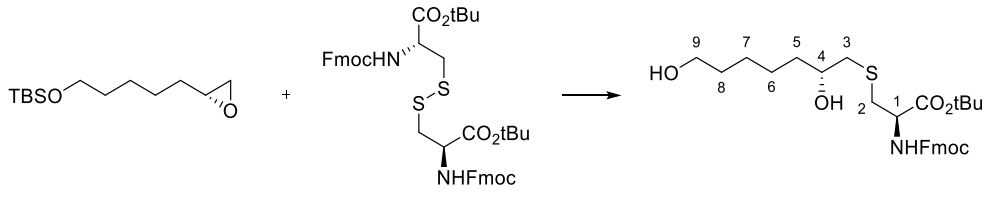


818 **818a**

[1201] A uma solução agitada de epóxido racêmico **818** (2,23 g, 9,13 mmols), (*R*,*R*)-(+)-*N*,*N'*-bis(3,5-di-*terc*-butilsalicilideno)-1,2-ciclo-hexanodiaminocobalto(II) (0,03 g, 0,05 mmol) e ácido acético glacial (0,01 ml, 0,18 mmol) em THF (0,1 ml) a 0°C, foi adicionada água (0,09 ml) por gotejamento. A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 48 h. A mistura foi, então, concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (éter de petróleo-EtOAc, 9: 1) para gerar **818a** (1,09 g, 49%) como um óleo amarelo.

[1202] **R_f** 0,63 (éter de petróleo-EtOAc 9:1); **$[\alpha]_D^{21,3}$** +4,2 (c 0,90 in $CHCl_3$); **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 3,60 (2H, t, *J* = 6,5 Hz, H-1), 2,92-2,88 (1H, m, H-6), 2,74 (1H, t, *J* = 4,5 Hz, H-7), 2,46 (1H, dd, *J* = 5,0, 2,8 Hz, H-7), 1,56-1,36 (8H, m, H-2, H-3, H-4, H-5), (9H, s, $SiC(CH_3)_3$), 0,04 (6H, s, $Si(CH_3)_2$); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 63,1 (CH_2, C-1), 52,3 (CH, C-6), 47,1 (CH_2, C-7), 32,8 (CH_2, C-5), 32,5 (CH_2, C-2), 26,0 (3 × CH_3, $SiC(CH_3)_3$), 25,8 (CH_2, C-4), 25,7 (CH_2, C-3), 18,4 (C, $SiC(CH_3)_3$), -5,3 (2 × CH_3, $Si(CH_3)_2$). Os dados espectroscópicos foram consistentes com aqueles relatados na literatura.

Etapa iii

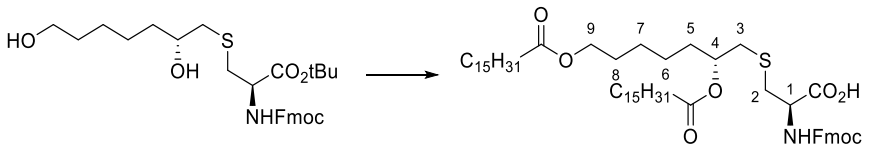


818a **804** **819**

[1203] A uma solução adequada de dissulfeto **804** (0,30 g, 0,375 mmol) em CH_2Cl_2 (1 ml) a 0°C, foi adicionado zinco em pó (0,20 g, 3,01 mmol) e uma mistura recém-preparada de metanol, ácido clorídrico concentrado e ácido sulfúrico concentrado (100:7:1, 1 ml). A mistura resultante foi deixada em agitação a 0°C por 30 min, após o qual foi adicionado epóxido **818a** (0,344 g, 1,13 mmol). A mistura de reação foi deixada em agitação a 70°C por 17 h. A mistura foi, então, diluída com EtOAc (30 ml), filtrada através de um filtro de Celite® e lavada com salmoura (30 ml). A camada aquosa foi extraída com EtOAc (3 × 30 ml) e os extratos orgânicos combinados foram secos sobre $MgSO_4$ anidro e concentrados a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 1:3) para gerar **819** (0,350 g, 88%) como um óleo incolor.

[1204] $\mathbf{R_f}$ 0,4 (hexano-EtOAc 1:3); $\mathbf{[\alpha]_D^{20,8}}$ -20,0 (c 0,03 em EtOAc); $\mathbf{\nu_{max}}$(puro)/cm^{-1} 3.365, 3.933, 1.703, 1.514, 1.450, 1.369, 1.343, 1.248, 1.151, 1.046; $\mathbf{\delta_H}$ (400 MHz; MeOD) 7,79 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, FmocH), 7,68 (2H, d, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,39 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, FmocH), 7,31 (2H, t, *J* = 4,7 Hz, FmocH), 4,34 (2H, d, *J* = 7,1 Hz, FmocCH), 4,28 (1H, dd, *J* = 8,2, 5,1 Hz, H-1), 4,23 (1H, t, *J* = 7,0 Hz, $FmocCH_2$), 3,72 a 3,61 (1H, m, H-4), 3,57 a 3,79 (2H, m, H-9), 3,01 (1H, dd, *J* = 13,8, 5,0 Hz, H-2), 2,86 (1H, dd, *J* = 13,7, 8,3 Hz, H-2), 2,69 (1H, dd, *J* = 13,4, 4,9 Hz, H-3), 2,60 (1H, dd, *J* = 13,4, 7,0 Hz, H-3), 1,57 a 1,34 (17H, m, H-5, H-6, H-7, H-8, $C(CH_3)_3$); $\mathbf{\delta_C}$ (100 MHz; MeOD) 171,8 (C, CO_2tBu), 158,1 (C, FmocCO), 145,3 (C, Fmoc), 142,6 (C, Fmoc), 128,8 (CH, Fmoc), 128,2 (CH, Fmoc), 126,4 (CH, Fmoc), 121,0 (CH, Fmoc), 83,3 (C, $C(CH_3)_3$), 71,9 (CH, C-4), 68,2 (CH_2, $FmocCH_2$), 62,9 (CH_2, C-9), 56,5 (CH, C-1), 50,2 (CH, FmocCH), 40,8 (CH_2, C-3), 37,3 (CH_2, C-5), 35,5 (CH_2, C-2), 33,6 (CH_2, C-8), 28,3 (3 × CH_3, $C(CH_3)_3$), 26,9 (CH_2, C-7), 26,6 (CH_2, C-6); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 552,2390 calculado para $C_{29}H_{39}NNaO_6S$ 552,2393.

Etapa iv



819 820

[1205] A uma solução agitada de diol **819** (0,168 g, 0,317 mmol) e ácido palmítico (0,244 g, 0,951 mmol) em THF (4,6 ml) à t.a., foi adicionada *N,N'*-di-isopropilcarbodiimida (0,191 ml, 1,269 mmol) e 4-dimetilaminopiridina (0,016 g, 0,127 mmol). A mistura de reação foi deixada em agitação à t.a. por 17 horas. A mistura foi, então, filtrada através de um filtro de Celite®, diluída com EtOAc (30 ml), lavada com ácido cítrico aquoso 1 M (30 ml) e salmoura (30 ml) e concentrada a vácuo. O resíduo foi, então, redissolvido em TFA (3 ml) e deixado em agitação à t.a. por 45 min. A mistura de reação foi novamente concentrada a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (hexanos-EtOAc, 9:1 → 0:1) para gerar **820** (0,301 g, quant.) como um óleo incolor.

[1206] **R_f** 0,21 (éter de petróleo-EtOAc 1:1); **$[\alpha]_D^{20,8}$** +7,5 (c 0,24 em $CHCl_3$); **ν_{max}**(puro)/cm^{-1} 3.319, 2.919, 2.851, 1.722, 1.521, 1.471, 1.450, 1.221, 1.055; **δ_H** (400 MHz; $CDCl_3$) 7,76 (2H, d, *J* = 7,6 Hz, FmocH), 7,61 (2H, d, *J* = 7,3 Hz, FmocH), 7,40 (2H, t, *J* = 7,7 Hz, FmocH), 7,30 (2H, td, *J* = 11,2, 1,1 Hz, FmocH), 5,82, (1H, d, *J* = 7,7 Hz, NH), 5,00 a 4,94 (1H, m, H-4), 4,64 (1H, dd, *J* = 12,3, 5,6 Hz, H-1), 4,40 (2H, d, *J* = 7,1 Hz, FmocCH_2), 4,24 (1H, t, *J* = 7,1 Hz, FmocCH_2), 4,10 a 4,00 (2H, m, H-9), 3,14 (1H, dd, *J* = 13,8, 4,3 Hz, H-2), 3,04 (1H, dd, *J* = 13,8, 5,6 Hz, H-2), 2,76 a 2,67 (2H, m H-3), 2,31 (2H, t, *J* = 7,6 Hz, Pam$CH_{2\alpha}$alquila), 2,28 (2H, t, *J* = 7,6 Hz, Pam$CH_{2\alpha}$alquila), 1,65 a 1,56 (8H, m, 2 × Pam$CH_{2\beta}$alquila, H-8, H-5), 1,39 a 1,18 (52H, m, 24 × PamCH_2alquila, H-6, H-7), 0,88 (6H, t, *J* = 6,9 Hz, 2 × PamCH_3alquila); **δ_C** (100 MHz; $CDCl_3$) 174,4 (C, *C*O_2H), 156,1 (C, FmocCO), 143,7 (C, Fmoc), 141,3 (C, Fmoc), 127,8 (CH, Fmoc), 127,1 (CH, Fmoc), 125,2 (CH, Fmoc),

120,0 (CH, Fmoc), 72,4 (CH, C-4), 67,5 (CH_2, FmocCH_2), 64,2 (CH_2, C-9), 53,6 (CH, C-1), 47,1 (CH, FmocCH), 36,5 (CH_2, C-3), 34,6 (CH_2, C-2), 34,3 (2 × CH_2, Pam$CH_{2\alpha}$alquila), 33,0 (CH_2, C-5), 31,9 (2 × CH_2, PamCH_2alquila) 29,7 a 28,4 (21 × CH_2, PamCH_2alquila, C-8), 25,5 (CH_2, C-7), 25,0 (2 × CH_2, Pam$CH_{2\beta}$alquila), 24,8 (CH_2, C-6), 22,7 (2 × CH_2, PamCH_2alquila), 14,1 (2 × CH_3, PamCH_3alquila); **HRMS** (ESI+) $[M + Na]^+$ 972,6358 calculado para $C_{57}H_{91}NNaO_8S$ 972,6392.

3. Exemplo 3

[1207] Esse exemplo investiga agonismo de TLR2 humano de compostos da presente invenção em comparação com um conjugado de um agonista de TLR2 conhecido ((R)-PAM_2Cys).

3.1 Síntese de conjugado de peptídeo

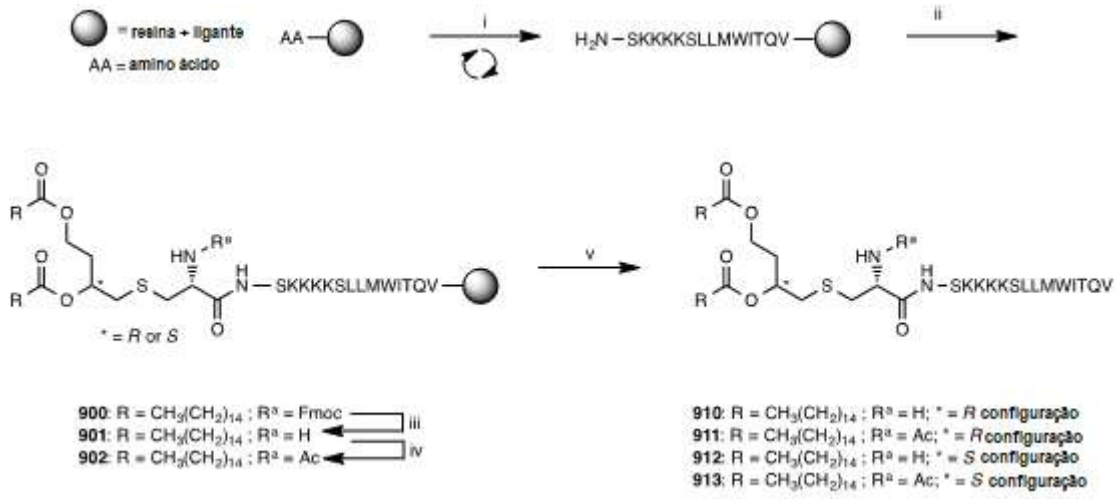
3.1.1 Síntese dos compostos 910, 911, 912 e 913

Procedimento A

[1208] Conjugados de peptídeo da invenção **910, 911, 912** e **913** (representados na Tabela 1) que compreendem a sequência de peptídeos SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: **139**] foram preparados como descrito e representado abaixo (**Esquema 1**).

[1209] A sequência de peptídeos SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: **139**] inclui um epítopo de peptídeo imunogênico (sublinhado), que é um análogo da sequência derivada da proteína NY-ESO-1 (NY-ESO-1 157 a 165) e pode ser usada para estimular a células T CD8+ específicas a NY-ESO-1 humana como descrito em Chen, JL et al. *The Journal of Immunology,* **2000**, *165*, 948 a 955.

[1210] Acredita-se que o marcador solubilizante SKKKK melhore o manuseio e facilite a purificação do peptídeo potencialmente lipofílico.



Esquema 1. (i) Fmoc-SPPS iterativo; (ii) (R)- ou (S)- Fmoc-Cys-OH6 bis-pamitoilado, PyBOP, colidina, DMF; (iii) 20% de piperidina/DMF; (iv) Ac_2O/DMF/N-metilmorfolina; (v) TFA/EDT/água.

[1211] A sequência de peptídeos desejada foi sintetizada com o uso de técnicas de Síntese de Peptídeos de Fase Sólida Fmoc iterativas padrão em um sintetizador de peptídeos Tribute (Protein Technologies International, Tucson, AZ).

[1212] Uma desproteção típica e o ciclo de acoplamento executado em uma escala de 0,1 mmol acarretaram na remoção do grupo protetor Fmoc do aminoácido ligado por resina com o uso de dois tratamentos de 20% de piperidina em DMF (4 ml x 5 min), então, lavagem da resina com DMF. Em um vaso separado, o aminoácido Fmoc (0,5 mmol) e o agente de acoplamento (hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridínio (HATU), 0,45 mmol) foram dissolvidos em DMF (1,5 ml) e base (4-metilmorfolina (NMM), 1 mmol) adicionada. Após mistura por 1 minuto, essa solução foi transferida para a resina, que foi agitada à temperatura ambiente (TA) por 1 hora, drenada e lavada.

[1213] HPLC de fase reversa (RP) foi executada com o uso de um sistema de HPLC Dionex Ultimate 3000 com detecção de UV a 210 nm ou 225 nm. Para purificações semipreparativas, uma amostra de peptídeo foi injetada em uma coluna de fase reversa Phenomenex

Gemini C18 (5 µ, 110Å; 10 x 250 mm) equilibrada em uma mistura adequada de eluente A (água/0,1% de TFA) e eluente B (MeCN/0,1% de TFA), então, um gradiente crescente de eluente B foi gerado para eluir os componentes constituintes. HPLC analítica foi realizada similarmente, com o uso de uma coluna Phenomenex Gemini C18 (3 µ, 110 Å; 4,6 x 150 mm). Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos com o uso de um espectrômetro de massa Agilent Technologies 6120 Quadrapole. Após acoplar o penúltimo resíduo de aminoácido, a cadeia peptídica ligada à resina foi então derivatizada com o diastereômero desejado do conjugado de aminoácido 6 com o uso de BOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-óxi-tris-(dimetilamino)-fosfônio) e colidina em DMF . As condições para o acoplamento do conjugado de aminoácido reduzem a propensão do α-carbono do aminoácido a epimerizar na ativação. O conjugado de aminoácido (0,1 mmol) e BOP (0,095 mmol) foram combinados e dissolvidos em DMF (1,0 ml). 2,4,6-trimetilpiridina pura (0,2 mmol) foi adicionada. Após a mistura por 30 segundos, a solução foi transferida para 0,02 mmol de resina que foi, então, agitada por 60 minutos, drenada e lavada (DMF) para proporcionar **900**.

[1214] O grupo Fmoc foi, então, removido com o uso de 20% de piperidina em DMF para fornecer **901**.

[1215] O grupo amino terminal pode então ser acetilado com o uso de Anidrido acético em DMF para fornecer **902**. A resina (0,01 mmol) foi suspensa em DMF (2 ml) anidrido acético (0,1 ml) e N- metilmorfolina (0,1 ml) foram adicionadas, e a mistura foi agitada por 5 minutos. A resina foi então drenada e lavada extensivamente com DMF.

[1216] O peptídeo **901** foi clivado a partir da resina para fornecer o conjugado de peptídeo **910** com a configuração R na posição indicada e R^a = H ou o conjugado de peptídeo **912** com a configuração S na posição indicada e R^a = H (**Esquema 1**). O peptídeo **902** foi clivado a

partir da resina para fornecer o conjugado de peptídeo **911** com a configuração R na posição indicada e R^a = Acetila ou o conjugado de peptídeo **913** com a configuração S na posição indicada e R^a = Acetila (**Esquema 1**). A resina (0,01 mmol) em 1,0 ml de ácido trifluoroacético contendo 5% (v/v) de 2,2'-(etilenodióxi)dietanotiol foi agitada à temperatura ambiente por duas horas. O sobrenadante foi, então, drenado através de um sinter em éter dietílico resfriado (10 ml). A resina foi, então, lavada com mais 1 ml de TFA, que foi também adicionado ao éter. O material precipitado foi peletizado por centrifugação, e o pélete lavado uma vez com éter (5 ml) antes de ser dissolvido em MeCN/Água a 1:1 (+0,1% de tfa) e liofilizado.

[1217] A purificação de **910**, **911**, **912** e **913** foi realizada por HPLC semipreparativa com o uso de uma coluna Phenomenex Gemini C18 (5µ, 110Å) 10x250mm com o eluente A sendo água (+0,1% tfa) e o eluente B sendo MeCN (+0,1% tfa). Após a injeção da amostra de peptídeo bruto na coluna, o seguinte gradiente foi gerado: 5% de B a 50% de B por 1,5 minutos, seguido por 50% de B a 100% de B por 23,5 minutos a um fluxo de 4 ml/min. O material de produto desejado foi coletado em eluição da coluna e seco por congelamento.

[1218] **910**: *m/z* (ESI) 1179,9 [$M+2H^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (3µ, 110Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 100% de B por 25 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 22,9 min.

[1219] **911**: *m/z* (ESI) 1201,0 [$M+2H^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (3µ, 110Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 100% de B por 25 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 24,3 min.

[1220] **912**: *m/z* (ESI) 1179,9 [$M+2H^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (3µ, 110Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 100%

de B por 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 22,8 min.

[1221] **913**: *m/z* (ESI) 1200,9 [M+2H$^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (3μ, 110Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 100% de B por 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 24,1 min.

[1222] **912**: *m/z* (ESI) 1179,9 [M+2H$^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (3μ, 110Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 100% de B por 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 22,8 min.

[1223] **913**: *m/z* (ESI) 1200,9 [M+2H$^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (3μ, 110Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 100% de B por 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 24,1 min.

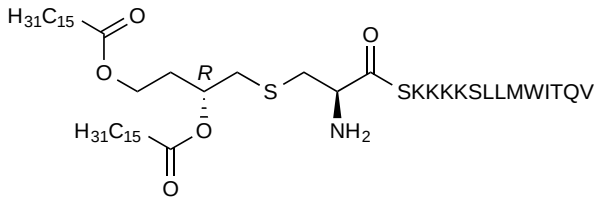
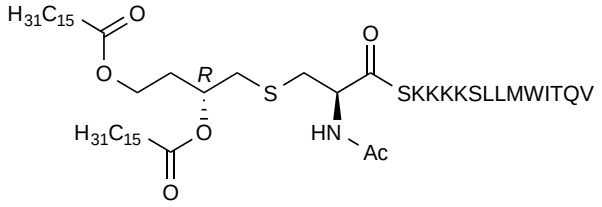
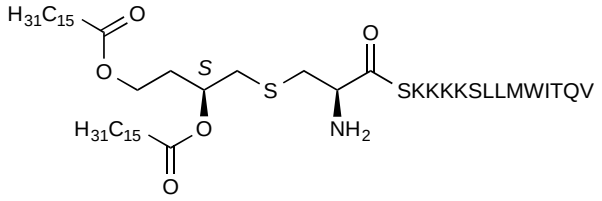
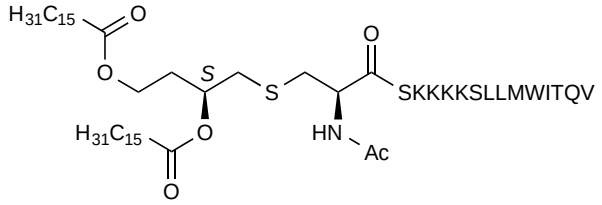
Nº	Estrutura
910	
911	
912	
913	

Tabela 1: Estruturas de conjugados peptídicos 910 a 913. Todas as estruturas compreendem a sequência de peptídeos SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: 139]

Procedimento B

[1224] Conjugados de peptídeo da invenção **910, 911, 912** e **913** (representados na Tabela 1) também foram preparados pelo seguinte procedimento alternativo.

[1225] Os aminoácidos Fmoc foram fornecidos com a seguinte proteção de cadeia lateral: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(O*t*Bu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Leu-OH,Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH,Fmoc-Phe-OH,

Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Ser(*t*Bu)-OH, Fmoc-Thr(*t*Bu)-OH, Fmoc-Tyr(O*t*Bu)-OH, Fmoc-Val-OH.

[1226] A purificação foi realizada com o uso de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) de Fase Reversa (RP) semipreparativa com o uso de uma coluna e executando um gradiente como descrito por procedimento para cada peptídeo. HPLC-RP tanto semipreparativa quanto analítica foram conduzidas com o uso de um sistema Dionex Ultimate 3000 HPLC com o sistema de solvente descrito. As frações mais puras foram combinadas e liofilizadas. Os cromatogramas de espectrometria de massa-cromatografia líquida (LC-MS) foram adquiridos em um sistema Agilent 1120 Compact LC com um espectrômetro de massa Hewlett Packard série 1100 MSD.

Preparação de resina peptidil **390** compreendendo resíduo de aminoácido:



[1227] A resina Tentagel (0,581 g, escala de 0,25 mmol) foi intumescida em DMF (6 ml) por 10 min. Fmoc-L-Val-O-CH_2-*p*C_6H_4-$OCH_2CH_2CO_2H$ (0,155 g, 0,30 mmol) e HATU (0,114 g, 0,30 mmol) foram dissolvidos em DMF (3 ml) e ativado com *N*-metilmorfolina (0,055 ml, 0,50 mmol) por 1 min. A mistura resultante foi adicionada à resina e agitada durante uma hora à t.a. A resina foi drenada e lavada com DMF (2 x 3 ml). A resina foi então tratada com piperidina a 20% v/v em DMF (2 ml) e agitada por 10 min à t.a.. A resina foi drenada e o processo repetido. A resina foi drenada e lavada com DMF (4 x 3 ml). A resina foi transferida para um recipiente de reação de sintetizador de peptídeo automatizado Tribute®. O peptídeo foi então alongado com o uso de um sintetizador de peptídeos automático Tribute®. A síntese automatizada foi realizada por ciclos alternados de acoplamento de Fmoc-AA-OH e desproteção de Fmoc. A resina foi lavada com DMF (5 × 4 ml) antes da

adição da mistura de acoplamento, que consistiu em Fmoc-AA-OH (5 eq.) E HATU (4,75 eq.) em DMF (2,5 ml) e 2M de *N*-metilmorfolina em DMF (1,5 ml). Após a conclusão do acoplamento após agitação por 1 h à t.a., a resina foi drenada e lavada com DMF (5 × 4 ml). A resina foi tratada com Ac_2O (4 ml) e agitada durante 10 min à t.a.. A resina foi drenada, lavada com DMF (5 × 4 ml), tratada com 20% v/v de piperidina em DMF (4 ml) e agitada por 10 min. A resina foi drenada e o processo foi repetido. O próximo ciclo de lavagem, acoplamento e desproteção foi repetido até que todos os aminoácidos na sequência fossem acoplados. A resina foi então lavada com DMF (2 x 4 ml) e CH_2Cl_2 (2 x 4 ml) para gerar a resina peptidil **390** (0,957 g, 0,261 mmol g^{-1} de carga).

Síntese dos peptídeos lipidados 910, 911, 912 e 913:

[1228] A resina peptidil **390** (0,038 g, escala de 0,01 mmol) foi intumescida em DMF (2 ml) por 10 min. Fmoc-(S)-homoPam_2Cys-OH (**6B**), para a preparação de **910** e **911**, ou Fmoc-(R)-homoPam_2Cys-OH (**6A**), para a preparação de **912** e **913**, (0,045 g, 0,5 mmol) e PyBOP (0,025 g, 0,0475 mmol) foram dissolvidos em DMF (1 ml) e ativados com 2,4,6-colidina (0,013 ml, 0,10 mmol) por 1 min. A mistura resultante foi adicionada à resina e agitada durante uma hora à t.a. para gerar a resina peptidil protegida. A resina foi drenada e lavada com DMF (3 x 2 ml), um teste subsequente de Ninidrina foi negativo. A resina foi então tratada com piperidina a 20% v/v em DMF (2 ml) e agitada por 10 min à t.a.. A resina foi drenada e o processo repetido. A resina foi drenada, lavada com DMF (3 x 2 ml) e CH_2Cl_2 (3 x 2 ml).A resina foi então (a), para a preparação de **911** e **913**, tratada com Ac_2O (2 ml) e agitada por 10 min à t.a., então, drenada e lavada com CH_2Cl_2 (2 ml); ou (b) para a preparação de **910** e **913**, drenada e lavada com CH_2Cl_2 (2 ml).

[1229] A resina peptidil foi clivada e precipitada como a seguir para gerar o peptídeo bruto. O peptídeo ligado à resina foi tratado com um coquetel de clivagem de 5% de DODT:TFA e agitado por 3 h à t.a.. A

resina foi separada da solução de coquetel de clivagem por filtração e o filtrado foi tratado com éter dietílico frio para precipitar o peptídeo bruto seguido por centrifugação a 4.000 rpm por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o pélete foi lavado com éter dietílico e a centrifugação foi repetida mais uma vez. Após descartar o sobrenadante, o pélete de peptídeo resultante foi seco sob um fluxo de N_2 e liofilizado a partir de MeCN:H_2O (1:1) + 0,1% de TFA.

[1230] O peptídeo bruto foi purificado por HPLC-RP semipreparativa em uma coluna Phenomenex Gemini C18 (5 µ, 110 Å, 10,0 x 250 mm) executando um gradiente de 5 a 50% (45% MeCN por min) e, então, 50 a 100% (2% de MeCN por min) MeCN em H_2O + 0,1% de TFA à t.a.. Os peptídeos purificados **910**, **911**, **912**, e **913** foram obtidos como sólidos amorfos.

[1231] **910:** (6 mg, 22% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 22,9 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1179,8 calculado para $C_{117}H_{210}N_{21}O_{24}S_2$ 1179,9.

[1232] **911:** (3 mg, 12% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 24,2 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1201,1 calculado para $C_{119}H_{212}N_{21}O_{25}S_2$ 1201,3.

[1233] **912:** (5 mg, 26% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 22,7 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1179,8 calculado para $C_{117}H_{210}N_{21}O_{24}S_2$ 1179,9.

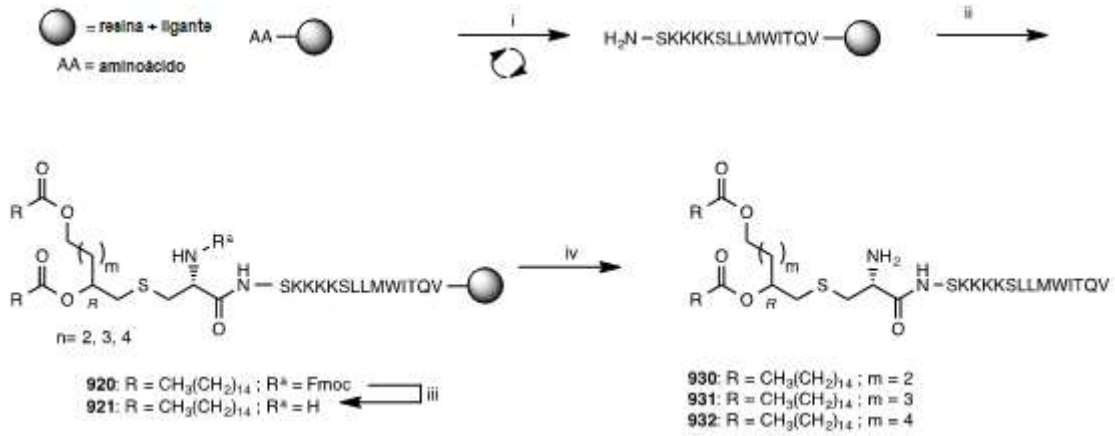
[1234] **913:** (3 mg, 12% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 24,2 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de

um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1201,1 calculado para $C_{119}H_{212}N_{21}O_{25}S_2$ 1201,3.

3.1.2 Síntese dos compostos 930, 931 e 932

Procedimento A

[1235] Conjugados de peptídeo da invenção **930, 931, e 932** (representados na Tabela 1) que compreendem a sequência de peptídeos SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: **139**] foram preparados como descrito e representado abaixo (**Esquema 2**).



Esquema 2. (i) Fmoc-SPPS iterativo; (ii) Fmoc-Cys-OH (R)-bis-pamitoilado 806 (m=2) ou 811 (m=3) ou 820 (m=4), PyBOP, colidina, DMF; (iii) 20% de piperidina/ DMF; (iv) TFA/EDT/água.

[1236] A sequência de peptídeos desejada foi sintetizada com o uso de conjuntos de procedimentos de Fmoc SPPS padrão conforme descrito acima.

[1237] Após acoplar o penúltimo resíduo de aminoácido, a cadeia de peptídeo ligada à resina foi então derivatizada com o conjugado **806**, **811** ou **820** com o uso de PyBOP (benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfônio hexafluorofosfato) e colidina em DMF. As condições para o acoplamento do conjugado de aminoácido reduzem a propensão do α-carbono do aminoácido a epimerizar na ativação. O conjugado de aminoácido (0,1 mmol) e BOP (0,095 mmol) foram combinados e dissolvidos em DMF (1,0 ml). 2,4,6-trimetilpiridina pura

(0,2 mmol) foi adicionada. Após misturar por 60 segundos, a solução foi transferida para 0,02 mmol de resina que foi, então, agitada por 60 minutos, drenada e lavada (DMF) para proporcionar **920** (m = 2, 3, ou 4).

[1238] O grupo Fmoc foi, então, removido com o uso de piperidina a 20% em DMF para fornecer **921** (m = 2, 3 ou 4).

[1239] O peptídeo **921** (m = 2, 3 ou 4) foi clivado da resina para fornecer o conjugado de peptídeo **930** (m = 2) com a configuração *R* na posição indicada **(Esquema 2)**, o conjugado de peptídeo **931** (m = 3) com a configuração *R* na posição indicada, ou conjugado de peptídeo **932** (m = 4) com a configuração *R* na posição indicada. A resina (0,01 mmol) em 1,0 ml de ácido trifluoroacético contendo 5% (v/v) de 2,2'-(etilenodioxi)dietanotiol foi agitada à temperatura ambiente por 2 horas. O sobrenadante foi, então, drenado através de um sinter em éter dietílico resfriado (10 ml). A resina foi, então, lavada com mais 1 ml de TFA, que foi também adicionado ao éter. O material precipitado foi peletizado por centrifugação, e o pélete lavado uma vez com éter (5 ml) antes de ser dissolvido em MeCN/Água a 1:1 (+0,1% de tfa) e liofilizado.

[1240] A purificação de **930**, **931** e **932** foi realizada por HPLC semi-preparativa com o uso de uma coluna Phenomenex Gemini C18 (5µ, 110Å) 10x250mm com o eluente A sendo água (+ 0,1% tfa) e o eluente B sendo MeCN (+ 0,1% tfa). Após a injeção da amostra de peptídeo bruto na coluna, o seguinte gradiente foi gerado: 5% de B a 45% de B durante 3 minutos, seguidos por 45% de B a 65% de B durante 16 minutos a um fluxo de 4 ml/min. O material de produto desejado foi coletado em eluição da coluna e seco por congelamento.

[1241] **930**: *m/z* (ESI) 1186,6 [$M+2H^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (5µ, 300 Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 a 95% de B durante 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 25,3 min.

[1242] **931**: *m/z* (ESI) 1193,6 [M+2H$^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (5µ, 300 Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 a 95% de B durante 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 25,7 min.

[1243] **932**: *m/z* (ESI) 1200,8 [M+2H$^+$]. Análise por HPLC: Coluna: Phenomenex Gemini C18 (5µ, 300 Å, 4,6 x 150 mm); eluente A, água/0,1% de TFA; eluente B: MeCN/0,1% de TFA; gradiente: 5 a 95% de B durante 30 min a 1 ml/min. Tempo de permanência: 26,2 min.

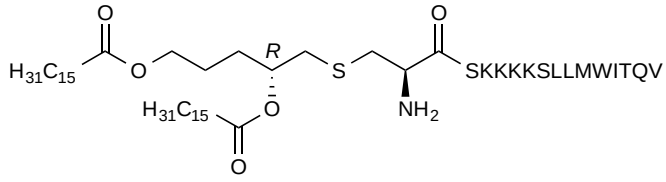
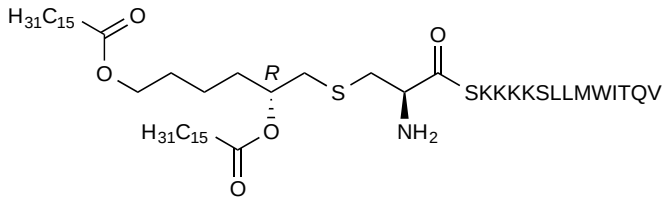
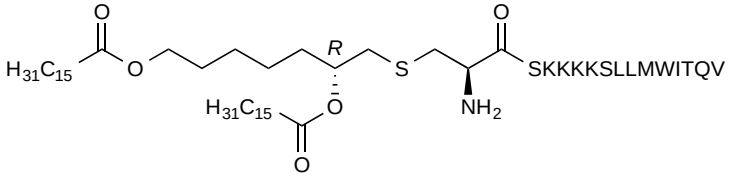
Nº	Estrutura
930	
931	
932	

Tabela 2: Estruturas de conjugados de peptídeo 930 a 932. Todas as estruturas compreendem a sequência de peptídeos SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: 139]

Procedimento B

[1244] Os conjugados de peptídeo da invenção **930**, **931** e **932** (representados na Tabela 2) também foram preparados pelo procedimento alternativo a seguir.

[1245] Os aminoácidos Fmoc, purificação e LCMS foram como estabelecidos no Procedimento B da seção 3.1.1 deste Exemplo.

Síntese dos peptídeos lipidados 930, 931 e 932:

[1246] A resina peptidil **390**, preparada como estabelecido no Procedimento B da seção 3.1.1 deste Exemplo, (0,083 g, escala de 0,02 mmol) foi intumescida em DMF (2 ml) por 10 min. Os aminoácido **806** (0,092 g, 0,10 mmol), **811** (0,093 g, 0,10 mmol) ou **820** (0,095 g, 0,10 mmol), para a preparação de **930**, **931** ou **932**, respectivamente, e BOP (0,042 g, 0,095 mmol) foram dissolvidos em DMF (2 ml) e ativados com colidina (0,026 ml, 0,20 mmol) por 1 min. A mistura resultante foi adicionada à resina e agitada por uma hora à t.a. para gerar a resina peptidil protegida. A resina foi drenada e lavada com DMF (3 x 2 ml), um teste subsequente de Ninidrina foi negativo. A resina foi então tratada com piperidina a 20% v/v em DMF (2 ml) e agitada por 10 min à t.a.. A resina foi drenada e o processo repetido. A resina foi drenada, lavada com DMF (3 x 2 ml) e CH_2Cl_2 (3 x 2 ml).

[1247] A resina peptidil foi clivada e precipitada como a seguir para gerar o peptídeo bruto. O peptídeo ligado à resina foi tratado com um coquetel de clivagem de 5% de DODT:TFA e agitado por 3 h à t.a.. A resina foi separada da solução de coquetel de clivagem por filtração. Todos os voláteis foram removidos com o uso de um fluxo de N2 e o resíduo resultante foi liofilizado de MeCN:H2O (1:1) + 0,1% de TFA.

[1248] O peptídeo bruto foi purificado por HPLC-RP semi-preparativa em uma coluna Phenomenex Gemini C18 (5 µ, 110 Å, 10,0 x 250 mm) executando um gradiente de 5 a 50% (45% MeCN por min) e, então, 50 a 100% (2% de MeCN por min) MeCN em H_2O + 0,1% de TFA à t.a.. Os peptídeos purificados **930**, **931** e **932** foram obtidos como sólidos amorfos.

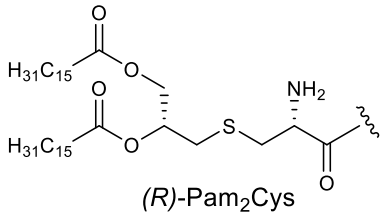
[1249] **930:** (8 mg, 17% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 20,9 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1187,1 calculado para

$C_{118}H_{213}N_{21}O_{24}S_2$ 1186,6.

[1250] **931:** (9 mg, 19% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 25,7 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1194,1 calculado para $C_{119}H_{215}N_{21}O_{24}S_2$ 1193,6.

[1251] **932**: (9 mg, 19% com >98% de pureza). $\mathbf{R_t}$ 25,7 min em uma coluna Phenomenex Gemini C18 3µ 110Å 4,6 x 150 mm com o uso de um gradiente de 5 a 100% MeCN:H_2O + 0,1% de TFA, 3,8% de MeCN por min; **LRMS** (ESI+) $[M + 2H]^{2+}$ 1201,1 calculado para $C_{120}H_{217}N_{21}O_{24}S_2$ 1200,8.

3.1.3 (R)-Pam2Cys-SK_4-SLLMWITQV



[1252] O conjugado de peptídeo (R)-Pam2Cys-SK_4-SLLMWITQV foi preparado com o uso de métodos análogos aos descritos no presente documento acima.

3.2 Agonismo do receptor tipo Toll 2 (TLR2) com o uso de células Hek-Blue

[1253] O meio de detecção HEK-Blue™ e as células HEK-Blue™-hTLR2 foram adquiridos à Invivogen. As células HEK-Blue ™ expressam níveis endógenos de (h)TLR1 e hTLR6 humano e exibem a cotransfecção de hTLR2 e do gene repórter SEAP (fosfatase alcalina embrionária secretada). O gene repórter SEAP está sob o controle do promotor mínimo de IFN-β fundido a cinco locais de ligação a AP-1 e cinco NF_KB . As células foram cultivadas de acordo com as instruções do fabricante.

[1254] No dia do ensaio, os agonistas de TLR: **910**; **930**; **931**; **932**; **(R)-Pam2Cys-SK$_4$-SLLMWITQV**; ou **PBS** (controle negativo) foram semeados em 20 µl de água sem endotoxina em uma placa de 96 poços. Todos os construtos testados foram produzidos internamente, como descrito acima. As células HEK-Blue™-hTLR2 foram ressuspensas a ~2,78 x 10^5 células/ml em meio de detecção HEK-Blue™ e 180 µl da suspensão de células foram adicionados a cada poço (~5x10^4 células) para gerar as concentrações finais de agonista, como indicado em uma série de diluição de 7-log$_{10}$ (10^{-6} M a 10^{-12} M). As células foram incubadas por 16 horas a 37°C em 5% de CO2. A expressão de SEAP foi quantificada com o uso de um leitor de placa EnSpire (PerkinElmer) a 635 nM. Os dados apresentados como valores de ABS médios +/- SD (635nm) para poços triplicados após subtração de fundo.

Resultados

[1255] Os resultados são mostrados na Figura 1. Todos os construtos analisados exibiram agonismo de hTLR2 em concentrações variando de 10^{-6} a 10^{-11} M. Os construtos **930** (barras cinza), **931** (barras listradas) e **932** (barras quadradas tracejadas) exibiram um agonismo de TLR2 humano comparável a **910** (barras brancas pontilhadas) e a **Pam2Cys-SKKKK-SLLMWITQV** (barras pretas) em cada concentração (10^{-6} a 10^{-11} M), demonstrando que a extensão da homologação não inibe a ligação ou a sinalização através de TLR2 humano por construtos de lipopeptídeos diacilados.

4. Exemplo 4

[1256] Esse exemplo investiga o agonismo de TLR2 humano dos compostos da presente invenção em comparação com os conjugados de agonistas de TLR2 conhecidos ((R)-Pam2Cys, (S)-Pam2Cys, (R)-Pam3Cys e (S)-Pam3Cys).

4.1 Conjugados de peptídeo

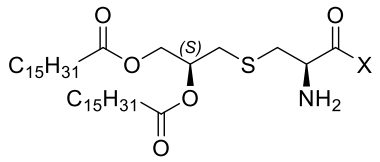
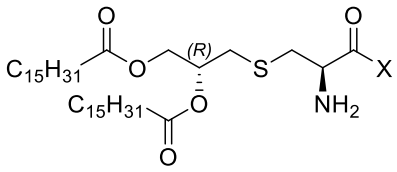
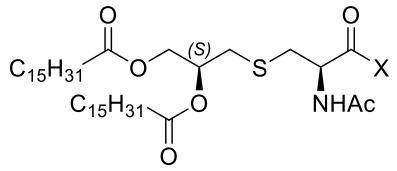
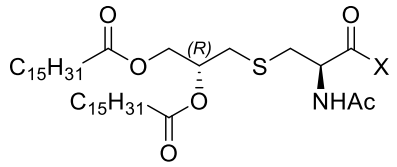
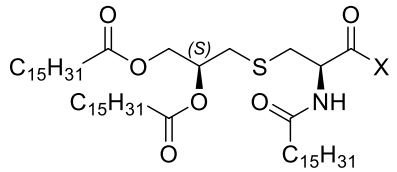
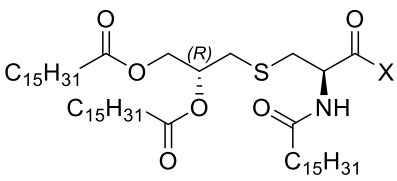
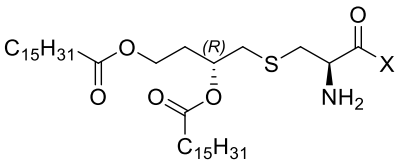
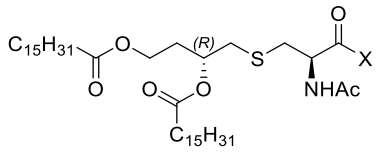
[1257] Os conjugados de peptídeo testados estão listados nas Tabelas 3 e 4 abaixo. Os conjugados de peptídeo **910**, **911, 912**, **913**, **930**, **931** e **932** foram preparados como descrito acima no Exemplo 3. Os conjugados de peptídeo **45a**, **45b**, **46a**, **46b**, **47a**, **47b** foram preparados com o uso de métodos análogos aos descritos no presente documento acima.

4.2 Agonismo do receptor tipo Toll 2 (TLR2) com o uso de células Hek-Blue

[1258] O agonismo de TLR2 humano pelos conjugados de peptídeo foi investigado com o uso de células HEK-Blue™-hTLR2 e meio de detecção Hek-Blue™ (Invivogen) em uma série de diluição de 8-$\log_{10}$ (10^9 fM a 10^2 fM). Os agonistas foram diluídos e incubados com células HEK-Blue™-hTLR2 por 16 h, e a absorbância de poço (ABS) foi determinada a 655 nm com o uso de um leitor de microplacas Ultramark™ (BioRad). Os valores de EC^{50} (nM) foram determinados pelo ajuste de curva de regressão não linear dos valores de ABS normalizados (655 nm) com o uso do software Prism 7 (GraphPad).

Resultados

[1259] Os valores de EC_{50} foram determinados para os construtos homoPam2Cys **910**, **911**, **912** e **913** e comparados com os valores de EC_{50} para os construtos correspondentes Pam2Cys **45a** e **45b**, construtos Pam2Cys N-acetilados **46a** e **46b** e construtos Pam3Cys **47a** e **47b** (Tabela 3). Os resultados para o ensaio de agonismo de hTLR são mostrados na Figura 2A. Todas os construtos exibiram agonismo de hTLR2. Os construtos *Homo*Pam2Cys demonstraram atividade comparável aos construtos Pam2Cys e Pam3Cys correspondentes. Os construtos (*S*)-*homo*Pam2Cys **912** e **913** mostraram atividade aprimorada sobre os construtos (S)-Pam2Cys **45a** e **46a**, bem como atividade comparável ao construto **47b** (R)-Pam_3Cys.

Nº	Estrutura	EC_{50} (nM)
45a		155,693
45b		0,468
46a		150,598
46b		0,281
47a		161,006
47b		22,959
910		0,609
911		1,162

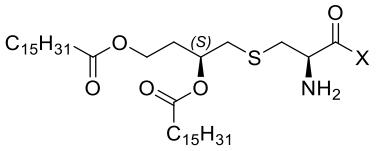
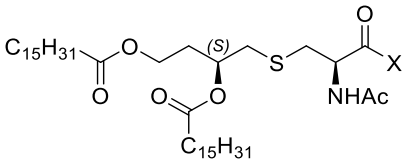
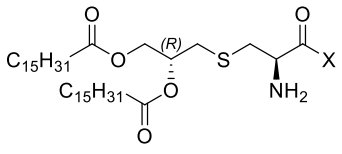
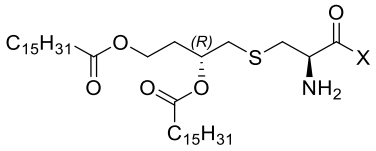
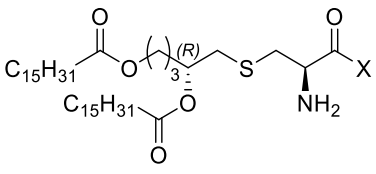
912		46,156
913		17,381

Tabela 3: Estruturas dos conjugados de peptídeo 45a, 45b, 46a, 46b, 47a, 47b, 910 a 913 e EC_{50} para agonismo de TLR2 humano, como determinado pelo ensaio HEK-Blue™. X = -SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: 139].

[1260] Os valores de EC_{50} foram, então, determinados para os construtos de cadeia estendida **930**, **931** e **932** e comparados aos valores de EC_{50} para o construto homoPam2Cys **910** e o construto Pam2Cys **45b** correspondente (Tabela 4). Os resultados do ensaio de agonismo de hTLR são mostrados na Figura 2B. Todas os construtos analisados exibiram um agonismo significativo de hTLR2. Os construtos **930** e **931** tiveram valores de EC_{50} similares a **910** e **45b**. O construto **932** exibiu atividade ligeiramente reduzida em comparação ao construto **910**.

Nº	**Estrutura**	**EC_{50} (nM)**
45b		0,468
910		0,609
930		0,383

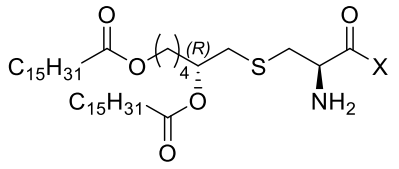
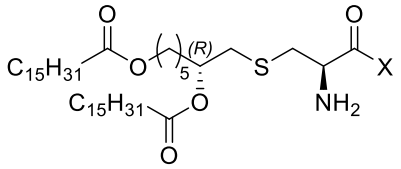
931		0,304
932		4,445

Tabela 4: Estruturas dos conjugados de peptídeo 45b, 910, 930 a 932 e EC_{50} para agonismo de TLR2 humano, como determinado pelo ensaio HEK-Blue™. X = SKKKKSLLMWITQV [SEQ ID Nº: 139].

5. Exemplo 5

[1261] Esse exemplo investiga o agonismo de TLR2 murino dos compostos da presente invenção em comparação com os conjugados de agonistas de TLR2 conhecidos ((R)-Pam2Cys, (S)-Pam2Cys, (R)-Pam3Cys e (S)-Pam3Cys).

5.1 Conjugados de peptídeo

[1262] Os conjugados de peptídeo testados estão listados nas Tabelas 3 e 4 acima. Os conjugados de peptídeo **910**, **911, 912**, **913**, **930**, **931** e **932** foram preparados como descrito acima no Exemplo 3. Os conjugados de peptídeo **45a**, **45b**, **46a**, **46b**, **47a**, **47b** foram preparados com o uso de métodos análogos aos descritos no presente documento acima.

5.2 Agonismo do receptor tipo Toll 2 (TLR2) com o uso de células Hek-Blue

[1263] O agonismo de TLR2 murino pelos conjugados de peptídeo foi investigado com o uso de células HEK-Blue™-mTLR2 e meio de detecção Hek-Blue™ (Invivogen) em uma série de diluição de 8-log_{10} (10^9 fM a 10^2 fM) como descrito no Exemplo 4 acima.

Resultados

[1264] Os resultados para os construtos **910**, **911**, **912** e **913** do

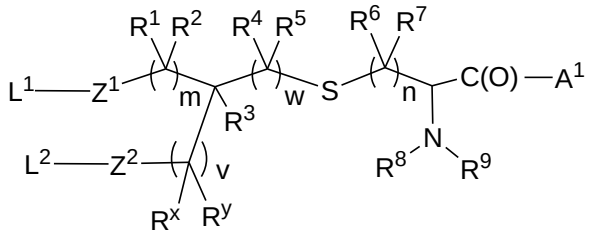
homoPam2Cys, em comparação com os construtos Pam2Cys correspondentes **45a** e **45b**, os construtos Pam2Cys N-acetilados **46a** e **46b** e os construtos Pam3Cys **47a** e **47b** (estruturas representadas na Tabela 3) são apresentados na Figura 3A. Todos os construtos exibiram agonismo de TLR2 murino.

[1265] Resultados para os construtos de cadeia estendida **930**, **931** e **932** em comparação com o construto homoPam2Cys **910** e o construto Pam2Cys **45b** correspondente (estruturas representadas na Tabela 4) são apresentados na Figura 3B. Todos os construtos analisados exibiram agonismo de TLR2 murino.

[1266] Não é a intenção limitar o escopo da invenção apenas aos exemplos mencionados acima. Conforme seria entendido por uma pessoa versada na técnica, muitas variações são possíveis sem se afstar do escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto caracterizado pelo fato de que apresenta a seguinte Fórmula (I):



(I)

em que

m e w são, cada um, independentemente, um número inteiro de 0 a 7, e v é um número inteiro de 0 a 5,

desde que:

a soma de m, v e w seja pelo menos 3; e

a soma de m e w seja de 0 a 7;

n é 1 ou 2;

Z1 e Z2 são, cada um, independentemente, selecionados a partir do grupo que consiste em –O–, –NR–, –S–, –S(O)–, –SO_2–, –C(O)O–,

–OC(O)–, –C(O)NR–, –NRC(O)–, –C(O)S–, –SC(O)–, –OC(O)O–, –NRC(O)O–, –OC(O)NR– e –NRC(O)NR–;

R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático;

R9 é hidrogênio, C1-6 alifático, um grupo protetor amino, L3–C(O)– ou A2;

L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alifático ou C4-20 heteroalifático;

L3 é C1-21 alifático ou C2-20 heteroalifático;

A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2,

em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo protetor carboxamida;

A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

em que qualquer alifático ou heteroalifático presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituído;

ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável dos mesmos;

com a condição de que:

(1) pelo menos um de R9 e A1 é um peptídeo que compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em:

(a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3Xaa_4$LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:1], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico, e Xaa_4 está ausente ou é um ou mais aminoácidos hidrofílicos,

(b) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência $Xaa_1Xaa_2Xaa_3$LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:2], em que Xaa_1 está ausente ou é S, Xaa_2 está ausente ou é um aminoácido hidrofílico e Xaa_3 está ausente ou é de um a dez aminoácidos hidrofílicos,

(c) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência Xaa_1Xaa_2LQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:3], em que Xaa_1 está ausente ou é S e Xaa_2 está ausente ou é de um a quatro aminoácidos hidrofílicos,

(d) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKLQQLSLLMWITQXaa_{22}FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:4],

(e) a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 1 a 4,

(f) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência LQQLSLLMWITQXaa$_{22}$FLPVFLAQPPSGQRR [SEQ ID Nº:5],

(g) a sequência de SEQ ID Nº: 5,

(h) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa$_{22}$FLPVF [SEQ ID Nº:6],

(i) a sequência de SEQ ID Nº: 6,

(j) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SKKKKSLLMWITQXaa$_{22}$ [SEQ ID Nº:7],

(k) a sequência de SEQ ID Nº: 7,

(l) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência SLLMWITQXaa$_{22}$ [SEQ ID Nº:8],

(m) a sequência de SEQ ID Nº: 8,

(n) ou qualquer combinação de dois ou mais de (a) a (m) acima,

em que Xaa$_{22}$ em cada sequência é independentemente qualquer aminoácido que ocorre naturalmente, exceto C (por exemplo, V, I ou L), e qualquer sequência de 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos de qualquer uma das sequências acima compreende Xaa$_{22}$; ou

(2) m é um número inteiro de 3 a 7 e pelo menos um de R9 e A1 é um aminoácido ou um peptídeo.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de R9 e A1 é um peptídeo que compreende, consistir essencialmente em, ou consistindo em uma ou mais sequências de aminoácidos selecionadas do grupo como definido na cláusula (1) da reivindicação 1.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que m e w são, cada um independentemente, de 0 a 5.

4. Composto, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, caracterizado pelo fato de que m e w são, cada um independentemente, de 1 a 4.

5. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 4, caracterizado pelo fato de que a soma de m e w é de 2 a 7.

6. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 5, caracterizado pelo fato de que a soma de m e w é de 2 a 5.

7. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 6, caracterizado pelo fato de que a soma de m e w é 3.

8. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 7, caracterizado pelo fato de que m é de 1 a 6.

9. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 8, caracterizado pelo fato de que m é de 1 a 5.

10. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 9, caracterizado pelo fato de que m é de 1 a 3.

11. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 10, caracterizado pelo fato de que m é 2.

12. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que m é um número inteiro de 3 a 7 e pelo menos um de R9 e A1 é um aminoácido ou um peptídeo como definido na cláusula (2) da reivindicação 1.

13. Composto, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que pelo menos um de R9 e A1 é um peptídeo.

14. Composto, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos

selecionada do grupo que consiste em 8 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID NOs 8 a 129.

15. Composto, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma ou mais sequências de aminoácidos selecionadas do grupo definido na cláusula (1) da reivindicação 1.

16. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que Xaa_{22} em cada sequência é V.

17. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que m é de 3 a 6.

18. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que m é de 3 a 5.

19. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que

R1, R2, Rx, Ry, R4, R5, R6 e R7, em cada ocorrência de m, v, w e n, são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila;

R, R3 e R8 são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila;

R9 é hidrogênio, C1-6 alquila, C3-6 cicloalquila, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2;

L1 e L2 são, cada um, independentemente, selecionados dentre C5-21 alquila, C5-21 alquenila ou C4-20 heteroalquila;

L3 é C1-21 alquila, C2-21 alquenila, C3-6 cicloalquila ou C2-20 heteroalquila;

A1 é um aminoácido, um peptídeo, OH, OP1, NH_2 ou NHP2, em que P1 é um grupo protetor carboxila, e em que P2 é um grupo

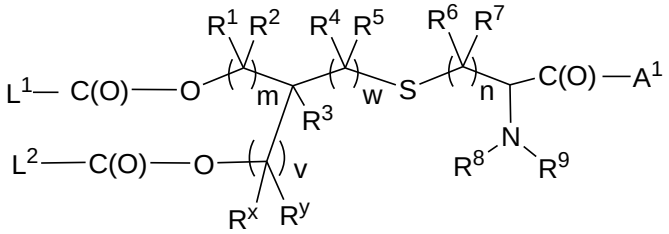
protetor carboxamida;

A2 é um aminoácido ou um peptídeo;

em que qualquer alquila, alquenila, cicloalquila ou heteroalquila presente em qualquer um dentre R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, Rx, Ry, L1, L2 e L3 é opcionalmente substituída.

20. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que Z1 e Z2 são, cada um, selecionados independentemente do grupo que consiste em -C(O)O-, –C(O)NR– e –C(O)S–.

21. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o composto é caracterizado pelo fato de que é um composto da fórmula (IA):



(IA).

22**.** Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que v é de 0 a 3.

23. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que v é 0.

24. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que w é 1 ou 2.

25. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que w é 1.

26. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que n é 1.

27. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que L1 e L2 são, cada um, independentemente, C5-21 alquila.

28. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que L1 e L2 são, cada um, independentemente, C15 alquila linear.

29. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que L3 é metila ou C15 alquila linear.

30. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que L3 é metila.

31. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o grupo protetor amino é Boc ou Fmoc.

32. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que R1 e R2, em cada ocorrência de m, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio, de preferência, hidrogênio.

33. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que R3 é C1-6 alquila ou hidrogênio, de preferência, hidrogênio.

34. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que R4 e R5, em cada ocorrência de w, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio, de preferência, hidrogênio.

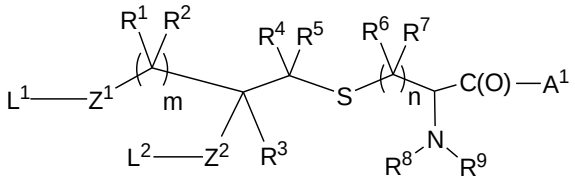
35. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que Rx e Ry, em cada ocorrência de v, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio, de preferência, hidrogênio.

36. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que R6 e R7, em cada ocorrência de n, são, cada um, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio, de preferência, hidrogênio.

37. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que R8 é, independentemente, C1-6 alquila ou hidrogênio, de preferência, hidrogênio.

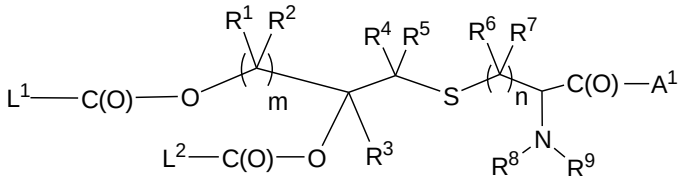
38. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que R9 é C1-6 alquila, hidrogênio, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2, de preferência, hidrogênio, um grupo protetor amino, L3–C(O) ou A2.

39. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que é um composto da fórmula (IF):



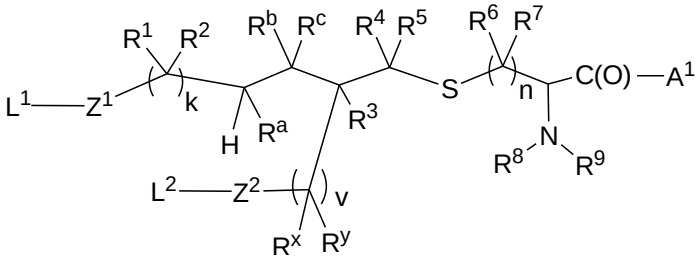
(IF).

40. Composto, de acordo com a reivindicação 39, caracterizado pelo fato de que é um composto da fórmula (IF-1):



(IF-1).

41. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 38, caracterizado pelo fato de que é um composto da fórmula (IB):



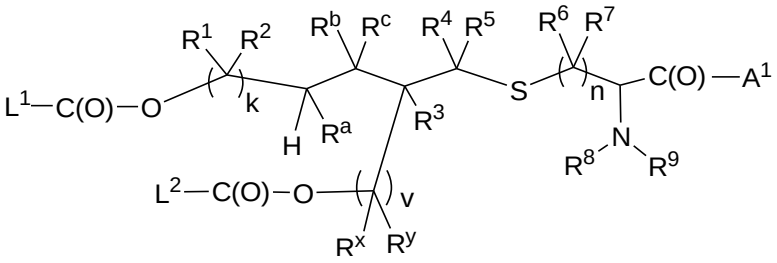
(IB)

em que

k é um número inteiro de 0 a 4; e

Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, hidrogênio ou C1-6 alifático.

42. Composto, de acordo com a reivindicação 41, em que o composto de fórmula (IB) é caracterizado pelo fato de que é um composto da fórmula (IC):



(IC).

43. Composto, de acordo com a reivindicação 41 ou 42, caracterizado pelo fato de que k é 0 a 3.

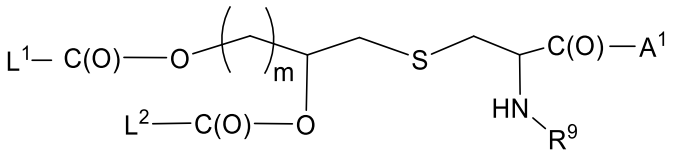
44. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 43, caracterizado pelo fato de que k é 0.

45. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 43, caracterizado pelo fato de que k é 1 a 3.

46. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 45, caracterizado pelo fato de que Ra, Rb e Rc são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila ou C3-6 cicloalquila, de preferência, hidrogênio.

47. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 46, caracterizado pelo fato de que Ra, Rb e Rc são, cada um, selecionados independentemente de hidrogênio ou C1-6 alquila, de preferência, hidrogênio.

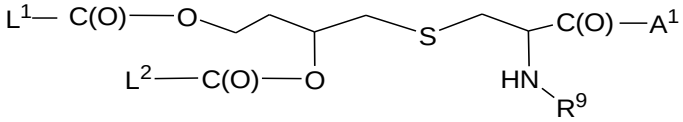
48. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o composto é um composto da fórmula (ID-1):



(ID-1).

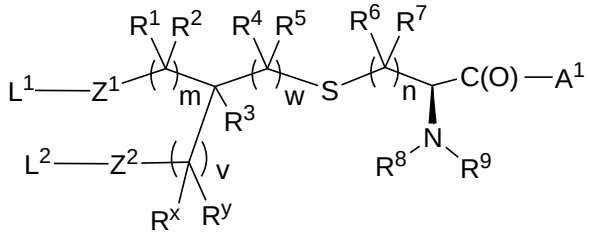
49. Composto, de acordo com a reivindicação 48, caracterizado pelo fato de que m é de 3 a 5.

50. Composto, de acordo com a reivindicação 48, caracterizado pelo fato de que o composto é um composto da fórmula (ID):



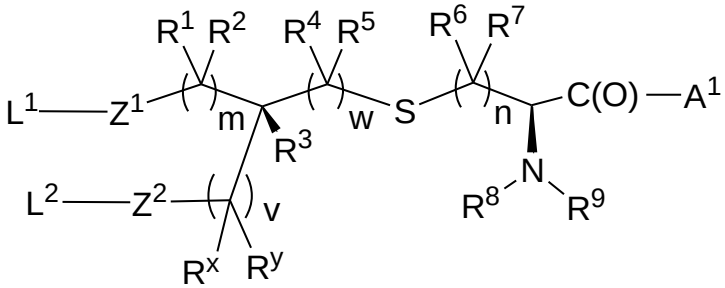
(ID).

51. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o composto de fórmula (I) é caracterizado pelo fato de que tem a fórmula (IE):



(IE).

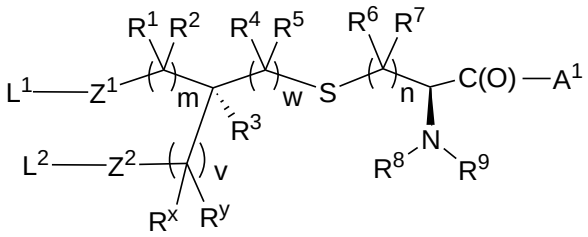
52. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o composto tem a fórmula (IE-1):



(IE-1).

53. Composto, de acordo com qualquer uma das

reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o composto tem a fórmula (IE-2):



(IE-2).

54. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende um epítopo.

55. Composto, de acordo com a reivindicação 54, caracterizado pelo fato de que o epítopo é um epítopo de peptídeo.

56. Composto, de acordo com a reivindicação 54 ou 55, caracterizado pelo fato de que o epítopo é acoplado ou ligado por meio de um grupo ligante.

57. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas de lipídio são conjugadas é um resíduo de aminoácido N-terminal.

58. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que A1 é serina ou um peptídeo que compreende serina como o primeiro resíduo de aminoácido N-terminal.

59. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que A1 e/ou A2 é um peptídeo que compreende um grupo solubilizante.

60. Composto, de acordo com a reivindicação 59, caracterizado pelo fato de que o grupo solubilizante compreende uma sequência de aminoácidos que compreende dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos na cadeia de peptídeo.

61. Composto, de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que os dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos são adjacentes ao resíduo de serina.

62. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que A1 é um peptídeo e R9 é hidrogênio ou L3-C(O), por exemplo Me-C(O).

63. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que o os substituintes opcionais são selecionados a partir do grupo que consiste em halo, CN, NO_2, OH, NH_2, NHR10, NR10R20, C1-6 haloalquila, C1-6 haloalcóxi, $C(O)NH_2$, C(O)NHR10, C(O)NR10R20, SO_2R10, OR10, SR10, S(O)R10, C(O)R10 e C1-6alifático; em que R10 e R20 são, cada um, independentemente, C1-6 alifático, por exemplo, C1-6 alquila.

64. Método para produzir um conjugado de peptídeo da fórmula (I) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que compreende:

(A) reagir

um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono,

um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono e

um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende um tiol

sob condições eficazes para conjugar o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornece o conjugado de peptídeo de fórmula (I) ou sal ou solvato do mesmo,

em que, no conjugado de aminoácido ou peptídeo, o átomo de enxofre

do tiol do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio, e um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio; ou

(B) reagir

um primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono,

um segundo parceiro de conjugação contendo lipídio que compreende uma ligação dupla de carbono-carbono e

um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende um tiol

sob condições eficazes para conjugar o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um conjugado de aminoácido ou peptídeo,

em que, no conjugado de aminoácido ou peptídeo, o átomo de enxofre do tiol do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio, e um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio; e

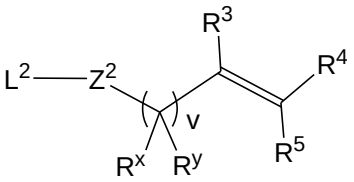
acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (I) ou sal ou solvato do mesmo.

65. Método, de acordo com a reivindicação 64, caracterizado pelo fato de que o primeiro e o segundo parceiros de conjugação contendo lipídio têm a mesma estrutura.

66. Método, de acordo com a reivindicação 64 ou 65, caracterizado pelo fato de que compreende conjugar o átomo de enxofre do tiol a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio e, então, conjugar um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono ao qual o tiol é conjugado a um átomo de carbono da ligação dupla de carbono-carbono do segundo parceiro de conjugação contendo lipídio.

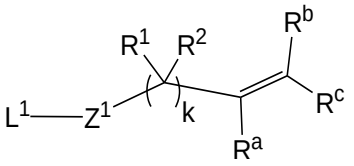
67. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 66, caracterizado pelo fato de que:

o primeiro parceiro de conjugação contendo lipídio é um composto da fórmula (IIA):



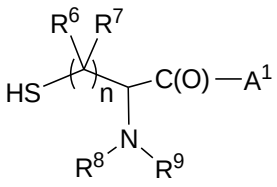
(IIA);

o segundo parceiro de conjugação contendo lipídio é um composto da fórmula (IIB):



(IIB); e

o parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende uma estrutura da fórmula (III):



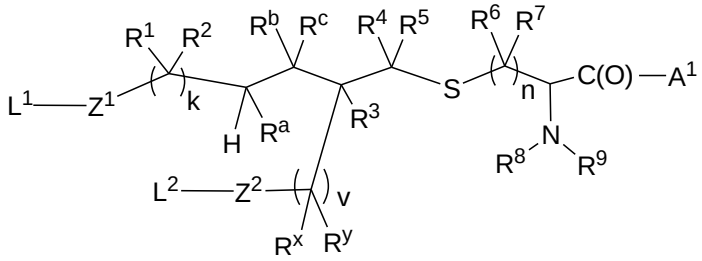
(III);

em que:

quando o método é (A), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definido no composto de fórmula (IB), de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1); e

quando o método é (B), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB), de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, mas excluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1.

68. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 67, caracterizado pelo fato de que o conjugado de aminoácido ou peptídeo é um composto da fórmula (IB):



(IB)

em que:

quando o método é (A), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB), de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, (incluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1); e

quando o método é (B), Ra, Rb, Rc, L1, L2, Z1, Z2, R1, R2, Rx, Ry, R3, R4, R5, R6, R7, R7, R8, R9, A1, k, v, e n são como definidos no composto de fórmula (IB), de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, mas excluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1.

69. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 68, caracterizado pelo fato de que os parceiros de conjugação contendo lipídio estão em excesso estequiométrico em relação ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido.

70. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 69, caracterizado pelo fato de que as condições eficazes para conjugar o parceiro de conjugação contendo lipídio ao parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreendem a geração de um ou mais radicais livres iniciada pela degradação térmica de um iniciador térmico ou pela degradação fotoquímica de um iniciador fotoquímico.

71. Método, de acordo com a reivindicação 70, caracterizado pelo fato de que o iniciador térmico é AIBN ou o fotoiniciador é DMPA.

72. Método, de acordo com a reivindicação 70 ou 71, caracterizado pelo fato de que a degradação fotoquímica do iniciador de radical livre compreende irradiação com luz ultravioleta, de preferência, que tem uma frequência compatível com as cadeias laterais de aminoácidos de ocorrência natural, de preferência, cerca de 365 nm.

73. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 72, caracterizado pelo fato de que a reação é executada em um meio líquido que compreende um solvente, em que o solvente compreende NMP, DMF, DMSO ou uma mistura dos mesmos.

74. Método, de acordo com a reivindicação 73, caracterizado pelo fato de que o solvente compreende NMP.

75. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 74, caracterizado pelo fato de que a reação é executada na presença de um ou mais aditivos que inibem a formação de subprodutos e/ou que aprimoram o rendimento ou a conversão no conjugado desejado.

76. Método, de acordo com a reivindicação 74, caracterizado

pelo fato de que o um ou mais aditivos são um tiol estranho, um ácido, um organossilano ou uma combinação de quaisquer dois ou mais dos mesmos.

77. Método, de acordo com a reivindicação 75, caracterizado pelo fato de que o tiol estranho é um tiol estericamente impedido, por exemplo, terc-butil mercaptano.

78. Método, de acordo com a reivindicação 75 ou 76, caracterizado pelo fato de que o ácido é um ácido orgânico forte, por exemplo, TFA.

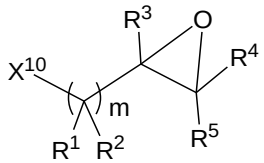
79. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 75 a 77, caracterizado pelo fato de que o organossilano é um trialquilsilano, por exemplo, TIPS.

80. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 75 a 78, caracterizado pelo fato de que o conjugado de aminoácido ou conjugado de peptídeo é separado do meio de reação após a reação e opcionalmente purificado.

81. Método para produzir um conjugado de peptídeo da fórmula (I) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que compreende:

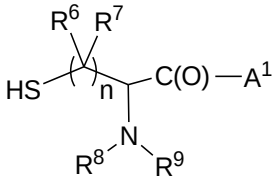
(A) reagir

um epóxido da fórmula (XVI):



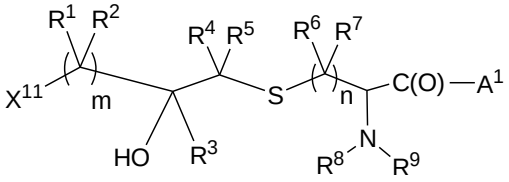
(XVI); e

um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

sob condições eficazes para conjugar o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um composto de fórmula (XV):



(XV)

em que

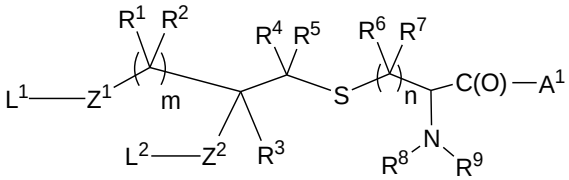
X10 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

X11 é X10 ou –OH, –SH, –NHR ou HNRC(O)O- quando X10 é P10-O-, P11-S-, P12–NR– ou P12-NRC(O)O- e as ditas condições são eficazes para remover P10, P11 ou P12;

P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um grupo protetor;

m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (IF), como definido em com qualquer uma das reivindicações anteriores, (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1); e

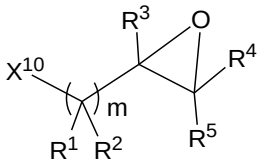
converter o composto de fórmula (XV) no conjugado de peptídeo da fórmula (IF), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1) ou em um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



(IF); ou

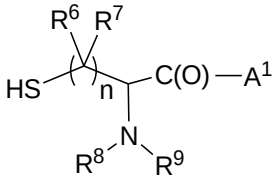
(B) reagir

um epóxido da fórmula (XVI):



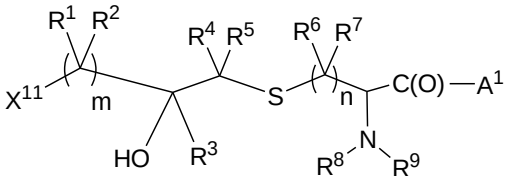
(XVI); e

um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

sob condições eficazes para conjugar o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer um composto de fórmula (XV):



(XV)

em que

X10 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

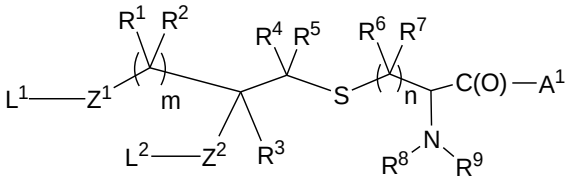
X11 é X10 ou –OH, –SH, –NHR ou HNRC(O)O- quando X10 é P10-O-, P11-S-, P12–NR– ou P12-NRC(O)O- e as ditas condições são eficazes para remover P10, P11 ou P12;

P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um

grupo protetor;

m, n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (IF), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, mas excluindo cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1; e

converter o composto de fórmula (XV) em um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (IF), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, mas excluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1, ou em um sal ou solvato do mesmo por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



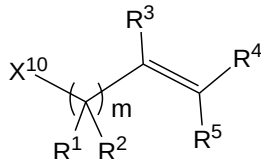
(IF); e

acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (IF), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, do composto (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1) ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo.

82. Método, de acordo com a reivindicação 81, caracterizado pelo fato de que X10 é L1–C(O)O–, OH ou P10–O–; e X11 é L1–C(O)O–, P10–O– ou OH.

83. Método, de acordo com a reivindicação 81 ou 82, caracterizado pelo fato de que compreende reagir o epóxido e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido na presença de um ácido.

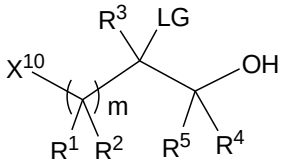
84. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 81 a 83, caracterizado pelo fato de que compreende fornecer o epóxido reagindo-se um alceno da fórmula (XVII):



(XVII)

e um oxidante sob condições eficazes para epoxidar o alceno.

85. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 81 a 83, caracterizado pelo fato de que compreende fornecer o epóxido reagindo-se um composto da fórmula (XVII-A), em que LG é um grupo de saída:



(XVII-A)

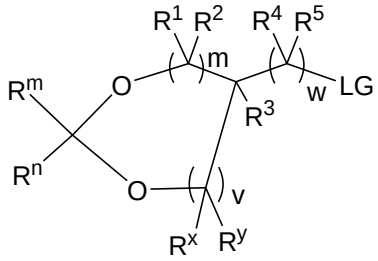
e uma base sob condições eficazes para epoxidação.

86. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 81 a 85, caracterizado pelo fato de que X11 é P10–O– ou OH; e a uma ou mais etapas sintéticas compreendem acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir P10 ou o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila de X11 por L1–C(O)–; e/ou acilar o composto de fórmula (XV) de modo a substituir o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R3 está ligado por L2–C(O)–.

87. Método para produzir um conjugado de peptídeo da fórmula (I) ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que compreende:

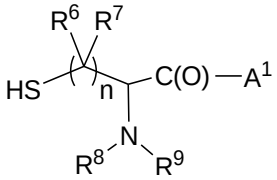
(A) reagir

um composto da fórmula (XXI):



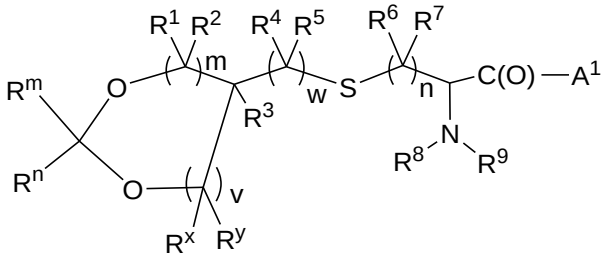
(XXI); e

um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

sob condições eficazes para conjugar o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer o composto de fórmula (XX):



(XX)

em que

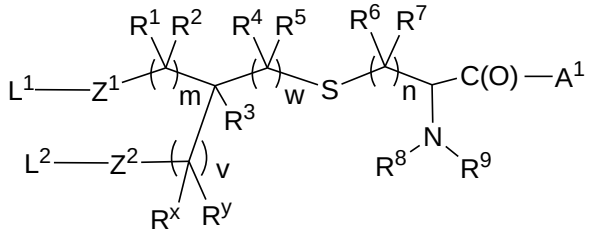
Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

LG é um grupo de saída; e

m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1); e

converter o composto de fórmula (XV) em um conjugado de peptídeo da fórmula (I), como definido em qualquer uma das

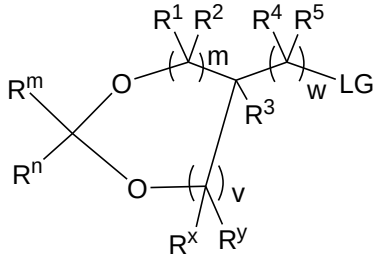
reivindicações anteriores, (incluindo as cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1) ou em um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



(I); ou

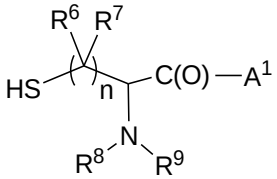
(B) reagir

um composto da fórmula (XXI):



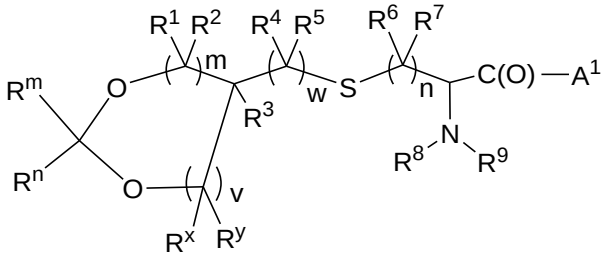
(XXI); e

um parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende tiol da fórmula (III):



(III),

sob condições eficazes para conjugar o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido e fornecer o composto de fórmula (XX):



(XX)

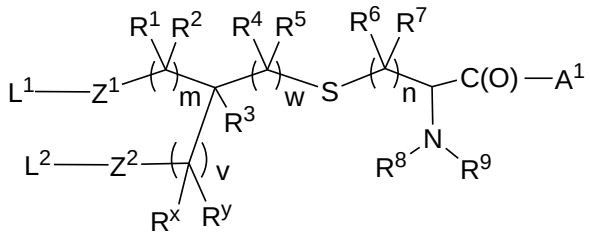
em que

Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

LG é um grupo de saída; e

m, w, v, n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto da fórmula (I), como definido em qualquer uma das anteriores reivindicações, mas excluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1; e

converter o composto de fórmula (XX) em um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, mas excluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1, ou em um sal ou solvato do mesmo por uma ou mais etapas sintéticas adicionais:



(I); e

acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer o conjugado de peptídeo de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores, do composto (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1) ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo.

88. Método, de acordo com a reivindicação 87, caracterizado pelo fato de que Rm e Rn são, cada um, independentemente, selecionados dentre hidrogênio, C1-6 alquila ou arila.

89. Método, de acordo com a reivindicação 87 ou 88, caracterizado pelo fato de que Rm é hidrogênio, C1-6 alquila ou arila; e

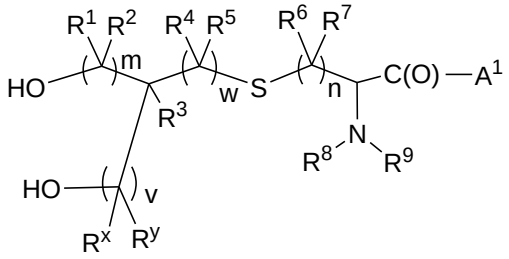
Rn é C1-6 alquila ou arila.

90. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 87 a 89, caracterizado pelo fato de que m e v são tais que o composto de fórmula (XXI) compreenda um acetal cíclico com 5 a 7 membros.

91. Método, de acordo com a reivindicação 90, caracterizado pelo fato de que o acetal cíclico é um acetal cíclico com 6 membros.

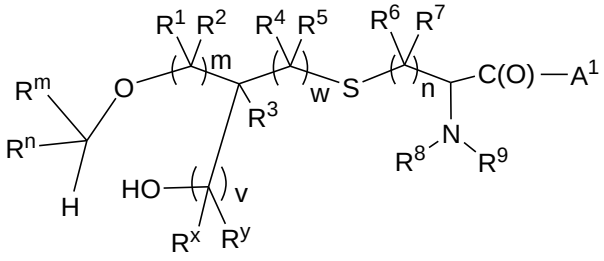
92. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 87 a 91, caracterizado pelo fato de que compreende reagir o composto de fórmula (XXI) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido de fórmula (III) na presença de uma base.

93. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 87 a 92, caracterizado pelo fato de que a uma ou mais etapas sintéticas compreendem remover o acetal no composto de fórmula (XX) para fornecer um composto da fórmula (XXIII-1):

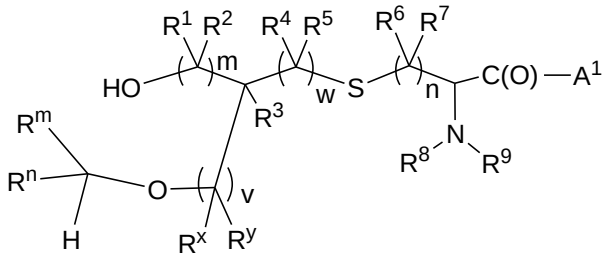


(XXIII-1).

94. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 87 a 92, caracterizado pelo fato de que Rm é arila opcionalmente substituída, por exemplo, fenila ou fenila substituída por metóxi, e o método compreende remover o acetal no composto de fórmula (XX) para fornecer um composto da fórmula (XXIII-2) ou (XXIII-3):



(XXIII-2)



(XXIII-3).

95. Método, de acordo com a reivindicação 93, caracterizado pelo fato de que a uma ou mais etapas sintéticas compreendem converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual R1 e R2 estão ligados no composto de fórmula (XXIII-1) a L1-Z1- e/ou converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual Rx e Ry estão ligados a L2-Z2.

96. Método, de acordo com a reivindicação 94, caracterizado pelo fato de que a uma ou mais etapas sintéticas compreendem

converter o grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono ao qual Rx e Ry estão ligados no composto de fórmula (XXIII-2) a L2-Z2-, remover o grupo RmRnCH- para fornecer um grupo hidroxila e converter o grupo hidroxila em L1-Z1; ou

converter o grupo hidroxila ligado ao carbono ao qual Rx e Ry estão ligados no composto de fórmula (XXIII-2) a L1-Z1-, remover o grupo RmRnCH- para fornecer um grupo hidroxila e converter o grupo hidroxila em L2-Z2-.

97. Método, de acordo com a reivindicação 95 ou 96, caracterizado pelo fato de que converter o dito grupo hidroxila em L1-Z1- ou L2-Z2- compreende acilar de modo a substituir o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila por L1–C(O)– ou L2–C(O)–.

98. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 97, caracterizado pelo fato de que o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é um parceiro de conjugação contendo peptídeo.

99. Método, de acordo com a reivindicação 98, caracterizado

pelo fato de que o parceiro de conjugação contendo peptídeo compreende um epítopo.

100. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 99, caracterizado pelo fato de que o parceiro de conjugação que compreende aminoácido consiste em um peptídeo.

101. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 100, caracterizado pelo fato de que o parceiro de conjugação que compreende aminoácido é um parceiro de conjugação contendo peptídeo que compreende 15 ou menos, 14 ou menos, 13 ou menos, 12 ou menos, 11 ou menos, 10 ou menos, 9 ou menos, 8 ou menos, 7 ou menos, 6 ou menos, 5 ou menos, 4 ou menos ou 3 ou menos resíduos de aminoácido.

102. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 97, caracterizado pelo fato de que o método é (B) e o parceiro de conjugação que compreende aminoácido consiste em um aminoácido.

103. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 102, caracterizado pelo fato de que a terminação C do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegida com um grupo protetor e/ou o grupo Nα-amino do parceiro de conjugação que compreende aminoácido é protegido com um grupo protetor.

104. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 101 e 103, caracterizado pelo fato de que o resíduo de aminoácido que compreende o tiol é um resíduo de aminoácido N-terminal.

105. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 104, caracterizado pelo fato de que o tiol é o tiol de um resíduo de cisteína.

106. Método, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 64 a 105, caracterizado pelo fato de que R9 no parceiro de conjugação que compreende aminoácido que compreende o tiol é L3-C(O)-, por exemplo Me-C(O)-.

107. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 106, caracterizado pelo fato de que o método é (B).

108. Método para produzir um conjugado de peptídeo, caracterizado pelo fato de que compreende

fornecer um conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63, mas excluindo as cláusulas (1) e (2) da reivindicação 1, ou um sal ou solvato do mesmo, e

acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo da fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63, (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1), ou um sal ou solvato do mesmo.

109. Método, de acordo com a reivindicação 107 ou 108, caracterizado pelo fato de que compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido a um aminoácido ou um aminoácido de um peptídeo para fornecer um conjugado de peptídeo.

110. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 107 a 109, caracterizado pelo fato de que compreende acoplar o aminoácido do conjugado de aminoácido ou um aminoácido do conjugado de peptídeo a um aminoácido ou um peptídeo de modo a fornecer um conjugado de peptídeo que compreende um epítopo de peptídeo.

111. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 107 a 110, caracterizado pelo fato de que compreende acoplar um epítopo ao aminoácido do conjugado de aminoácido ou um

aminoácido do conjugado de peptídeo.

112. Método, de acordo com a reivindicação 108 ou 109, caracterizado pelo fato de que o peptídeo compreende um epítopo.

113. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 99, 111 e 112, caracterizado pelo fato de que o epítopo é um epítopo de peptídeo.

114. Método, de acordo com a reivindicação 113, caracterizado pelo fato de que o epítopo é acoplado ou ligado por meio de um grupo ligante.

115. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 107 a 114, caracterizado pelo fato de que o aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas de lipídio são conjugadas é um resíduo de aminoácido N-terminal.

116. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 115, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente acilar o grupo Nα-amino do aminoácido do conjugado de aminoácido ou do resíduo de aminoácido do conjugado de peptídeo ao qual as porções químicas de lipídio são conjugadas.

117. Método, de acordo com a reivindicação 116, caracterizado pelo fato de que o grupo amino é acilado com um C2-20 ácido graxo, tal como acetila.

118. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 117, caracterizado pelo fato de que o conjugado de peptídeo ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um ou mais grupos solubilizantes.

119. Método, de acordo com a reivindicação 118, caracterizado pelo fato de que o grupo solubilizante é uma sequência de aminoácidos que compreende uma sequência de dois ou mais resíduos de aminoácido hidrofílicos consecutivos na cadeia de peptídeo.

120. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 118, caracterizado pelo fato de que o conjugado de peptídeo ou parceiro de conjugação que compreende aminoácido compreende um resíduo de serina adjacente ao resíduo de aminoácido ao qual as porções químicas de lipídio são conjugadas.

121. Conjugado de aminoácido ou peptídeo da fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63, ou um sal ou solvato do mesmo caracterizado pelo fato de que é produzido por um método, como definido em qualquer uma das reivindicações 64 a 120.

122. Composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de um composto conjugado de peptídeo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, e um carreador farmaceuticamente aceitável.

123. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de dois ou mais compostos conjugados de peptídeo, como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121.

124. Método para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um ou mais compostos conjugados de peptídeo, como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica, como definida na reivindicação 122 ou 123.

125. Uso de um ou mais compostos conjugados de peptídeo, como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma composição farmacêutica, como definida na reivindicação 122 ou 123,

caracterizado pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

126. Um ou mais compostos conjugados de peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, caracterizado pelo fato de que é para vacinar ou suscitar uma resposta imunológica em um indivíduo.

127. Método para ativar TLR2 em um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um ou mais conjugados de peptídeo, como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 63, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica, como definida na reivindicação 122 ou 123.

128. Uso de um ou mais compostos conjugados de peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, caracterizado pelo fato de que é na fabricação de um medicamento para ativar TLR2 em um indivíduo.

129. Um ou mais compostos conjugados de peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, ou uma composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, caracterizado pelo fato de que é para ativar TLR2 em um indivíduo.

130. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 120, composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, método, de acordo com a reivindicação 124

ou 127, uso, de acordo com a reivindicação 125 ou 128, ou conjugado de peptídeos, de acordo com a reivindicação 126 ou 129, caracterizado pelo fato de que o composto conjugado de peptídeo de fórmula (I) é como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, e tem um EC_{50} para agonismo de TLR2 (preferencialmente hTLR2) de menos do que cerca de 500 nM, conforme determinado com o uso de um Ensaio de células HEK-Blue™.

131. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 120, composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, método, de acordo com a reivindicação 124 ou 127, uso, de acordo com a reivindicação 125 ou 128 ou conjugado de peptídeos, de acordo com a reivindicação 126 ou 129, caracterizado pelo fato de que o composto conjugado de peptídeo de fórmula (I) é como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121 e compreende um peptídeo que compreende, consiste em ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em :

(a) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência $SKKKKSLLMWITQXaa_{22}$ [SEQ ID Nº:7],

(b) a sequência da SEQ ID Nº: 7,

(c) 8 ou mais resíduos de aminoácidos contíguos da sequência $SLLMWITQXaa_{22}$ [SEQ ID Nº:8],

(d) a sequência da SEQ ID Nº: 8,

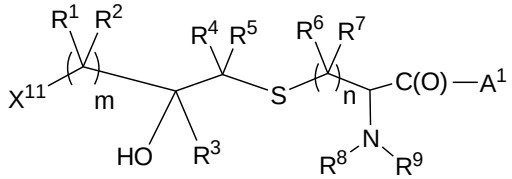
(e) ou qualquer combinação de dois ou mais dos itens de (a) a (d) acima.

132. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 120, composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, método, de acordo com a reivindicação 124

ou 127, uso, de acordo com a reivindicação 125 ou 128 ou conjugado de peptídeos, de acordo com a reivindicação 126 ou 129, caracterizado pelo fato de que o composto conjugado de peptídeo de fórmula (I) é como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121 e é um composto selecionado do grupo que consiste nos compostos 910, 911, 912, 913, 930, 931 e 932 dos exemplos apresentados no presente documento.

133. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121, método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 120, composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 122 ou 123, método, de acordo com a reivindicação 124 ou 127, uso, de acordo com a reivindicação 125 ou 128 ou conjugado de peptídeos, de acordo com a reivindicação 126 ou 129, caracterizado pelo fato de que o composto conjugado de peptídeo de fórmula (I) é como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 63 e 121 e compreende um peptídeo que compreende, consiste essencialmente em ou consiste em uma sequência de aminoácidos selecionada do grupo que consiste em 8 ou mais aminoácidos contíguos da sequência de aminoácidos de qualquer uma das SEQ ID Nos 1 a 139.

134. Composto caracterizado pelo fato de que apresenta a seguinte Fórmula (XV):



(XV)

em que

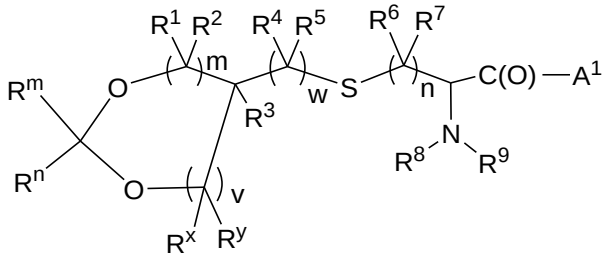
X11 é L1–Z1–, –OH, –SH, –NHR, HNRC(O)O-, P10–O–, P11–S–, P12–NR– ou P12-NRC(O)O-;

P10, P11 e P12 são, cada um, independentemente, um grupo protetor;

m é um número inteiro de 2 a 6; e

n, L1, Z1, R, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I) como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1); ou um sal ou solvato do mesmo.

135. Composto caracterizado pelo fato de que apresenta a seguinte Fórmula (XX):



(XX)

em que:

Rm e Rn são, cada um, independentemente, hidrogênio, C1-6 alquila, arila ou heteroarila;

m e w são, cada um, independentemente, um número inteiro de 0 a 7, e v é um número inteiro de 0 a 5,

desde que:

a soma de m, v e w seja pelo menos 3; e

a soma de m e w seja de 0 a 7; e

n, Rx, Ry, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 e A1 são como definidos no composto de fórmula (I) como definido em qualquer uma das reivindicações anteriores (incluindo cláusulas (1) e/ou (2) da reivindicação 1); ou um sal ou solvato do mesmo.

FIGURA 1

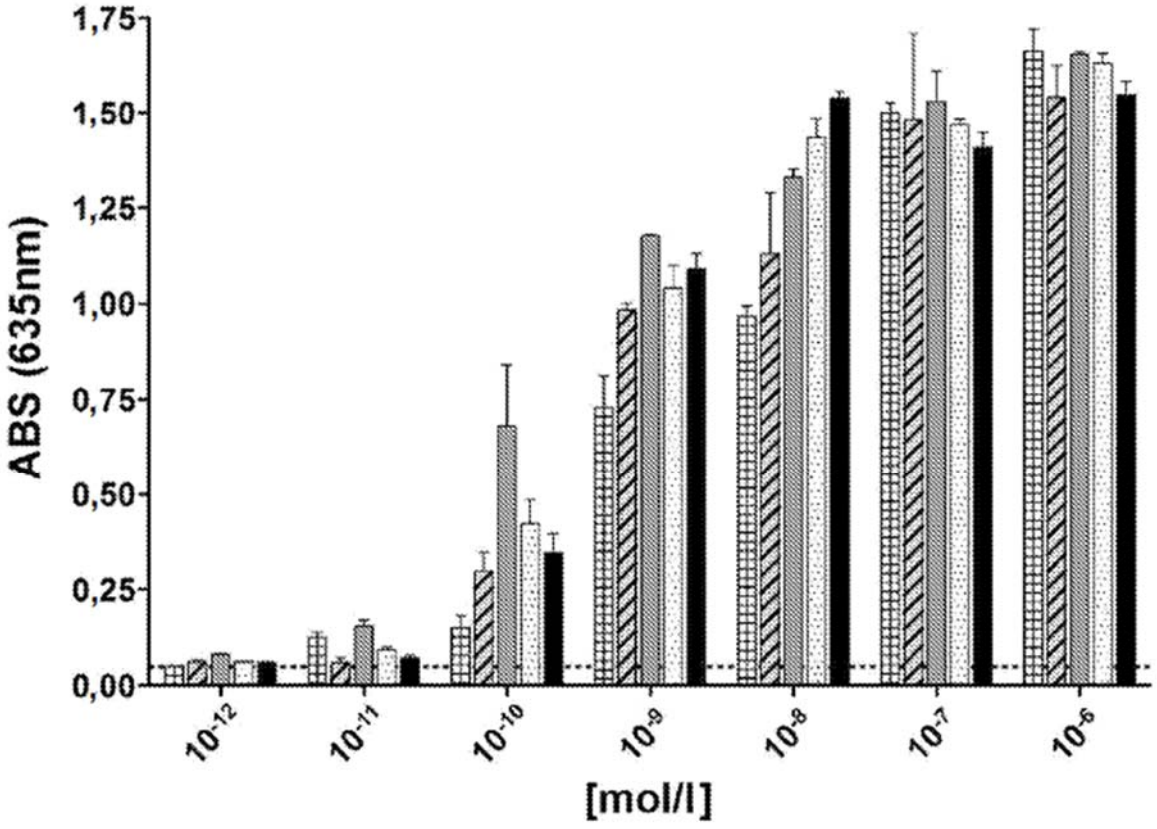

ABS (635nm)
1,75
1,50
1,25
1,00
0,75
0,50
0,25
0,00
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
[mol/l]

FIGURA 2A

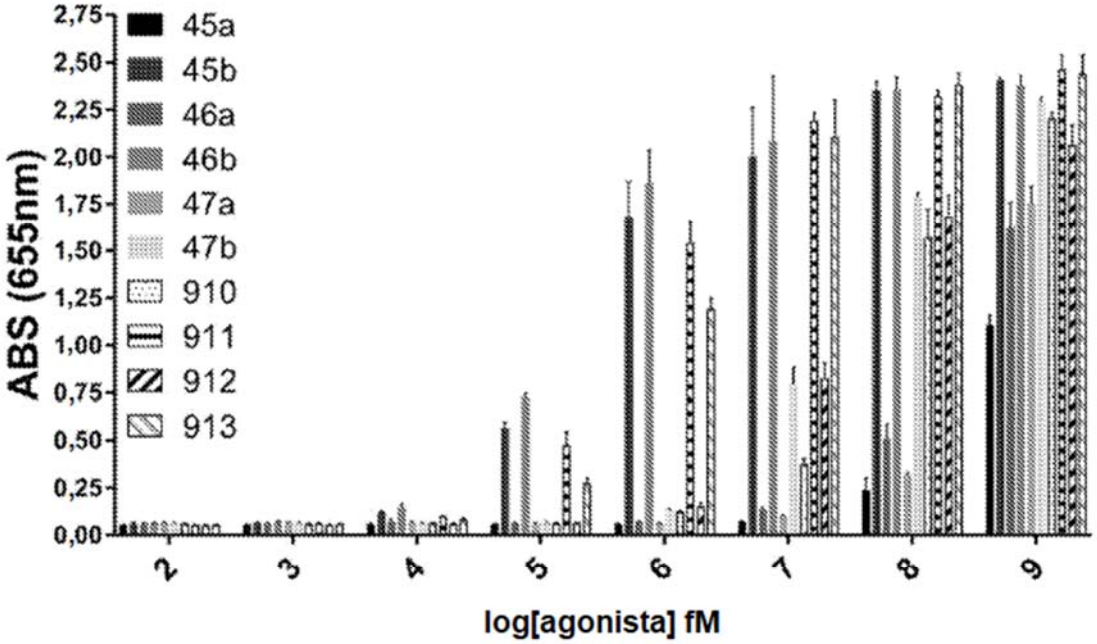


FIGURA 2B

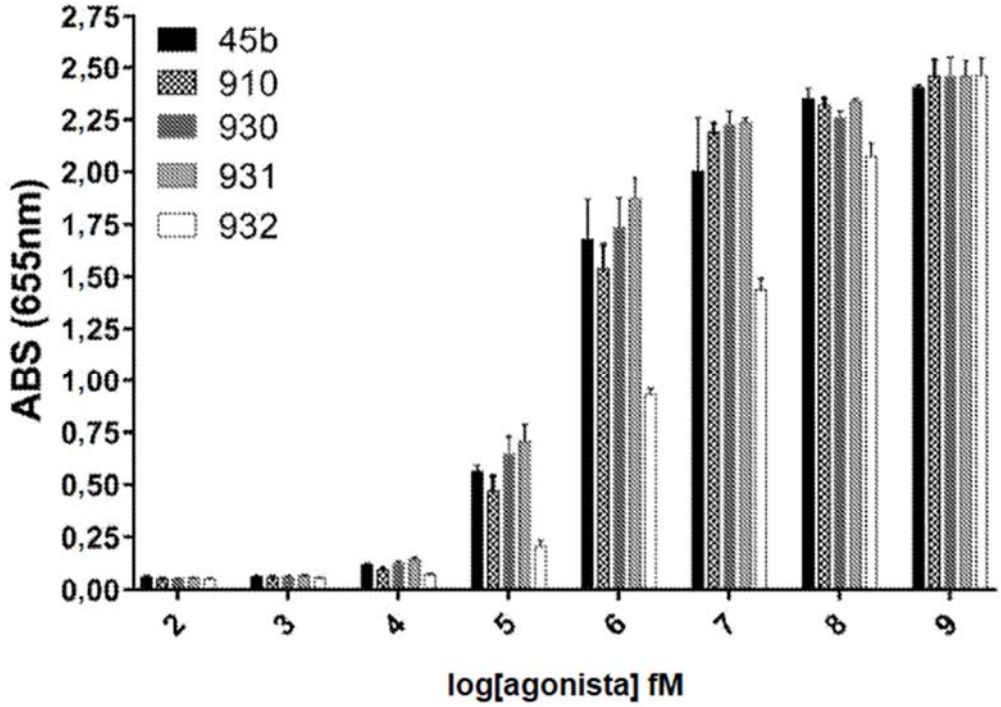


FIGURA 3A

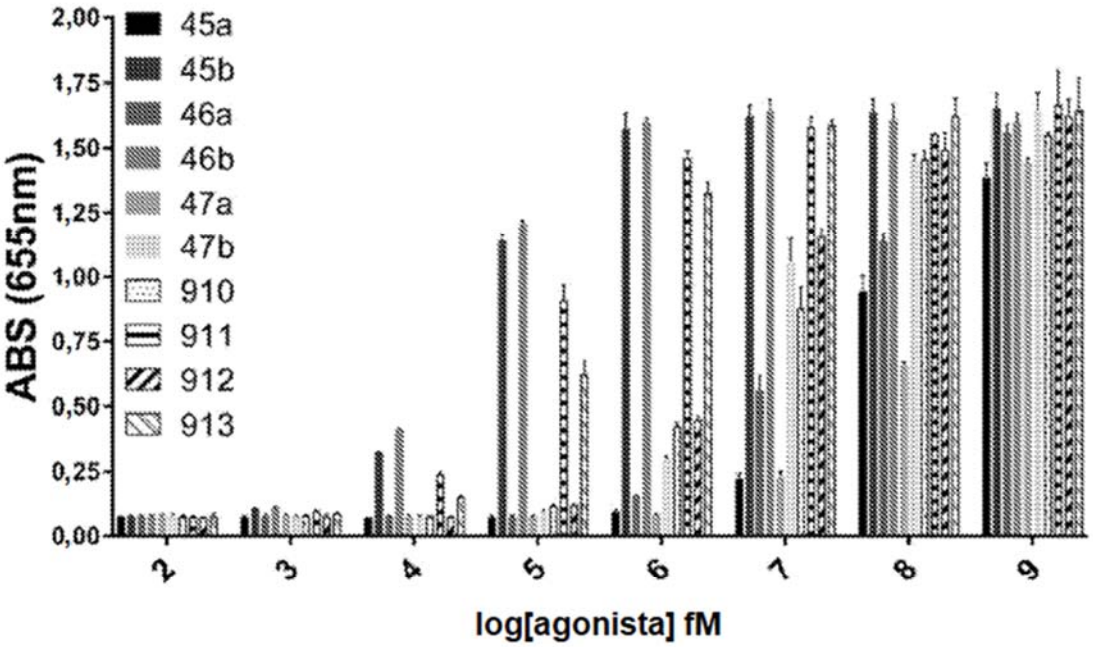
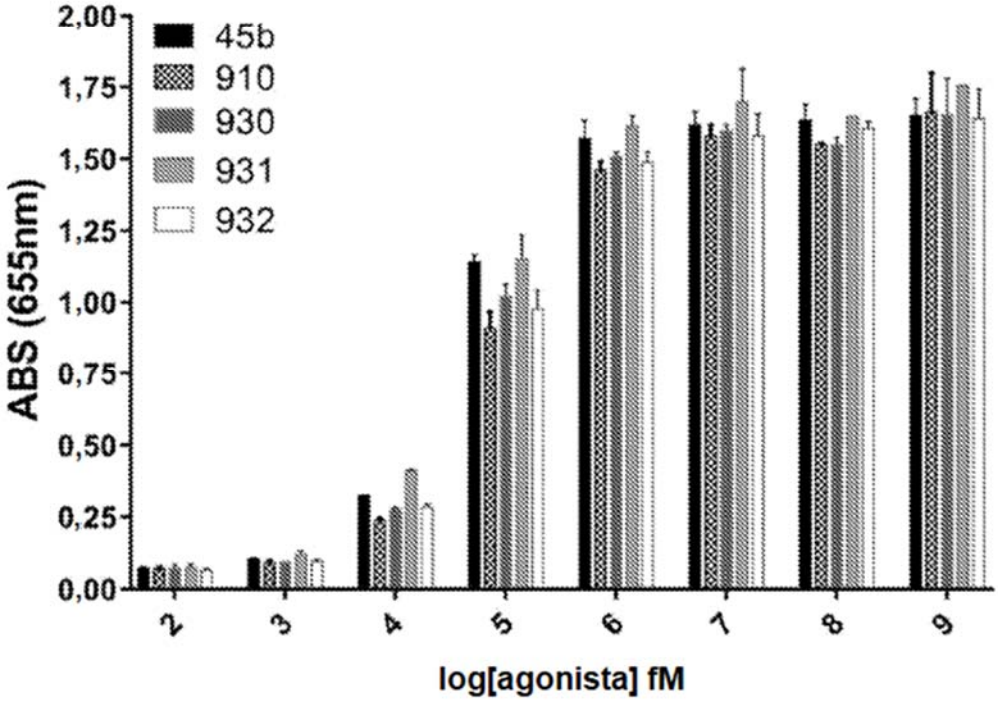


FIGURA 3B



RESUMO

Patente de Invenção: **"CONJUGADOS DE PEPTÍDEOS, PROCESSO DE CONJUGAÇÃO E USOS DO MESMO".**

A presente invenção refere-se a conjugados de peptídeos, métodos para a produção de conjugados de peptídeos, conjugados produzidos pelos métodos e composições farmacêuticas que compreendem os conjugados. Métodos para estimular respostas imunológicas em um indivíduo e métodos para vacinar um indivíduo, usos dos conjugados para o mesmo e usos dos conjugados na fabricação de medicamentos para o mesmo também são contemplados.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA 27.02.20 P245491.TXT
- Data de Geração do Código: 27/02/2020
- Hora de Geração do Código: 15:44:20
- Código de Controle:
  - Campo 1: 5BE0AAC5E72F6028
  - Campo 2: CD27D4914FD49414