

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 285**

51 Int. Cl.:

C07K 7/08 (2006.01)

C07K 7/56 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 38/12 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2015 PCT/US2015/060265**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.05.2016 WO16077518**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2015 E 15801052 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020 EP 3218392**

54 Título: **Inmunomoduladores**

30 Prioridad:

14.11.2014 US 201462079944 P

03.02.2015 US 201562111388 P

13.08.2015 US 201562204689 P

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

15.04.2021

73 Titular/es:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)

Route 206 and Province Line Road

Princeton, NJ 08543, US

72 Inventor/es:

GILLMAN, KEVIN W.;

GOODRICH, JASON;

BOY, KENNETH M.;

ZHANG, YUNHUI;

MAPELLI, CLAUDIO;

POSS, MICHAEL A.;

SUN, LI-QIANG;

ZHAO, QIAN;

MULL, ERIC;

GILLIS, ERIC P.;

SCOLA, PAUL MICHAEL;

LANGLEY, DAVID, R. y

MEANWELL, M. NICHOLAS

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 819 285 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inmunomoduladores

5 La presente divulgación proporciona péptidos macrocíclicos novedosos que inhiben las interacciones proteína/proteína PD-1/PD-L1 y CD80/PD-L1, y por ende, son útiles para la mejora de varias enfermedades, que incluyen el cáncer y las enfermedades infecciosas.

10 La proteína de Muerte Programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia de receptores CD28, que también incluye CD28, CTLA-4, ICOS y BTLA. PD-1 se expresa en linfocitos B activados, linfocitos T y células mieloides (Agata et al., *supra*; Okazaki et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 14:779-782 (2002); Bennett et al., *J. Immunol.*, 170:711-718 (2003)).

15 La proteína PD-1 es una proteína de transmembrana tipo I 55 kDa que es parte de la superfamilia del gen Ig (Agata et al., *Int. Immunol.*, 8:765-772 (1996)). La PD-1 contiene un motivo de inhibición del inmunorreceptor de tirosina (ITIM) próximo a la membrana y un motivo de cambio basado en tirosina (ITSM) distal a la membrana (Thomas, M.L., *J. Exp. Med.*, 181:1953-1956 (1995); Vivier, E. et al., *Immunol. Today*, 18:286-291 (1997)). Si bien su estructura es similar a la de CTLA-4, PD-1 carece del motivo MYPPY que es fundamental para la fijación de CD80 y CD86 (B7-2). Se han identificado dos ligandos de PD-1; PD-L1 (B7-H1) y PD-L2 (b7-DC). Se ha demostrado que la activación de los linfocitos T que expresan PD-1 se regula de manera descendente cuando se produce la interacción con linfocitos que expresan PD-L1 o PD-L2 (Freeman et al., *J. Exp. Med.*, 192:1027-1034 (2000); Latchman et al., *Nat. Immunol.*, 2:261-268 (2001); Carter et al., *Eur. J. Immunol.*, 32:634-643 (2002)). Tanto PD-L1 como PD-L2 son miembros de la familia de la proteína B7 que se fijan a PD-1, pero no se fijan a otros miembros de la familia de CD28. El ligando PD-L1 con frecuencia se presenta en diversos tipos de cáncer en seres humanos (Dong et al., *Nat. Med.*, 8:787-789 (2002)). La interacción entre PD-1 y PD-L1 da como resultado una disminución en los linfocitos que infiltran los tumores, una disminución en la proliferación mediada por el receptor de linfocitos T y una evasión inmunitaria por parte de células cancerosas (Dong et al., *J. Mol. Med.*, 81:281-287 (2003); Blank et al., *Cancer Immunol. Immunother.*, 54:307-314 (2005); Konishi et al., *Clin. Cancer Res.*, 10:5094-5100 (2004)). La inmunodepresión se puede revertir mediante la inhibición de la interacción local de PD-1 con PD-L1, y el efecto es aditivo cuando también se bloquea la interacción de PD-1 con PD-L2 (Iwai et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99:12293-12297 (2002); Brown et al., *J. Immunol.*, 170:1257-1266 (2003)).

25 También se demostró que PD-L1 interactúa con CD80 (Butte MJ et al, *Immunity*, 27:111-122 (2007)). Se demostró que la interacción de células inmunitarias que expresan PD-L1/CD80 es inhibidora. El bloqueo de esta interacción demostró la inactivación de esta interacción inhibidora (Paterson AM, et al., *J Immunol.*, 187:1097-1105 (2011); Yang J, et al. *J Immunol.* Aug 1;187(3):1113-9 (2011)).

30 Cuando los linfocitos T que expresan PD-1 entran en contacto con células que expresan sus ligandos, se reducen las actividades funcionales en respuesta a los estímulos antigénicos, incluida la proliferación, la secreción de citocina y la citotoxicidad. Las interacciones PD-1/PD-L1 o PD-L2 regulan de manera descendente las respuestas inmunitarias durante la resolución de una infección o tumor, o durante el desarrollo de la tolerancia inmunológica (Keir, M.E. et al., *Annu. Rev. Immunol.*, 26:Epub (2008)). La estimulación crónica de antígenos, tal como la que ocurre durante la enfermedad tumoral o las infecciones crónicas, da como resultado linfocitos T que expresan niveles elevados de PD-1 y son disfuncionales con respecto a la actividad hacia el antígeno crónico (reseña en Kim et al., *Curr. Opin. Imm.* (2010)). Esto se denomina "agotamiento de linfocitos T". Los linfocitos B también muestran inhibición y "agotamiento" de PD-1/PD-ligando.

35 El bloqueo de la ligadura PD-1/PD-L1 por medio del uso de anticuerpos dirigidos a PD-L1 demostró la restauración y el aumento de la activación de linfocitos T en muchos sistemas. Los pacientes que presentan cáncer avanzado se benefician del tratamiento con un anticuerpo monoclonal dirigido a PD-L1 (Brahmer et al., *New Engl. J. Med.* (2012)). Los modelos preclínicos de animales de tumores e infecciones crónicas dieron cuenta de que el bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 por parte de anticuerpos monoclonales puede mejorar la respuesta inmunitaria y dar como resultado el rechazo del tumor o el control de la infección. La inmunoterapia antitumoral mediante el bloqueo de PD-1/PD-L1 puede aumentar la respuesta inmunitaria terapéutica a diversos tumores histológicamente diferentes (Dong, H. et al., "B7-H1 pathway and its role in the evasion of tumor immunity", *J. Mol. Med.*, 81(5):281-287 (2003); Dong, H. et al., "Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion", *Nat. Med.*, 8(8):793-800 (2002)).

40 La interferencia con la interacción PD-1/PD-L1 provoca una actividad mejorada de linfocitos T en sistemas con infección crónica. El bloqueo de PD-L1 provocó una mejora de la depuración viral y un restablecimiento de la inmunidad en ratones con infección por el virus de la coriomeningitis linfocítica (Barber, D.L. et al., "Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection", *Nature*, 439(7077):682-687 (2006)). Los ratones humanizados infectados por VIH-1 mostraron una mejora de la protección contra la viremia y una disminución viral de linfocitos T CD4+ (Palmer et al., *J. Immunol.* (2013)). El bloqueo de PD-1/PD-L1 a través de anticuerpos monoclonales dirigidos a PD-L1 puede restaurar la funcionalidad específica del antígeno *in vitro* a los linfocitos T de pacientes con VIH (Day, *Nature* (2006); Petrovas, *J. Exp. Med.* (2006); Trautman, *Nature Med.* (2006); D'Souza, *J. Immunol.* (2007); Zhang, *Blood* (2007); Kaufmann, *Nature Imm.* (2007); Kasu, *J. Immunol.* (2010); Porichis, *Blood* (2011)), pacientes con HCV (Golden-Mason,

J. Virol. (2007); Jeung, *J. Leuk. Biol.* (2007); Urbani, *J. Hepatol.* (2008); Nakamoto, *PLoS Path.* (2009); Nakamoto, *Gastroenterology* (2008)) y pacientes con HBV (Boni, *J. Virol.* (2007); Fisicaro, *Gastro.* (2010); Fisicaro et al., *Gastroenterology* (2012); Boni et al., *Gastro.* (2012); Penna et al., *J. Hep.* (2012); Raziorrough, *Hepatology* (2009); Liang, *World J. Gastro.* (2010); Zhang, *Gastro.* (2008)).

5 El bloqueo de la interacción PD-L1/CD80 también demostró que estimula la inmunidad (Yang J., et al., *J Immunol.* Aug 1;187(3):1113-9 (2011)). Se demostró la mejora de la estimulación inmunitaria que resulta del bloqueo de la interacción PD-L1/CD80 a través de la combinación con el bloqueo de otras interacciones PD-1/PD-L1 o PD-1/PD-L2.

10 Se supone que las alteraciones en los fenotipos de células inmunitarias son un factor importante en el choque séptico (Hotchkiss, et al., *Nat Rev Immunol* (2013)). Estos incluyen niveles aumentados de PD-1 y PD-L1 (Guignant, et al, *Crit. Care* (2011)), Las células de pacientes que presentan choque séptico con niveles aumentados de PD-1 y PD-L1 muestran un mayor nivel de apoptosis de linfocitos T. Los anticuerpos dirigidos a PD-L1 pueden reducir el nivel de apoptosis de células inmunitarias (Zhang et al, *Crit Care* (2011)). Además, los ratones que carecen de expresión de PD-1 son más resistentes a los síntomas de choque séptico que los ratones de tipo silvestre. Yang J., et al. *J Immunol.* Aug 1;187(3):1113-9 (2011)). Los estudios revelaron que el bloqueo de las interacciones de PD-L1 por medio de anticuerpos puede deprimir respuestas inmunitarias inadecuadas y mejorar los signos de la enfermedad.

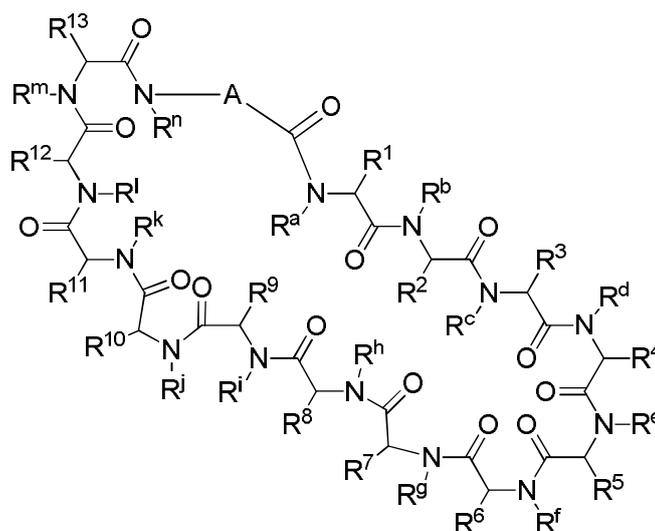
20 Además de mejorar las respuestas inmunitarias a los antígenos crónicos, el bloqueo de la vía de PD-1/PD-L1 también demostró la mejora de las respuestas a la vacunación, incluida la vacunación terapéutica en el contexto de infección crónica (Ha, S.J. et al., "Enhancing therapeutic vaccination by blocking PD-1-mediated inhibitory signals during chronic infection", *J. Exp. Med.*, 205(3):543-555 (2008); Finnefrock, A.C. et al., "PD-1 blockade in rhesus macaques: impact on chronic infection and prophylactic vaccination", *J. Immunol.*, 182(2):980-987 (2009); Song, M.-Y. et al., "Enhancement of vaccine-induced primary and memory CD8+ t-cell responses by soluble PD-1", *J. Immunother.*, 34(3):297-306 (2011)).

30 Las moléculas descritas en el presente documento demuestran la capacidad de bloquear la interacción de PD-L1 con PD-1, en sistemas experimentales bioquímicos y celulares. Estos resultados son coherentes con la posibilidad de que la administración terapéutica mejore la inmunidad en el cáncer o en infecciones crónicas, incluida la vacunación terapéutica.

35 Los péptidos macrocíclicos descritos en el presente documento son capaces de inhibir la interacción de PD-L1 con PD-1 y con CD80. Estos compuestos han demostrado una fijación altamente eficaz a PD-L1, el bloqueo de la interacción de PD-L1 con PD-1 o CD80, y son capaces de promover una mejora de la actividad funcional de linfocitos T, lo que los convierte en candidatos para formulaciones parenterales, orales, pulmonares, nasales, bucales o de liberación sostenida.

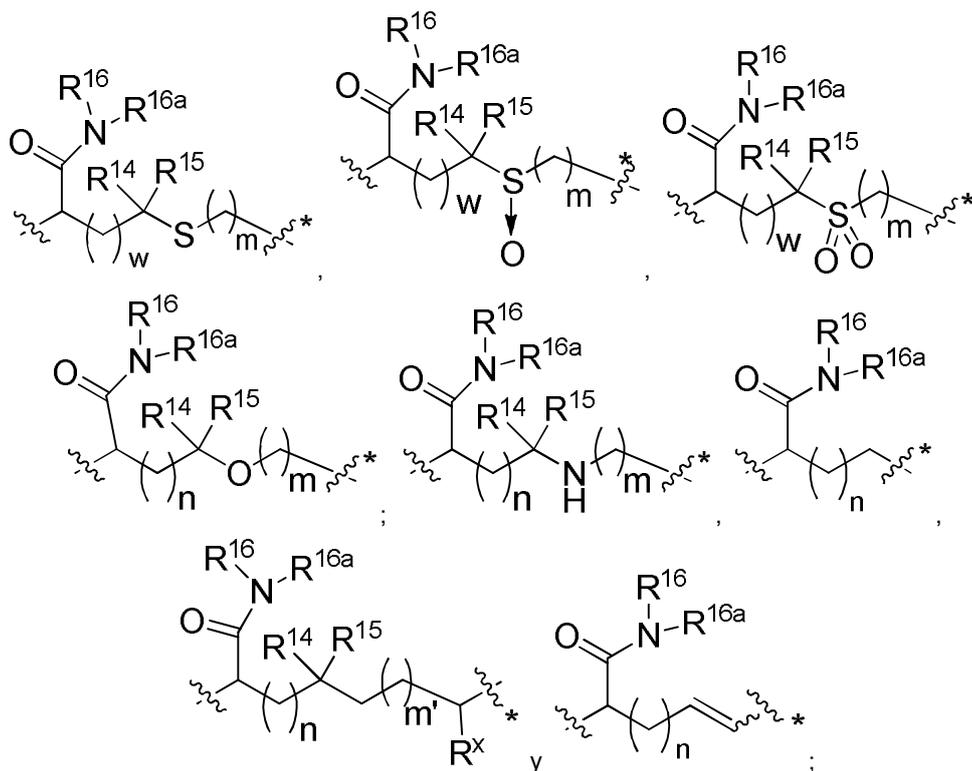
El documento WO 2014/151634 desvela péptidos macrocíclicos que inhiben la interacción PD-1/PD-L1.

40 En una primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I)



(I),

45 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:
A se selecciona de



5 en donde:

indica el punto de unión al grupo carbonilo y indica el punto de unión al átomo de nitrógeno;

n es 0 o 1;

m es 1 o 2;

10 m' es 0 o 1;

w es 0, 1 o 2;

R^x se selecciona de hidrógeno, amino, hidroxil y metilo;

R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;

R^{16a} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₆;

15 R¹⁶ se selecciona de

-(C(R^{17a})₂)₂-X-R³⁰,

-(C(R^{17a})₂C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂-X'-R³¹,

-(C(R^{17a})₂[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂]_w-X-R³¹,

-(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_n-H; y

20 -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H;

en donde:

w' es 2 o 3;

25 n' es 1-6;

m' es 0-5;

X es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -(CH₂)CO₂H;

30 X' es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H, siempre que X' no sea PEG no sustituido;

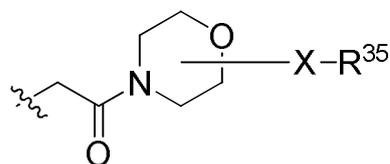
35 R³⁰ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x y -CH₃, en donde R^w y R^x se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₆, siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea -CH₃;

R³¹ es -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, -CH₃, alexa-5-SDP y biotina;

cada R^{17a} se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -CH₂OH, -CH₂CO₂H, -(CH₂)₂CO₂H,

cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, -CH₃, (CH₂)₂N₃,

$-(\text{CH}_2)_z\text{NH}_2$, $-\text{X}-\text{R}^{31}$, $-(\text{CH}_2)_z\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ y $-(\text{CH}_2)_z\text{-triazolil-X-R}^{35}$, en donde z es 1-6, y R^{35} se selecciona de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^w\text{R}^x$, CH_3 , biotina, $-\text{2-fluopiridina}$, $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})\text{O-vitamina E}$, $-\text{C}(\text{O})\text{O-vitamina E}$; y



5

siempre que al menos un R^{17} no sea hidrógeno, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{OH}$;

R^c , R^f , R^h , R^i , R^m y R^n son hidrógeno;

R^a , R^e , R^j y R^k se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;

10 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} y R^{13} se seleccionan independientemente de una cadena lateral de aminoácido natural y una cadena lateral de aminoácido no natural o forman un anillo con el grupo R próximo correspondiente, como se describe más adelante;

15 R^e y R^k pueden formar, cada uno, un anillo con el grupo R próximo correspondiente y los átomos a los que están unidos, seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo;

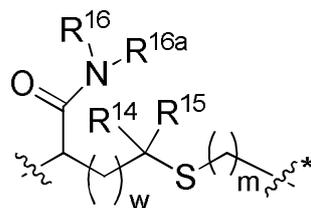
R^b es metilo, o R^b y R^2 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo;

20 R^d es hidrógeno o metilo, o R^d y R^4 , junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, hidroxilo y fenilo;

25 R^9 es hidrógeno o metilo, o R^9 y R^7 , junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, bencilo opcionalmente sustituido con un grupo halo, benciloxi, ciano, ciclohexilo, metilo, halo, hidroxilo, isoquinoliniloxi opcionalmente sustituido con un grupo metoxi, quinoliniloxi opcionalmente sustituido con un grupo halo, y tetrazolilo; y en donde los anillos de pirrolidina y piperidina están opcionalmente fusionados con un grupo

30 ciclohexilo, fenilo o indol; y R^l es metilo, o R^l y R^{12} , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina y pirrolidina, en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo.

35 En un primer aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A es



40 En un segundo aspecto de la primera forma de realización:

m y w son 1; y

R^{14} , R^{15} y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno.

45 En un tercer aspecto de la primera forma de realización:

R^{16} es $-(\text{C}(\text{R}^{17a})_2)-\text{X}-\text{R}^{30}$.

En un cuarto aspecto de la primera forma de realización:

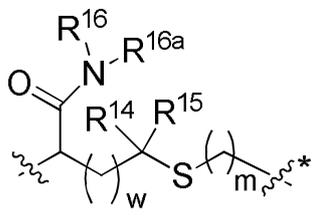
cada R^{17a} es hidrógeno;

50 X es una cadena de 8 a 46 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos $\text{C}(\text{O})\text{NH}$ incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ y $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$; y

R^{30} se selecciona de $-\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{H}$ y $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; siempre que, cuando X es carbono, R^{30} no sea $-\text{CH}_3$.

En un quinto aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

5 A es



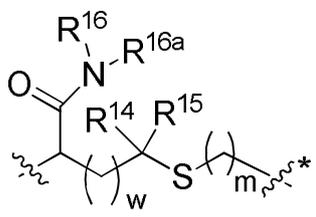
10 m y w son 1;
 R^{14} , R^{15} y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno; y
 R^{16} es $-C(R^{17a})_2C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})_2-X'-R^{31}$.

En un sexto aspecto de la primera forma de realización:

15 cada R^{17a} se selecciona de hidrógeno, $-CO_2H$ y $-CH_2CO_2H$;
 X' es una cadena de 8 a 48 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos $C(O)NH$ incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, $-CH_2C(O)NH_2$ y $-CH_2CO_2H$; siempre que X' no sea PEG no sustituido; y
 20 R^{30} se selecciona de $-CH_3$, $-CO_2H$ y $-C(O)NH_2$.

En un séptimo aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

25 A es



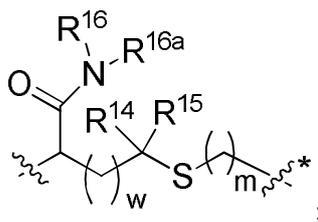
30 m y w son 1;
 R^{14} , R^{15} y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno; y
 R^{16} es $-C(R^{17a})_2[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})_2]_w-X-R^{31}$.

En un octavo aspecto de la primera forma de realización:

35 cada R^{17a} se selecciona de hidrógeno, $-CO_2H$ y $-CH_2CO_2H$;
 X es una cadena de 8 a 48 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos $C(O)NH$ incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, $-CH_2C(O)NH_2$ y $-CH_2CO_2H$; y
 40 R^{31} se selecciona de $-CH_3$, $-CO_2H$ y $-C(O)NH_2$.

En un noveno aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

45 A es



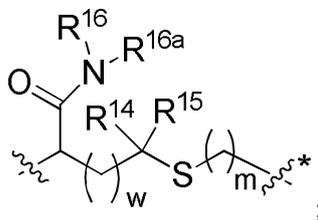
- 5 m y w son 1;
 R^{14} , R^{15} y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno; y
 R^{16} es $-(C(R^{17a})(R^{17})C(O)NR^{16a})_n-H$.

En un décimo aspecto de la primera forma de realización:

- 10 cada R^{17a} es hidrógeno; y
 cada R^{17} se selecciona de hidrógeno, $-CH_3$, $(CH_2)_zN_3$, $-(CH_2)_zNH_2$, $-X-R^{31}$,
 $-(CH_2)_zCO_2H$, $-CH_2OH$, $CH_2C\equiv CH$ y $-(CH_2)_z$ -triazolil- $X-R^{35}$; siempre que al menos un R^{17} no sea hidrógeno, $-CH_3$ o
 $-CH_2OH$;
 z es 1-4;
 R^{31} se selecciona de $-CH_3$, $-CO_2H$ y $-C(O)NH_2$;
 15 X es una cadena de 7 a 155 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la
 cadena puede contener uno, dos o tres grupos $C(O)NH$ incrustados; y en donde la cadena se sustituye
 opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, $-CH_2C(O)NH_2$ y
 $-CH_2CO_2H$; y
 20 R^{35} se selecciona de $-CO_2H$, $-C(O)NR^wR^x$, CH_3 , biotina, -2-fluopiridina,
 $-C(O)-(CH_2)_2-C(O)O$ -vitamina E y $-C(O)O$ -vitamina E.

En un undécimo aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

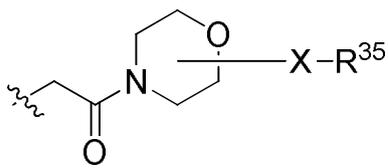
- 25 A es



- 30 m y w son 1;
 R^{14} , R^{15} y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno; y
 R^{16} es $-(CR^{17a})(R^{17})C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R^{17})-CO_2H$.

En un duodécimo aspecto de la primera forma de realización:

- 35 m' es 1-3;
 cada R^{17a} es hidrógeno;
 cada R^{17} se selecciona de hidrógeno, $-CH_3$, $(CH_2)_zN_3$, $-(CH_2)_zNH_2$, $-X-R^{31}$,
 $-(CH_2)_zCO_2H$, $-CH_2OH$, $CH_2C\equiv CH$, $-(CH_2)_z$ -triazolil- $X-R^{35}$ y $C(O)O$ -vitamina E; y



- 40 siempre que al menos un R^{17} no sea hidrógeno, $-CH_3$ o $-CH_2OH$;
 z es 1-4;
 R^{31} se selecciona de $-CH_3$, $-CO_2H$ y $-C(O)NH_2$;
 45 X es una cadena de 20 a 60 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la
 cadena puede contener uno, dos o tres grupos $C(O)NH$ incrustados; y en donde la cadena se sustituye

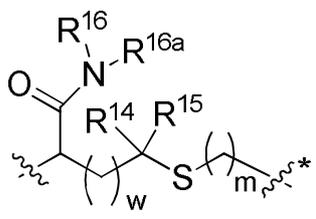
opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ y $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$; y

R^{35} se selecciona de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^w\text{R}^x$, CH_3 , biotina, 2-fluopiridina, $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -vitamina E y $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -vitamina E.

5 En un decimotercer aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es fenilalquilo C_1-C_3 , en donde la parte de fenilo se sustituye opcionalmente con hidroxilo, halo o metoxi; R^2 es alquilo C_1-C_7 , o R^2 y R^b , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de piperidina; R^3 es NR^xR^y (alquilo C_1-C_7), NR^uR^v carbonilalquilo C_1-C_3 o carboxialquilo C_1-C_3 ; R^4 y R^d , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de pirrolidina; R^5 es hidroxialquilo C_1-C_3 , imidazolilalquilo C_1-C_3 o NR^xR^y (alquilo C_1-C_7); R^6 es carboxialquilo C_1-C_3 , NR^uR^v carbonilalquilo C_1-C_3 , NR^xR^y (alquilo C_1-C_7) o alquilo C_1-C_7 ; R^7 y R^9 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de pirrolidina opcionalmente sustituido con hidroxilo; R^8 y R^{10} son benzotienilo o indolilalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido con carboxialquilo C_1-C_3 ; R^9 es hidroxialquilo C_1-C_3 , aminoalquilo C_1-C_3 o alquilo C_1-C_7 , R^{11} es alcoxi C_1-C_3 alquilo C_1-C_3 o alquilo C_1-C_7 ; R^{12} es alquilo C_1-C_7 o hidroxialquilo C_1-C_3 ; y R^{13} es alquilo C_1-C_7 , carboxialquilo C_1-C_3 o $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$.

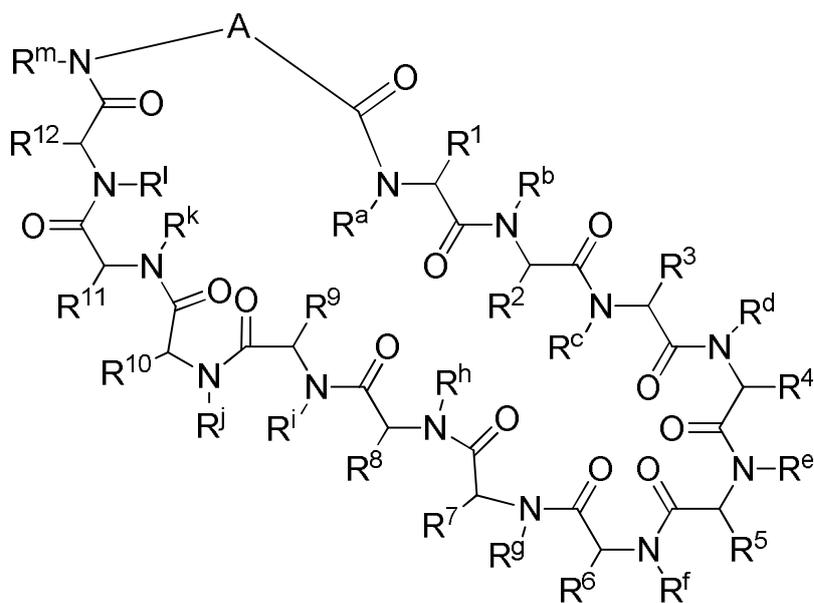
20 En un decimocuarto aspecto de la primera forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

A es



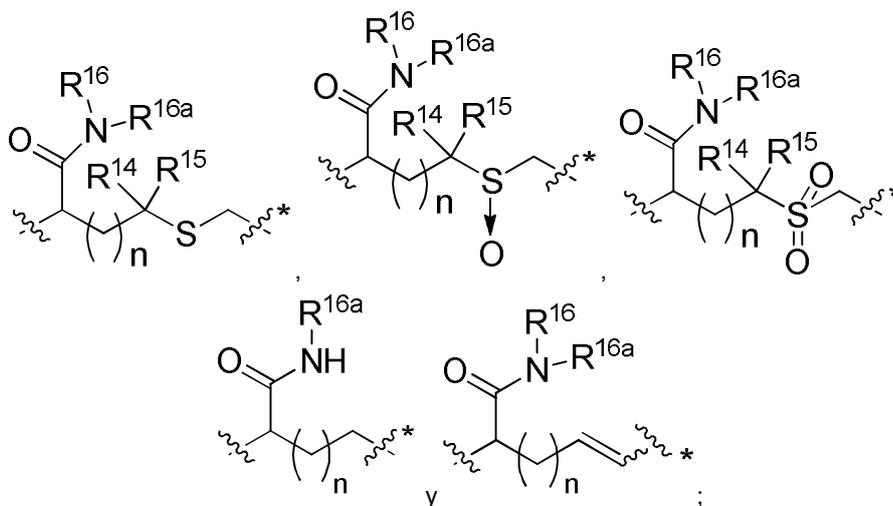
25 m y w son 1;
 R^{14} , R^{15} y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno;
 R^d es metilo, o R^d y R^4 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, hidroxilo y fenilo;
30 R^9 es metilo, o R^9 y R^7 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de amino, bencilo opcionalmente sustituido con un grupo halo, benciloxi, ciano, ciclohexilo, metilo, halo, hidroxilo, isoquinoliniloxi opcionalmente sustituido con un grupo metoxi, quinoliniloxi opcionalmente sustituido con un grupo halo, y tetrazolilo; y en donde los anillos de pirrolidina y piperidina están opcionalmente fusionados a un grupo ciclohexilo, fenilo o indol; y
35 R^k es metilo, o R^k y R^{11} , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo.

40 En una segunda forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (II)



(III),

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:
A se selecciona de



10 en donde:

n es 0 o 1;
R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;
15 R^{16a} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₆;
R¹⁶ se selecciona de
-(C(R^{17a})₂)₂-X-R³⁰,
-C(R^{17a})₂C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂-X'-R³¹,
-C(R^{17a})₂[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂]_{w'}-X-R³¹,
20 -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_n-H; y
-(CR^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H; en donde:

w' es 2 o 3;
n' es 1-6;
25 m' es 1-5;
X es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con s seleccionados independientemente de -CO₂H, -

C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H,

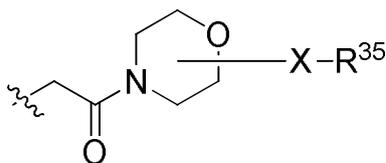
X' es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de

5 -CO₂H, -C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H, siempre que X' no sea PEG no sustituido;

R³⁰ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x y -CH₃, en donde R^w y R^x se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₆, siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea -CH₃;

R³¹ es -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, -CH₃, alexa-5-SDP y biotina;

10 cada R^{17a} se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -CH₂OH, -CH₂CO₂H, -(CH₂)₂CO₂H, cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, -CH₃, (CH₂)₂N₃, -(CH₂)_zNH₂, -X-R³¹, -(CH₂)₂CO₂H, -CH₂OH, CH₂C≡CH y -(CH₂)_z-triazolil-X-R³⁵, en donde z es 1-6 y R³⁵ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, CH₃, biotina, -2-fluoripiridina, -C(O)-(CH₂)₂-C(O)O-vitamina E, -C(O)O-vitamina E y



15 siempre que al menos un R¹⁷ no sea hidrógeno, -CH₃ o -CH₂OH;

R^a, R^f, R^l, R^k, R^l y R^m son hidrógeno;

R^b y R^c son metilo;

R^g se selecciona de hidrógeno y metilo;

20 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente de una cadena lateral de aminoácido natural y una cadena lateral de aminoácido no natural o forman un anillo con el grupo R próximo correspondiente, como se describe más adelante;

25 R^d se selecciona de hidrógeno y metilo, o, R^d y R⁴, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil;

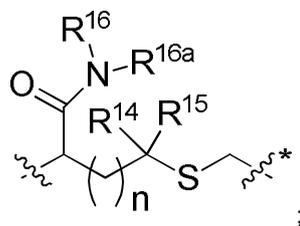
30 R^e se selecciona de hidrógeno y metilo, o R^e y R⁵, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil;

35 R^h se selecciona de hidrógeno y metilo, o R^h y R⁸, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil; y

Rⁱ se selecciona de hidrógeno y metilo, o Rⁱ y R⁹, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil.

40 En un primer aspecto de la segunda forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto de la fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

A es



45 n es 1;

R¹⁶ es -(CR^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H;

cada R^{16a} es hidrógeno;

m' es 2, 3 o 4;

50 cada R^{17a} es hidrógeno;

cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, -(CH₂)_zNH₂, -X-R³¹ y

-CH₂C≡CH,

z es 4;

X es una cadena de 26 a 155 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos C(O)NH incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ y $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$; y R^{31} es $-\text{CH}_3$, alexa-5-SDP y biotina.

5 En una tercera forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para mejorar, estimular y/o aumentar la respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesita; el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I), o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un primer aspecto de la tercera forma de realización, el método también comprende administrar un agente adicional antes, durante o después de la administración del compuesto de la fórmula (I) o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un segundo aspecto, el agente adicional es un agente antimicrobiano, un agente antiviral, un agente citotóxico y/o un modificador de la respuesta inmunitaria.

15 En una cuarta forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para inhibir el crecimiento, la proliferación o la metástasis de células cancerosas en un sujeto que lo necesita; el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un primer aspecto de la cuarta forma de realización, el tipo de cáncer se selecciona de melanoma, carcinoma de células renales, cáncer pulmonar de células no pequeñas escamosas (NSCLC), NSCLC de células no escamosas, cáncer colorrectal, cáncer de próstata resistente a la castración, cáncer de ovario, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, carcinoma pancreático, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinomas de esófago, tubo gastrointestinal y mama y cáncer hematológico.

25 En una quinta forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto que lo necesite, en donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un primer aspecto de la quinta forma de realización, la enfermedad infecciosa es causada por un virus. En un segundo aspecto, el virus se selecciona de VIH, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, virus del herpes e influenza.

30 En una sexta forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar el choque séptico en un sujeto que lo requiera, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal de este terapéuticamente aceptable.

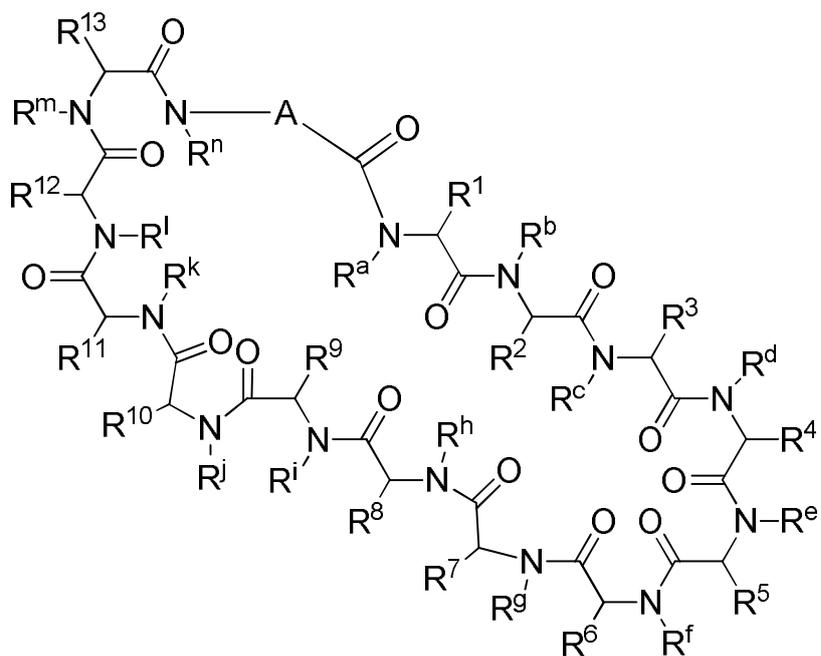
35 En una séptima forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para mejorar, estimular y/o aumentar la respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesita; el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (II) o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un primer aspecto de la séptima forma de realización, el método también comprende administrar un agente adicional antes, durante o después de la administración del compuesto de la fórmula (II), o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un segundo aspecto, el agente adicional es un agente antimicrobiano, un agente antiviral, un agente citotóxico y/o un modificador de la respuesta inmunitaria. En un tercer aspecto, el agente adicional es un inhibidor de HDAC. En una cuarta forma de realización, el agente adicional es un agonista de TLR7 y/o TLR8.

45 En una octava forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para inhibir el crecimiento, la proliferación o la metástasis de células cancerosas en un sujeto que lo necesita; el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (II) o una sal de este terapéuticamente aceptable. En un primer aspecto de la octava forma de realización, el tipo de cáncer se selecciona de melanoma, carcinoma de células renales, cáncer pulmonar de células no pequeñas escamosas (NSCLC), NSCLC de células no escamosas, cáncer colorrectal, cáncer de próstata resistente a la castración, cáncer de ovario, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, carcinoma pancreático, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinomas de esófago, tubo gastrointestinal y mama y cáncer hematológico.

50 En una novena forma de realización, proporciona un compuesto de fórmula (II) o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de una enfermedad infecciosa en un sujeto que lo necesite. En un primer aspecto de la novena forma de realización, la enfermedad infecciosa es causada por un virus. En un segundo aspecto, el virus se selecciona de VIH, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, virus del herpes e influenza.

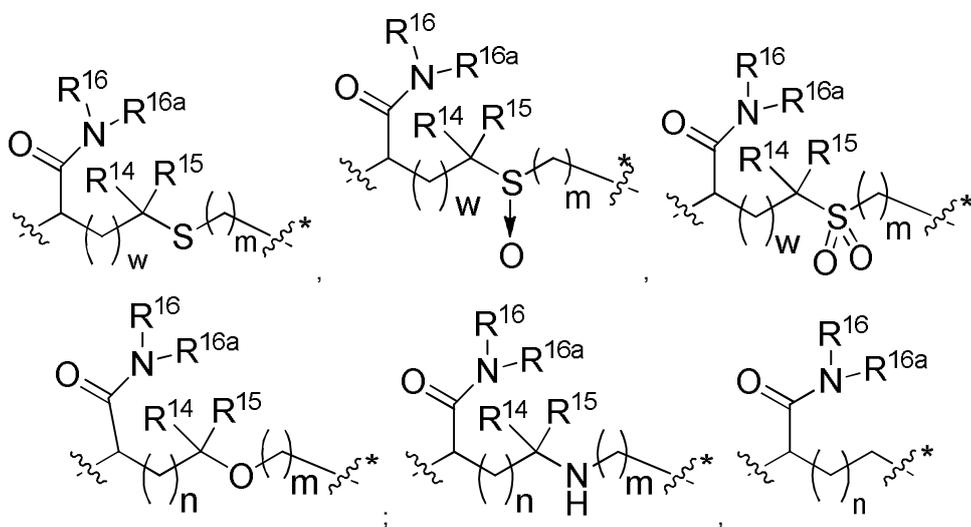
55 En una décima forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar el choque séptico en un sujeto que lo necesite, en donde el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (II) o una sal de este terapéuticamente aceptable.

60 En la presente divulgación se desvela un compuesto de la fórmula (III)

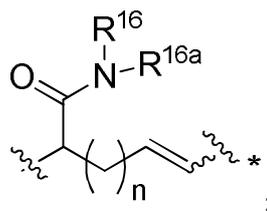


(III),

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:
A se selecciona de



10 y



15 en donde: *

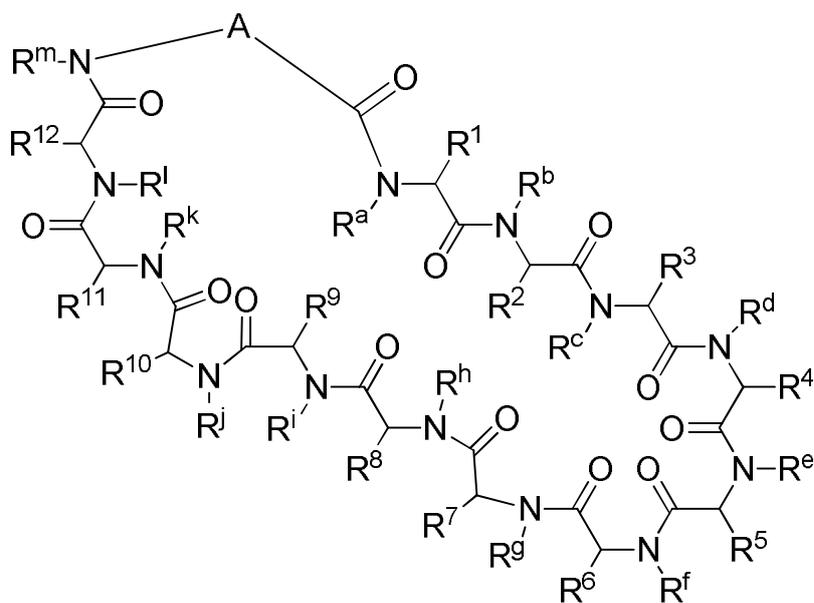
indica el punto de unión al grupo carbonilo y indica el punto de unión al átomo de nitrógeno;

n es 0 o 1;
 m es 1 o 2;
 w es 0, 1 o 2;
 R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;
 5 R^{16a} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₆;
 R¹⁶ se selecciona de
 -(C(R^{17a})₂)₂-X-R³⁰,
 -C(R^{17a})₂C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂-X'-R³¹,
 -C(R^{17a})₂[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂]_w-X-R³¹,
 10 -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_n-H; y
 -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H;

en donde:

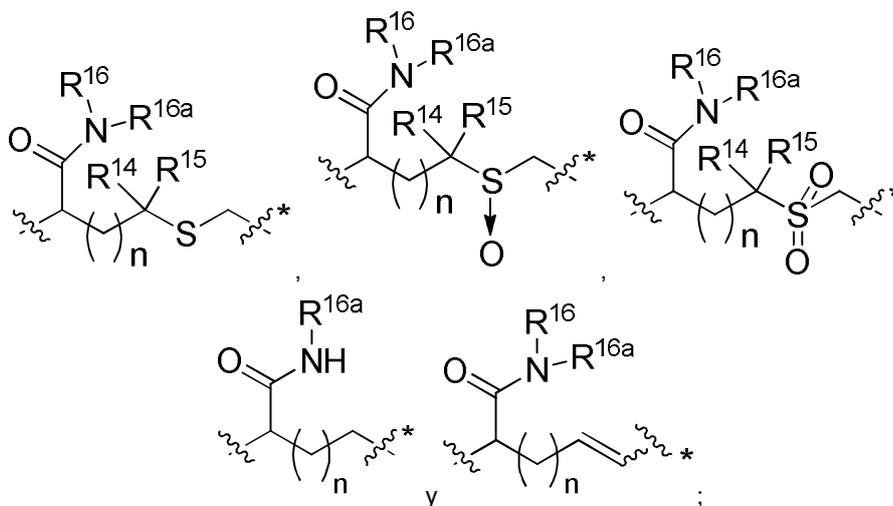
15 w' es 2 o 3;
 n' es 1-6; (2, 3)
 m' es 0-5; (1, 2, 3)
 X es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la
 cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en
 20 donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de -CO₂H,
 -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H,
 X' es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la
 cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en
 donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de -CO₂H,
 25 -C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H, siempre que X' no sea PEG no sustituido;
 R³⁰ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x y -CH₃, en donde R^w y R^x se seleccionan independientemente de
 hidrógeno y alquilo C₁-C₆, siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea -CH₃;
 R³¹ es -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, -CH₃, alexa-5-SDP y biotina;
 cada R^{17a} se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -CH₂OH, -CH₂CO₂H, -(CH₂)₂CO₂H,
 30 cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, -CH₃, (CH₂)_zN₃, -(CH₂)_zNH₂, -X-R³¹, -(CH₂)_zCO₂H, -
 CH₂OH, CH₂C≡CH y -(CH₂)_z-triazolil-X-R³⁵, en donde z es 1-6 y R³⁵ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, CH₃,
 biotina, -2-fluoropiridina, -C(O)-(CH₂)₂-C(O)O-vitamina E y -C(O)O-vitamina E; siempre que al menos un R¹⁷ no sea
 hidrógeno, -CH₃ o -CH₂OH;
 R^c, R^f, R^h, Rⁱ, R^m y Rⁿ son hidrógeno;
 35 R^a, R^e, R^j y R^k se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;
 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ se seleccionan independientemente de una cadena lateral de
 aminoácido natural y una cadena lateral de aminoácido no natural o forman un anillo con el grupo R próximo
 correspondiente, como se describe más adelante;
 R^e y R^k pueden formar, cada uno, un anillo con el grupo R próximo correspondiente y los átomos a los que están
 40 unidos, seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada
 anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano,
 metilo, halo e hidroxilo;
 R^b es metilo, o R^b y R², junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina,
 pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con
 45 uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo;
 R^d es hidrógeno o metilo, o R^d y R⁴, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo
 seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se
 sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo,
 hidroxilo y fenilo;
 50 R⁹ es hidrógeno o metilo, o R⁹ y R⁷, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo
 seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se
 sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, bencilo
 opcionalmente sustituido con un grupo halo, benciloxi, ciano, ciclohexilo, metilo, halo, hidroxilo, isoquinolinilo
 opcionalmente sustituido con un grupo metoxi, quinolinilo opcionalmente sustituido con un grupo halo, y
 55 tetrazolilo; y en donde los anillos de pirrolidina y piperidina están opcionalmente fusionados con un grupo
 ciclohexilo, fenilo o indol; y
 R^l es metilo, o R^l y R¹², junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina y
 pirrolidina, en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados
 independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo.

60 En la presente divulgación se desvela un compuesto de la fórmula (IV)



(IV),

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:
A se selecciona de



10 en donde:

n es 0 o 1;
R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;
15 R^{16a} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₆;
R¹⁶ se selecciona de
-(C(R^{17a})₂)₂-X-R³⁰,
-C(R^{17a})₂C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂-X'-R³¹,
-C(R^{17a})₂[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂]_{w'}-X-R³¹,
20 -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_{n'}-H; y
-(CR^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H; en donde:

w' es 2 o 3;
n' es 1-6;
25 m' es 1-5;
X es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de

$-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ y $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$,

X' es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de $-\text{NHC}(\text{O})\text{NH}-$ y $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$ incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de

5 $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ y $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, siempre que X' no sea PEG no sustituido;

R³⁰ se selecciona de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^w\text{R}^x$ y $-\text{CH}_3$, en donde R^w y R^x se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₆, siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea $-\text{CH}_3$;

R³¹ es $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^w\text{R}^x$, $-\text{CH}_3$, alexa-5-SDP y biotina;

10 cada R^{17a} se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$, cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, $-\text{CH}_3$, $(\text{CH}_2)_z\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_z\text{NH}_2$, $-\text{X}-\text{R}^{31}$, $-(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$ y $-(\text{CH}_2)_z$ -triazolil-X-R³⁵, en donde z es 1-6 y R³⁵ se selecciona de $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^w\text{R}^x$, CH_3 , biotina, -2-fluorpiridina, $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})$ -vitamina E y $-\text{C}(\text{O})$ -vitamina E; siempre que al menos un R¹⁷ no sea hidrógeno, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{OH}$;

R^a, R^f, R^j, R^k, R^l y R^m son hidrógeno;

15 R^b y R^c son metilo;

R^g se selecciona de hidrógeno y metilo;

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente de una cadena lateral de aminoácido natural y una cadena lateral de aminoácido no natural o forman un anillo con el grupo R próximo correspondiente, como se describe más adelante;

20 R^d se selecciona de hidrógeno y metilo, o, R^d y R⁴, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil;

25 R^e se selecciona de hidrógeno y metilo, o R^e y R⁵, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil;

30 R^h se selecciona de hidrógeno y metilo, o R^h y R⁸, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil; y

35 Rⁱ se selecciona de hidrógeno y metilo, o Rⁱ y R⁹, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil.

40 En los compuestos de las fórmulas (I) y (II), en donde las cadenas laterales de R son parte de un anillo que se sustituye con metilo, el grupo metilo puede encontrarse en cualquier átomo de carbono sustituible en el anillo, incluido el carbono que es parte de la estructura de origen macrocíclica.

Se prefieren los siguientes grupos en cada posición R. Los aminoácidos pueden tener estereoquímica D o L, y se pueden sustituir como se describe en la presente divulgación.

45 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R¹ preferidas son: fenilalanina, tirosina, 3-tien-2-ilo, 4-metilfenilalanina, 4-clorofenilalanina, 3-metoxifenilalanina, isotriptófano, 3-metilfenilalanina, 1-naftilalanina, 3,4-difluorofenilalanina, 4-fluorofenilalanina, 3,4-dimetoxifenilalanina, 3,4-diclorofenilalanina, 4-difluorometilfenilalanina, 2-metilfenilalanina, 2-naftilalanina, triptófano, 4-piridinilo, 4-bromofenilalanina, 3-piridinilo, 4-trifluorometilfenilalanina, 4-carboxifenilalanina, 4-metoxifenilalanina, bifenilalanina y 3-clorofenilalanina; y 2,4-diaminobutano.

50 En los compuestos de la fórmula (I), en donde R² no es parte de un anillo, las cadenas laterales de R² preferidas son: alanina, serina y glicina.

55 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R³ preferidas son: asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, serina, ornitina, lisina, histidina, treonina, leucina, alanina, 2,3-diaminopropano y 2,4-diaminobutano.

En los compuestos de la fórmula (I), en donde R⁴ no es parte de un anillo, las cadenas laterales de R⁴ preferidas son: valina, alanina, isoleucina y glicina.

60 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R⁵ preferidas son: aminometano, histidina, asparagina, 2,3-diaminopropano, serina, glicina, 2,4-diaminobutano, treonina, alanina, lisina, ácido aspártico, alanina y 3-tiazolilalanina.

65 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R⁶ preferidas son: leucina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina, serina, lisina, 3-ciclohexano, treonina, ornitina, 2,4-diaminobutano, alanina, arginina y ornitina (COCH₃).

En los compuestos de la fórmula (I), en donde R⁷ no es parte de un anillo, las cadenas laterales de R⁷ preferidas son: glicina, 2,4-diaminobutano, serina, lisina, arginina, ornitina, histidina, asparagina, glutamina, alanina y 2,4-diaminobutano (C(O)ciclobutano).

5 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R⁸ preferidas son triptófano y 1,2- bencisotiazolinilalanina.

En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R⁹ preferidas son: serina, histidina, lisina, ornitina, 2,4-dibutilamina, treonina, lisina, glicina, ácido glutámico, valina, 2,3-diaminopropano, arginina, ácido aspártico y tirosina.

10 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R¹⁰ preferidas son: triptófano opcionalmente sustituido, bencisotiazolinilalanina, 1-naftilalanina, metionina.

15 En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R¹¹ preferidas son: norleucina, leucina, asparagina, fenilalanina, metionina, etoximetano, alanina, triptófano, isoleucina, fenilpropano, ácido glutámico, hexano y heptano.

20 En los compuestos de la fórmula (I), en donde R¹² no es parte de un anillo, las cadenas laterales de R¹² preferidas son: norleucina, alanina, etoximetano, metionina, serina, fenilalanina, metoxietano, leucina, triptófano, isoleucina, ácido glutámico, hexano, heptano y glicina.

En los compuestos de la fórmula (I), las cadenas laterales de R¹³ preferidas son: arginina, ornitina, alanina, 2,4-diaminobutano, 2,3-diaminopropano, leucina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, lisina, treonina, ciclopropilmetano, glicina, valina, isoleucina, histidina y 2-aminobutano.

25 De acuerdo con la presente divulgación, se descubrieron péptidos que se fijan específicamente a PD-L1 y son capaces de inhibir la interacción de PD-L1 con PD-1 y CD80. Estos péptidos macrocíclicos muestran una eficacia inmunomoduladora *in vitro*, lo que implica que sean candidatos terapéuticos para el tratamiento de varias enfermedades, incluido el cáncer y enfermedades infecciosas.

30 Las expresiones "fijación específica" o "que se fija específicamente" se refieren a la interacción entre una proteína y una molécula de fijación, tal como un compuesto o ligando. La interacción depende de la presencia de una estructura particular (es decir, un sitio de fijación a la enzima, un epítipo o un determinante antigénico) de la proteína reconocida por la molécula de fijación. Por ejemplo, si un compuesto tiene fijación específica al sitio de fijación a la proteína "A", la presencia del compuesto en una reacción que contiene una proteína que incluye el sitio de fijación A y de un péptido etiquetado que se fija específicamente al sitio de fijación a la proteína A producirán la reducción de la cantidad de péptido etiquetado fijado a la proteína. Por el contrario, la fijación no específica de un compuesto a la proteína no da como resultado un desplazamiento dependiente de la concentración del péptido etiquetado de la proteína.

40 Se pretende que la presente divulgación incluya todos los isótopos de átomos que ocurren en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico, pero diferentes números másicos. A fin de brindar ejemplos generales y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. Los isótopos de carbono incluyen ¹³C y ¹⁴C. Por lo general, los compuestos de la invención etiquetados de manera isotópica se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por las personas del oficio de nivel medio o mediante procesos análogos a los que se describen en el presente documento, usando un reactivo adecuado etiquetado de manera isotópica en lugar de un reactivo no etiquetado. Los compuestos pueden tener una variedad de usos posibles, por ejemplo, como estándares y reactivos para determinar la actividad biológica. En el caso de isótopos estables, es posible que estos compuestos tengan el potencial de modificar favorablemente propiedades biológicas, farmacológicas o farmacocinéticas.

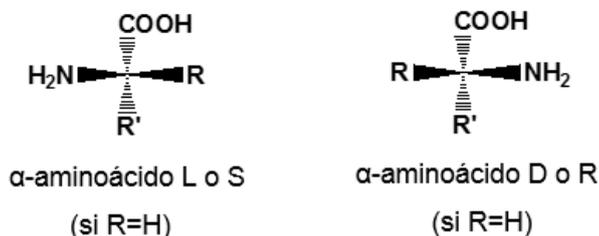
50 Un aspecto adicional del objeto descrito en el presente documento se refiere al uso de los péptidos descritos como ligandos radioetiquetados para el desarrollo de ensayos de fijación a ligando o para controlar la adsorción, el metabolismo, la distribución, la fijación al receptor o su ocupación *in vivo*, o la disposición del compuesto. Por ejemplo, un péptido macrocíclico descrito en el presente documento se puede preparar usando el isótopo radiactivo ¹²⁵I, y el péptido radioetiquetado resultante se puede usar para desarrollar un ensayo de fijación o para estudios de metabolismo. De manera alternativa, y para el mismo fin, un péptido macrocíclico descrito en el presente documento se puede convertir en una forma radioetiquetada mediante titulación catalítica usando métodos conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

60 Los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación también se pueden usar como agentes para las imágenes PET añadiendo un marcador radiactivo mediante métodos conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

Los péptidos preferidos incluyen al menos uno de los péptidos macrocíclicos provistos en el presente documento, y estos péptidos se pueden incluir en composiciones y combinaciones farmacéuticas.

65 Las definiciones provistas en el presente documento se aplican, sin limitación, a los términos usados en la presente memoria descriptiva, a menos que se limite de otra manera en casos específicos.

Las personas del oficio de nivel medio de la química de aminoácidos y péptidos están al tanto de que un aminoácido incluye un compuesto representado por la estructura general:



5

en donde R y R' son como se analizan en el presente documento.

10 A menos que se indique lo contrario, el término "aminoácido", como se usa en el presente documento, solo o como parte de otro grupo, incluye, sin limitación, un grupo amino y un grupo carboxilo ligado al mismo carbono, denominado carbono " α ", en donde R y/o R' pueden ser una cadena lateral natural o no natural, que incluye hidrógeno. La configuración "S" absoluta en el carbono " α " con frecuencia se denomina configuración "L" o "natural". En caso de que ambos sustituyentes "R" y "R'"(principal) sean iguales a hidrógeno, el aminoácido es glicina y no es quiral.

15 Las expresiones "cadena lateral de aminoácido natural" y "cadena lateral de aminoácido que aparece de manera natural", como se usa en el presente documento, se refiere a la cadena lateral de cualquier aminoácido natural (es decir, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, -histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina), por lo general, en la configuración S (es decir, el aminoácido L).

20

Las expresiones "cadena lateral de aminoácido no natural" y "cadena lateral de aminoácido que no aparece de manera natural", como se usa en el presente documento, se refiere a una cadena lateral de cualquier aminoácido natural, por lo general, en la configuración R (es decir, el aminoácido D) o a un grupo diferente de una cadena lateral de aminoácido natural en la configuración R o S (es decir, el aminoácido D o L, respectivamente) seleccionado de:

25

alqueno C₂-C₇, alcoxi C₁-C₃alquilo C₁-C₃, alcoxicarbonil C₁-C₆alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₇, C₁-C₃alquilsulfanilalquilo C₁-C₃, amidoalquilo C₁-C₃, aminoalquilo C₁-C₃, azaindolilalquilo C₁-C₃, benzotiazolilalquilo C₁-C₃, benzotienilalquilo C₁-C₃, benciloxialquilo C₁-C₃, carboxialquilo C₁-C₃, cicloalquil C₃-C₁₄alquilo C₁-C₃, difenilmetilo, furanilalquilo C₁-C₃, imidazolilalquilo C₁-C₃, naftilalquilo C₁-C₃, piridinilalquilo C₁-C₃, tiazolilalquilo C₁-C₃, tienilalquilo C₁-C₃;

30

bifenilalquilo C₁-C₃, en donde bifenilo se sustituye opcionalmente con un grupo metilo; heterociclijo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente de alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilsulfonilamino C₁-C₃, amido, amino, aminoalquilo C₁-C₃, aminosulfonilo, carboxi, ciano, halo, haloalquilo C₁-C₃, hidroxilo, -NC(NH₂)₂, nitro y -OP(O)(OH)₂;

35

indolilalquilo C₁-C₃, en donde la parte de indolilo se sustituye opcionalmente con un grupo seleccionado de alquilo C₁-C₃, carboxialquilo C₁-C₃, halo, hidroxilo y fenilo, en donde fenilo también se sustituye opcionalmente con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alcoxi C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ y halo;

40

NR^xR^y(alquilo C₁-C₇), en donde R^x y R^y se seleccionan independientemente de hidrógeno, C₂-C₄alquenoiloxicarbonilo, alquilo C₁-C₃, alquilcarbonilo C₁-C₃, cicloalquilcarbonilo C₃-C₁₄, furanilcarbonilo y fenilcarbonilo. Cuando el ligador alquilo contiene más de un carbono, puede existir un grupo NR^xR^y adicional en la cadena.

45

NR^uR^vcarbonilalquilo C₁-C₃, en donde R^u y R^v se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₃ y trifenilmetilo;

50

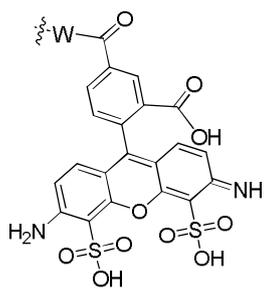
fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente de alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilsulfonilamino C₁-C₃, amido, amino, aminoalquilo C₁-C₃, aminosulfonilo, carboxi, ciano, halo, haloalquilo C₁-C₃, hidroxilo, -NC(NH₂)₂, nitro y -OP(O)(OH)₂;

fenilalquilo C₁-C₃, en donde la parte de fenilo se sustituye opcionalmente con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente de alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, alquilsulfonilamino C₁-C₃, amido, amino, aminoalquilo C₁-C₃, aminosulfonilo, carboxi, ciano, halo, haloalquilo C₁-C₃, hidroxilo, -NC(NH₂)₂, nitro y -OP(O)(OH)₂; y

50

fenoxialquilo C₁-C₃, en donde fenilo se sustituye opcionalmente con un grupo alquilo C₁-C₃.

Como se usa en el presente documento, la expresión "alexa-5-SDP" se refiere a



en donde W es O o NH.

- 5 La expresión "alquenilo C₂-C₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de cadena lineal o ramificada de dos a cuatro átomos de carbono que contiene al menos un enlace doble de carbono-carbono.

La expresión "alquenilo C₂-C₇", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de cadena lineal o ramificada de dos a siete átomos de carbono que contiene al menos un enlace doble de carbono-carbono.

- 10 La expresión "alqueniloxi C₂-C₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquenilo C₂-C₄ unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

- 15 La expresión "alcoxi C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₃ unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

La expresión "alcoxi C₁-C₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₄ unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

- 20 La expresión "alcoxi C₁-C₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₆ unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

- 25 La expresión "alcoxi C₁-C₃alquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi C₁-C₃ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. La expresión "alcoxicarbonilo C₁-C₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxi C₁-C₆ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo carbonilo.

- 30 La expresión "alcoxicarbonil C₁-C₆alquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alcoxicarbonilo C₁-C₆ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

La expresión "alquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo derivado de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a tres átomos de carbono.

- 35 La expresión "alquilo C₁-C₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo derivado de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a cuatro átomos de carbono.

La expresión "alquilo C₁-C₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo derivado de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a seis átomos de carbono.

- 40 La expresión "alquilcarbonilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₃ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo carbonilo.

La expresión "alquilsulfanilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₃ unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de azufre.

- 45 La expresión "alquilsulfanil C₁-C₃alquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilsulfanilo C₁-C₃ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

- 50 La expresión "C₁-C₃alquilsulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₃ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo sulfonilo.

La expresión "alquilsulfonilamino C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo C₁-C₃alquilsulfonilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo amino.

- 55 La expresión "amido", como se usa en el presente documento, se refiere a -C(O)NH₂.

La expresión "amidoalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo amido unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

Como se usa en el presente documento, el término "amino" se refiere a -NH₂.

5 La expresión "aminoalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo amino unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

10 La expresión "aminosulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo amino unido a la porción molecular de origen a través de un grupo sulfonilo.

La expresión "azaindolilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo azaindolio unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo azaindolio se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

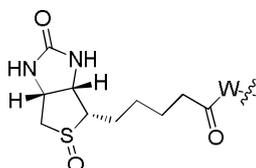
15 La expresión "benzotiazolilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo benzotiazolilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo benzotiazolilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

20 La expresión "benzotienilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo benzotienilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo benzotienilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

25 El término "benciloxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo bencilo unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

La expresión "benciloxialquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo benciloxi unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

30 Como se usa en el presente documento, el término "biotina" se refiere a:



en donde W es O o NH.

35 La expresión "bifenilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo bifenilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo bifenilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

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

El término "carboxi", como se usa en el presente documento, se refiere a -CO₂H.

45 La expresión "carboxialquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo carboxi unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

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

50 La expresión "cicloalquilo C₃-C₁₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de anillos de hidrocarburo monocíclico, bicíclico o tricíclico saturado que tiene de 3 a 14 átomos de carbono y cero heteroátomos. Los anillos bicíclicos y tricíclicos pueden estar condensados, espirocíclicos o en puente. Los ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, entre otros, ciclopropilo, ciclopentilo, biciclo[3,1.1]heptilo y adamantilo.

55 La expresión "cicloalquil C₃-C₁₄alquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo cicloalquilo C₃-C₁₄ unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

La expresión "cicloalquilcarbonilo C₃-C₁₄", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo C₃-C₁₄ cicloalquilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo carbonilo.

60 La expresión "furanilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo furanilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo furanilo se puede unir a la porción alquilo a

través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

El término "furanilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo furanilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo carbonilo.

5

Los términos "halo" y "halógeno", como se usan en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br o I.

La expresión "haloalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁-C₃ sustituido con uno, dos o tres átomos de halógeno.

10

El término "halometilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo metilo sustituido con uno, dos o tres átomos de halógeno.

15

Como se usa en el presente documento, el término "heterociclilo" se refiere a un anillo de cinco, seis o siete miembros que contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno y azufre. El anillo de cinco miembros tiene de cero a dos enlaces dobles, y los anillos de seis y siete miembros tienen de cero a tres enlaces dobles. El término "heterociclilo" también incluye grupos bicíclicos, en donde el anillo de heterociclilo está fusionado a un anillo carbocíclico aromático o no aromático de cuatro a seis miembros o a otro grupo heterociclilo monocíclico. Los grupos heterociclilo de la presente divulgación se unen a la porción molecular de origen mediante un átomo de carbono en el grupo. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, entre otros, benzotienilo, furilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, oxazolilo, piperazinilo, piperidinilo, pirazolilo, piridinilo, pirrolidinilo, pirrolopiridinilo, pirrolilo, tiazolilo, tienilo y tiomorfolinilo.

20

El término "hidroxi", como se usa en el presente documento, se refiere a -OH.

25

La expresión "imidazolilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo imidazolilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo imidazolilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

30

La expresión "indolilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo indolilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo indolilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

35

La expresión "naftilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo naftilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo naftilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

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

40

El término "NR^xR^y", como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^a y R^b, que están unidos a la porción molecular de origen a través de un átomo de nitrógeno. R^a y R^b se seleccionan independientemente de hidrógeno, C₂-C₄alqueniloxicarbonilo, alquilcarbonilo C₁-C₃, cicloalquilcarbonilo C₃-C₁₄, furanilcarbonilo y fenilcarbonilo.

45

La expresión "NR^xR^yalquilo (C₁-C₃)", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo NR^xR^y unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

50

El término "NR^uR^v", como se usa en el presente documento, se refiere a dos grupos, R^u y R^v, que están unidos a la porción molecular de origen a través de un átomo de nitrógeno. R^u y R^v se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₃ y trifenilmetilo.

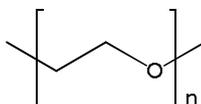
El término "NR^uR^vcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo NR^uR^v unido a la porción molecular de origen mediante un grupo carbonilo.

55

La expresión "NR^uR^vcarbonilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo NR^uR^vcarbonilo unido a la porción molecular de origen mediante un grupo alquilo C₁-C₃.

El término "PEG", como se usa en el presente documento, se refiere a polietilenglicol, un polímero de óxido de etileno representado por la fórmula

60



en donde n es de 1 a 57. Cabe destacar que el grupo PEG se puede unir a la porción molecular de origen mediante

el átomo de oxígeno o el átomo de carbono.

El término "fenoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo unido a la porción molecular de origen a través de un átomo de oxígeno.

5 La expresión "fenoxialquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenoxi unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

10 La expresión "fenilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃.

La expresión "fenilcarbonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo fenilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo carbonilo.

15 La expresión "piridinilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo piridinilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo piridinilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

El término "sulfanilo", como se usa en el presente documento, se refiere a -S-.

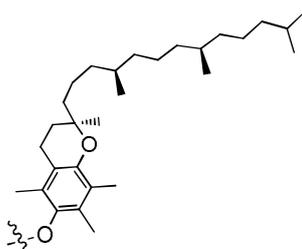
20 El término "sulfonilo", como se usa en el presente documento, se refiere a -SO₂-.

La expresión "tiazolilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo tiazolilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo tiazolilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

La expresión "tienilalquilo C₁-C₃", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo tienilo unido a la porción molecular de origen a través de un grupo alquilo C₁-C₃. El grupo tienilo se puede unir a la porción alquilo a través de cualquier átomo sustituible en el grupo.

30 El término "tratar" se refiere a: (i) prevenir una enfermedad, un trastorno o una afección en un paciente que puede tener predisposición a la enfermedad, el trastorno y/o la afección, pero que aún no se le ha diagnosticado; (ii) inhibir la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, detener su desarrollo; y (iii) aliviar la enfermedad, el trastorno o la afección, es decir, causar la regresión de la enfermedad, del trastorno y/o de la afección, y/o los síntomas asociados a la enfermedad, el trastorno y/o la afección.

Como se usa en el presente documento, el término "vitamina E" se refiere a:



40 La fijación de los péptidos macrocíclicos a PD-L1 se puede medir, por ejemplo, mediante métodos, tales como fluorescencia homogénea de resolución temporal (HTRF), resonancia de plasmones superficiales (SPR), calorimetría de titulación isotérmica (ITC), espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR) y similares. Además, la fijación de los péptidos macrocíclicos a PD-L1 expresado en la superficie de las células se puede medir como se describió en

45 el presente documento, en ensayos de fijación celular.

La administración de un agente terapéutico descrito en el presente documento incluye, entre otros, la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de agente terapéutico. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere, entre otros, a una cantidad de un agente terapéutico para tratar o

50 prevenir una afección que se puede tratar mediante la administración de una composición de los inhibidores de fijación a PD-1/PD-L1 descritos en el presente documento. Dicha cantidad es la cantidad suficiente para demostrar un efecto detectable terapéutico, preventivo o que produce una mejora. El efecto puede incluir, por ejemplo, entre otros, el tratamiento o la prevención de las afecciones enumeradas en el presente documento. La cantidad eficaz precisa para un sujeto dependerá del tamaño y de la salud del sujeto, la naturaleza y el alcance de la afección que se trata, las

55 recomendaciones del médico y el tratamiento o la combinación de tratamientos seleccionada para la administración. Por lo tanto, no es útil especificar una cantidad eficaz exacta por adelantado.

- En otro aspecto, la divulgación se refiere a métodos para inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto usando los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación. Como se demuestra en el presente documento, los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación son capaces de fijarse a PD-L1, alterar la interacción entre PD-L1 y PD-1, competir con la fijación de PD-L1 a anticuerpos monoclonales anti-PD-1 que se sabe bloquean la interacción con PD-1, mejorar la secreción de IFN γ por parte de linfocitos T específicos de CMV, y mejorar la secreción de IFN γ por parte de linfocitos T específicos de VIH. En consecuencia, los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación son útiles para modificar una respuesta inmunitaria, tratar enfermedades, tales como el cáncer o enfermedades infecciosas, estimular una respuesta autoinmunitaria protectora o estimular respuestas inmunitarias específicas de antígenos (por ejemplo, mediante la coadministración de péptidos bloqueadores de PD-L1 con un antígeno de interés).
- A fin de comprender mejor la presente divulgación, primero se definen ciertos términos. Las definiciones adicionales se indican a lo largo de la descripción detallada.
- Las expresiones "ligando de muerte programada 1", "ligando de muerte celular programada 1", "Proteína PD-L1", "PD-L1", "PDL1", "PDCDL1", "hPD-L1", "hPD-L1", "CD274" y "B7-H1" se usan indistintamente, e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de PD-L1 humano, y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-L1. La secuencia de PD-L1 completa se puede encontrar en GENBANK®, n.º de acceso NP_054862.
- Las expresiones "muerte programada 1", "muerte celular programada 1", "proteína PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1" y "hPD-1" se usan indistintamente e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de PD-1 humano, y análogos que tienen al menos un epítipo común con PD-1. La secuencia de PD-1 completa se puede encontrar en GENBANK®, n.º de acceso U64863.
- Las expresiones "antígeno asociado al linfocito T citotóxico-4", "CTLA-4", "CTLA4", "antígeno CTLA-4" y "CD152" (véase, por ejemplo, Murata, *Am. J. Pathol.*, 155:453-460 (1999)) se usan indistintamente e incluyen variantes, isoformas, homólogos de especies de CTLA-4 humano y análogos que tienen al menos un epítipo común con CTLA-4 (véase, por ejemplo, Balzano, *Int. J. Cancer Suppl.*, 7:28-32 (1992)). La secuencia de ácidos nucleicos CTLA-4 completa se puede encontrar en GENBANK®, n.º de acceso L15006.
- La expresión "respuesta inmunitaria" se refiere a la acción, por ejemplo, de linfocitos, células presentadoras de antígenos, células fagocíticas, granulocitos y macromoléculas solubles producidas por las células anteriores o el hígado (incluso péptidos macrocíclicos, citocinas y complemento) que da como resultado el daño selectivo, la destrucción o la eliminación del cuerpo humano de patógenos invasores, células o tejidos infectados por patógenos, células cancerosas o, en el caso de autoinmunidad o inflamación patológica, células o tejidos humanos normales.
- Un "evento adverso" (AE), como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier signo (incluido un hallazgo anormal en el laboratorio), síntoma o enfermedad desfavorable o, en general, involuntario, incluso no deseable, asociado al uso de un tratamiento médico. Por ejemplo, un evento adverso puede estar asociado a la activación del sistema inmunitario o a la expansión de las células del sistema inmunitario (por ejemplo, linfocitos T) en respuesta a un tratamiento. Un tratamiento médico puede tener uno o más AE asociados, y cada AE puede tener el mismo nivel de gravedad, o no. La referencia a los métodos capaces de "alterar eventos adversos" implica un régimen de tratamiento que disminuye la incidencia y/o la gravedad de uno o más AE asociados al uso de un régimen de tratamiento diferente.
- Como se usa en el presente documento, "enfermedad hiperproliferativa" se refiere a afecciones en donde el crecimiento celular supera niveles normales. Por ejemplo, las enfermedades o los trastornos hiperproliferativos incluyen el cáncer (por ejemplo, cáncer de esófago, cáncer de colon, cáncer biliar) y enfermedades que no son malignas (por ejemplo, aterosclerosis, hiperplasia benigna e hipertrofia prostática benigna).
- Como se usan en el presente documento, "alrededor de" o "que comprende esencialmente" significan, dentro de un margen de error aceptable del valor particular determinado por una persona del oficio de nivel medio, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, es decir, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, "alrededor de" o "que comprende esencialmente" puede significar dentro de uno o más de una desviación estándar de acuerdo con la práctica en el estado de la técnica. De manera alternativa, "alrededor de" o "que comprende esencialmente" puede referirse a un rango de hasta 20 %. Además, en particular, con respecto a sistemas o procesos biológicos, los términos pueden referirse a hasta un orden de magnitud o hasta 5 veces un valor. Cuando se brindan valores particulares en la solicitud y las reivindicaciones, a menos que se indique lo contrario, se supone que el significado de "alrededor de" o "que comprende esencialmente" se encuentra dentro de un margen de error aceptable para dicho valor particular.
- Como se describe en el presente documento, cualquier rango de concentración, rango de porcentaje, rango de proporción o rango de entero incluye el valor de cualquier entero dentro del rango mencionado y, cuando sea adecuado, sus fracciones (tal como un décimo o un centésimo de un entero), a menos que se indique lo contrario.
- Ensayos de competencia

La presente divulgación también se refiere a péptidos macrocíclicos que son capaces de competir con la fijación de un anticuerpo anti-PD-L1 de referencia (MDX-1105) en al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 30 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 90 % y al menos alrededor de 100 %. Dichos péptidos macrocíclicos pueden compartir homología estructural con uno o más péptidos macrocíclicos descritos en el presente documento, que incluyen las formas mutantes, de sustitución conservadora, de sustitución funcional y de eliminación, siempre que se fijen específicamente a PD-L1. Por ejemplo, si un péptido macrocíclico se fija considerablemente a la misma región de PD-L1 que un anticuerpo anti-PD-L1 de referencia, el péptido macrocíclico se debe fijar a un epítipo de PD-L1 que al menos se superpone con el epítipo PD-L1 al que se fija el anticuerpo monoclonal anti-PD-L1. La región de superposición puede variar de un residuo de aminoácido a varios cientos de residuos de aminoácido. El péptido macrocíclico después debe competir con la fijación del anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 a PD-L1 y/o bloquearla y, de esa manera, disminuir la fijación del anticuerpo monoclonal anti-PD-L1 a PD-L1, preferentemente, en al menos alrededor de 50 % en un ensayo de competencia.

Los anticuerpos anti-PD-L1 que se pueden usar como anticuerpos de referencia para los ensayos de competencia se conocen en el estado de la técnica. Por ejemplo, se pueden usar los siguientes anticuerpos anti-PD-L1 representativos: MDX-1105 (BMS); L01X-C (Serono), L1X3 (Serono), MSB-0010718C (Serono) y PD-L1 Probody (CytomX) y los anticuerpos PD-L1 descritos en WO 2007/005874 de titularidad conjunta.

Los anticuerpos anti-PD-1 que se pueden usar como anticuerpos de referencia para los ensayos de competencia se conocen en el estado de la técnica. Por ejemplo, se pueden usar los siguientes anticuerpos anti-PD-1 representativos: nivolumab (BMS); 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 y 5F4, cada uno de los cuales se describe en la patente estadounidense de titularidad conjunta n.º 8.008.449 (BMS), MK-3475 (Merck, descrito en la patente estadounidense n.º 8.168.757) y los anticuerpos descritos en la patente estadounidense n.º 7.488.802.

Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que contiene un péptido macrocíclico o una combinación de péptidos macrocíclicos de la presente divulgación, formulados junto con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Dichas composiciones pueden incluir un péptido macrocíclico o inmunoconjugados o moléculas biespecíficas de la presente divulgación, o una combinación de estos (por ejemplo, dos o más diferentes). Por ejemplo, una composición farmacéutica de la divulgación puede comprender una combinación de péptidos macrocíclicos (o inmunoconjugados o biespecíficos) que se fijan a diferentes epítopos en el antígeno diana o que tienen actividades complementarias.

Las composiciones farmacéuticas de la divulgación también se pueden administrar en un tratamiento conjunto, es decir, combinadas con otros agentes. Por ejemplo, el tratamiento conjunto puede incluir un péptido macrocíclico combinado con al menos un agente antiinflamatorio o inmunodepresor. Los ejemplos de agentes terapéuticos que se pueden usar en el tratamiento conjunto se describen con mayor detalle más adelante en la sección de usos de los péptidos macrocíclicos de la divulgación.

Como se usa en el presente documento, un "portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico" incluye todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes demoradores de la absorción e isotónicos, y similares que son fisiológicamente compatibles. Preferentemente, el portador es adecuado para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, espinal o epidérmica (por ejemplo, por inyección o infusión). En función de la vía de administración, el compuesto activo, es decir, un péptido macrocíclico, un inmunoconjugado o una molécula biespecífica, se puede recubrir con un material para proteger el compuesto de la acción de ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivar el compuesto.

Los compuestos farmacéuticos de la divulgación pueden incluir una o más sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico. Una "sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico" o "sal terapéuticamente aceptable" se refiere a una sal que retiene la actividad biológica deseada del compuesto de origen y no produce ningún efecto toxicológico no deseado (véase, por ejemplo, Berge, S.M. et al., *J. Pharm. Sci.*, 66:1-19 (1977)). Los ejemplos de estas sales incluyen sales de adición ácida y sales de adición básica. Las sales de adición ácida incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos no tóxicos, tales como ácido clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso y similares, y también de ácidos orgánicos no tóxicos, tales como ácidos monocarboxílicos y dicarboxílicos alifáticos, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanóicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos aromáticos y alifáticos, y similares. Las sales de adición básica incluyen aquellas derivadas de metales alcalinotérreos, tales como sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, y de aminas orgánicas no tóxicas, tales como N,N'-dibenciletildiamina, N-metilglucamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, procaina y similares.

Una composición farmacéutica de la presente divulgación también puede incluir un antioxidante aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Los ejemplos de antioxidantes aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen: (1) antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y (3) agentes

quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiamintetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

5 Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de la divulgación incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de estos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La correcta fluidez se puede mantener, por ejemplo, usando materiales de recubrimiento, tales como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y usando tensioactivos.

10 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, emulgentes y dispersantes. La prevención de la presencia de microorganismos se puede garantizar mediante procedimientos de esterilización, como se indicó anteriormente, y mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares en las composiciones. 15 Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede lograr mediante la inclusión de agentes que demoran la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

20 Los portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce en el estado de la técnica. Excepto en el caso de que un medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas de la divulgación. También se pueden incorporar compuestos activos complementarios en las composiciones.

25 Normalmente, las composiciones terapéuticas deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para obtener una concentración farmacológica alta. El portador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de estos. La correcta fluidez se puede mantener, por ejemplo, usando un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y usando tensioactivos. En muchos casos, puede ser preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, 30 tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede obtener incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

40 Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar mediante la incorporación del compuesto activo en la cantidad necesaria en un disolvente adecuado con uno de los ingredientes mencionados anteriormente o una combinación de estos, según sea necesario, seguido de la microfiltración para su esterilización. En general, las dispersiones se prepararon mediante la incorporación del compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básica y los otros ingredientes requeridos que se enumeraron anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son secado al vacío y liofilización que producen un polvo del principio activo, más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada por filtración de aquel.

45 La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material portador para producir una forma de dosis única variará según el sujeto que se trate y el modo de administración particular. La cantidad de principio activo que se puede combinar con un material portador para producir una forma de dosis única será, generalmente, la cantidad de composición que produzca un efecto terapéutico. Por lo general, de un total de 100 %, esta cantidad varía de 50 alrededor de 0,01 % a alrededor de 99 % de principio activo, preferentemente, de alrededor de 0,1 % a alrededor de 70 %, con máxima preferencia, de alrededor de 1 % a alrededor de 30 % de principio activo en combinación con un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

55 Los regímenes de dosificación se ajustan para brindar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica). Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas con el tiempo, o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente, según indiquen las exigencias de la situación terapéutica. En especial, resulta ventajoso formular composiciones parenterales en forma de dosis unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. Como se usa en el presente documento, la forma de dosis unitaria se refiere a unidades físicamente diferenciadas útiles como dosis unitarias para los sujetos que se tratan; cada 60 unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el portador farmacéutico requerido. La especificación de las formas de dosis unitaria de la divulgación depende directamente de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se desea obtener, y (b) las limitaciones inherentes en el estado de la técnica de obtener dicho compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en seres humanos.

65 Para la administración del péptido macrocíclico, las dosis varían de alrededor de 0,0001 a 100 mg/kg y, con mayor

frecuencia, de 0,01 a 5 mg/kg del peso corporal del huésped. Por ejemplo, las dosis pueden ser de 0,3 mg/kg de peso corporal, 1 mg/kg de peso corporal, 3 mg/kg de peso corporal, 5 mg/kg de peso corporal o 10 mg/kg de peso corporal o dentro del rango de 1-10 mg/kg. Un régimen de tratamiento de ejemplo implica la administración una vez por día, dos veces por día, dos veces por semana, tres veces por semana, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez por mes, una vez cada tres meses o una vez cada tres a seis meses. Los regímenes de dosificación preferidos de un péptido macrocíclico de la invención incluyen 1 mg/kg de peso corporal o 3 mg/kg de peso corporal para la administración intravenosa, para el macrociclo que se administra, y se usa uno de los siguientes cronogramas de dosificación: (i) cada cuatro semanas para seis dosificaciones, después cada tres meses; (ii) cada tres semanas; (iii) 3 mg/kg de peso corporal una vez y después 1 mg/kg de peso corporal cada tres semanas.

En algunos métodos, se administran simultáneamente dos o más péptidos macrocíclicos con diferentes especificidades de fijación, en cuyo caso, la dosificación de cada compuesto administrado se encuentra dentro de los rangos indicados. Por lo general, los compuestos se administran en numerosas ocasiones. Los intervalos entre dosis únicas pueden ser, por ejemplo, semanales, mensuales, trimestrales o anuales. Los intervalos también pueden ser irregulares, según se indique mediante la medición de los niveles en sangre del péptido macrocíclico dirigido al antígeno diana en el paciente. En algunos métodos, la dosificación se ajusta para alcanzar una concentración plasmática de alrededor de 1-1000 .mu.g/ml y, en algunos métodos, alrededor de 25-300 .mu.g/ml.

De manera alternativa, el péptido macrocíclico se puede administrar como una formulación de liberación sostenida, en cuyo caso es necesaria una administración menos frecuente. La dosificación y la frecuencia de administración pueden variar en función de si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. En el caso de aplicaciones profilácticas, se administra una dosis relativamente baja a intervalos relativamente poco frecuentes durante un período prolongado. Algunos pacientes reciben el tratamiento de por vida. En el caso de aplicaciones terapéuticas, en ocasiones, es necesaria una dosis relativamente alta a intervalos relativamente cortos hasta que se reduzca o se concluya la progresión de la enfermedad y, preferentemente, hasta que el paciente muestre una mejora parcial o completa de los síntomas de la enfermedad. A partir de ahí, el paciente puede recibir un régimen profiláctico.

Los niveles de dosis reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden modificarse, a fin de obtener una cantidad del principio activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, una composición y un modo de administración particulares sin que sean tóxicos para el paciente. El nivel de dosis seleccionado dependerá de varios factores farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones particulares que se usan en la presente divulgación, o del éster, la sal o la amida de aquel, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se use, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares que se usen, la edad, el sexo, el peso, la afección, la salud en general y los antecedentes médicos del paciente que está en tratamiento y factores similares conocidos en el campo de la medicina.

Una "dosis terapéuticamente eficaz" de un péptido macrocíclico de la invención da como resultado, preferentemente, una disminución de la gravedad de los síntomas de la enfermedad, un aumento de la frecuencia y duración de los períodos asintomáticos de la enfermedad, o la prevención de disfunciones o incapacidades causadas por la enfermedad. Por ejemplo, para el tratamiento de tumores, una "dosis terapéuticamente eficaz" inhibe, preferentemente, el crecimiento celular o tumoral en al menos alrededor de 20 %, con mayor preferencia, al menos alrededor de 40 %, aun con mayor preferencia, al menos alrededor de 60 % y, aun con mayor preferencia, al menos alrededor de 80 % con respecto a los sujetos sin tratar. La capacidad de un compuesto para inhibir el crecimiento tumoral y/o el VIH se puede evaluar en un sistema de modelo animal predictivo de la eficacia en tumores humanos o de la eficacia viral. De manera alternativa, esta propiedad de una composición se puede evaluar analizando la capacidad del compuesto de producir inhibición, tal como inhibición *in vitro*, mediante ensayos conocidos por las personas del oficio de nivel medio. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto terapéutico puede disminuir el tamaño tumoral, disminuir la carga viral o mejorar los síntomas en un sujeto. Una persona del oficio de nivel medio podrá determinar dichas cantidades en función de factores, tales como el tamaño del sujeto, la gravedad de los síntomas del sujeto y la composición o vía de administración particulares seleccionadas.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un kit farmacéutico de partes que comprende un péptido macrocíclico y otro inmunomodulador, como se describe en el presente documento. El kit también puede comprender instrucciones para el uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa (por ejemplo, cáncer, como se describe en el presente documento) y/o una enfermedad viral.

Una composición de la presente divulgación se puede administrar a través de una o más vías de administración usando uno o más métodos conocidos en el estado de la técnica. La persona del oficio de nivel medio considerará que la vía de administración y/o el modo de administración variarán en función de los resultados deseados. Las vías de administración preferidas de los péptidos macrocíclicos de la divulgación incluyen las siguientes: intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras vías de administración parenterales, por ejemplo, inyección o infusión. La expresión "administración parenteral", como se usa en el presente documento, significa modos de administración diferentes de la administración entérica y tópica, por lo general, mediante inyección, e incluye, entre otras, la infusión y la inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular,

intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal, epidural e intraesternal.

De manera alternativa, un péptido macrocíclico de la divulgación se puede administrar a través de una vía no parenteral, tal como la vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, intranasal, oral, vaginal, rectal, sublingual o tópica.

Los compuestos activos se pueden preparar con portadores que protegerán el compuesto contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración microencapsulada. Se pueden usar polímeros biodegradables biocompatibles, tales como etileno vinil acetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos de los métodos para la preparación de dichas formulaciones están patentados o, en general, son conocidos por las personas del oficio de nivel medio. Véase, por ejemplo, Robinson, J.R., ed., *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, Inc., Nueva York (1978).

Las composiciones terapéuticas se pueden administrar con dispositivos médicos conocidos en el estado de la técnica. Por ejemplo, en una forma de realización preferida, una composición terapéutica de la divulgación se puede administrar con un dispositivo de inyección hipodérmica sin aguja, tal como los dispositivos descritos en las patentes estadounidenses n.º 5.399.163, 5.383.851, 5.312.335, 5.064.413, 4.941.880, 4.790.824 o 4.596.556. Los ejemplos de implantes y módulos conocidos y útiles en la presente divulgación incluyen los siguientes: la patente estadounidense n.º 4.487.603, que describe una bomba de microinfusión implantable para administrar medicamentos a una velocidad controlada; la patente estadounidense n.º 4.486.194, que describe un dispositivo terapéutico para administrar medicamentos a través de la piel; la patente estadounidense n.º 4.447.233, que describe una bomba de infusión de medicamentos para administrar medicamentos a una velocidad de infusión precisa; la patente estadounidense n.º 4.447.224, que describe un aparato de infusión implantable de flujo variable para la administración continua de fármacos; la patente estadounidense n.º 4.439.196, que describe un sistema de administración de fármacos osmótico, que tiene compartimientos multicámara; y la patente estadounidense n.º 4.475.196, que describe un sistema de administración de fármacos osmótico. Estas patentes se incorporan en el presente documento por referencia. Existen numerosos implantes, sistemas de administración y módulos conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

En ciertas formas de realización, los péptidos macrocíclicos de la divulgación se pueden formular a fin de garantizar la distribución adecuada *in vivo*. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica (BBB) excluye numerosos compuestos altamente hidrófilos. A fin de garantizar que los compuestos terapéuticos de la divulgación atraviesen la BBB (si se desea), se pueden formular, por ejemplo, en liposomas. Para obtener información sobre métodos de fabricación de liposomas, véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 4.522.811, 5.374.548 y 5.399.331. Los liposomas pueden comprender una o más porciones que se transportan selectivamente a células u órganos específicos y, por lo tanto, se mejora la administración dirigida del fármaco (véase, por ejemplo, Ranade, V.V., *J. Clin. Pharmacol.*, 29:685 (1989)). Los ejemplos de porciones de direccionamiento incluyen folato o biotina (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5,416,016 de Low et al.); manósidos (Umezawa et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 153:1038 (1988)); péptidos macrocíclicos (Bloeman, P.G. et al., *FEBS Lett.*, 357:140 (1995)); Owais, M. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 39:180 (1995)); receptor de la proteína tensioactiva A (Briscoe et al., *Am. J. Physiol.*, 1233:134 (1995)); p120 (Schreier et al., *J. Biol. Chem.*, 269:9090 (1994)); véanse también Keinanen, K. et al., *FEBS Lett.*, 346:123 (1994); Killion, J.J. et al., *Immunomethods* 4:273 (1994).

Usos y métodos de la divulgación

Los péptidos macrocíclicos, las composiciones y los métodos de la presente divulgación presentan numerosos usos *in vitro* e *in vivo* que implican, por ejemplo, la detección de PD-L1 o la mejora de la respuesta inmunitaria mediante el bloqueo de PD-L1. Por ejemplo, tales moléculas se pueden administrar a células en cultivo, *in vitro* o *ex vivo*, o a sujetos humanos, por ejemplo, *in vivo*, para mejorar la inmunidad en diversas situaciones. En consecuencia, en un aspecto, la divulgación provee un método para modificar una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende administrar al sujeto el péptido macrocíclico de la divulgación de manera que se modifique la respuesta inmunitaria en el sujeto. Preferentemente, la respuesta se mejora, se estimula o se regula en forma ascendente. En otros casos, el péptido macrocíclico puede presentar actividad terapéutica y de fijación anti-*Macaca fascicularis*, anti-ratón y/o anti-marmotas.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" incluye animales humanos y no humanos. La expresión "animales no humanos" incluye todos los vertebrados, por ejemplo, mamíferos y no mamíferos, tales como primates no humanos, ovejas, perros, gatos, vacas, caballos, gallinas, marmotas, anfibios y reptiles, aunque se prefieren los mamíferos, tales como primates no humanos, ovejas, perros, gatos, vacas y caballos. Los sujetos preferidos incluyen pacientes humanos que necesitan la mejora de una respuesta inmunitaria. Los métodos son particularmente adecuados para tratar pacientes humanos que presentan un trastorno que se puede tratar aumentando la respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T. En una forma de realización particular, los métodos son particularmente adecuados para el tratamiento de células cancerosas *in vivo*. A fin de lograr la mejora de la inmunidad específica del antígeno, los péptidos macrocíclicos se pueden administrar junto con un antígeno de interés. Cuando los péptidos macrocíclicos a PD-L1 se administran junto con otro agente, ambos pueden administrarse en cualquier orden o de

manera simultánea.

La divulgación también proporciona métodos para detectar la presencia de antígeno PD-L1 humano, de marmota, de *Macaca fascicularis* y/o ratón en una muestra, o para medir la cantidad de antígeno PD-L1 humano, de marmota, de *Macaca fascicularis* y/o de ratón, que comprenden poner en contacto la muestra, y una muestra de control, con un péptido macrocíclico de referencia, o una porción de fijación al antígeno de este, que se fija específicamente a PD-L1 humano, de marmota, de *Macaca fascicularis* y/o ratón, en condiciones que permiten la formación de un complejo entre el macrociclo y PD-L1 humano, de marmota, de *Macaca fascicularis* y/o ratón. Después se detecta la formación de un complejo, en donde la formación de un complejo diferente entre la muestra en comparación con la muestra de control indica la presencia del antígeno PD-L1 humano, de marmota, de *Macaca fascicularis* y/o ratón en la muestra.

Dada la fijación específica de los péptidos macrocíclicos de la divulgación a PD-L1, en comparación con CD28, ICOS y CTLA-4, los péptidos macrocíclicos de la divulgación se pueden usar para detectar específicamente la expresión de PD-L1 en la superficie de células y, además, se pueden usar para purificar PD-L1 mediante la purificación de inmunoadinidad.

Cáncer

El bloqueo de PD-1 por parte de los péptidos macrocíclicos puede mejorar la respuesta inmunitaria a las células cancerosas en el paciente. El ligando de PD-1, PD-L1, no se expresa en células humanas normales, pero es abundante en diversos tipos de cáncer humanos (Dong et al., *Nat. Med.*, 8:787-789 (2002)). La interacción entre PD-1 y PD-L1 da como resultado una disminución en los linfocitos que infiltran los tumores, una disminución en la proliferación mediada por el receptor de linfocitos T y una evasión inmunitaria por parte de células cancerosas (Dong et al., *J. Mol. Med.*, 81:281-287 (2003); Blank et al., *Cancer Immunol. Immunother.*, 54:307-314 (2005); Konishi et al., *Clin. Cancer Res.*, 10:5094-5100 (2004)). La inmunodepresión se puede revertir mediante la inhibición de la interacción local de PD-1 con PD-L1, y el efecto es aditivo cuando también se bloquea la interacción de PD-1 con PD-L2 (Iwai et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99:12293-12297 (2002); Brown et al., *J. Immunol.*, 170:1257-1266 (2003)). Si bien estudios anteriores mostraron que la proliferación de linfocitos T se puede recuperar inhibiendo la interacción de PD-1 con PD-L1, no se reportaron efectos directos sobre el crecimiento de tumores cancerosos *in vivo* mediante el bloqueo de la interacción PD-1/PD-L1. En un aspecto, la presente divulgación se refiere al tratamiento de un sujeto *in vivo* usando un péptido macrocíclico, de manera que se inhiba el crecimiento de los tumores cancerosos. Se puede usar un péptido macrocíclico solo para inhibir el crecimiento de tumores cancerosos. De manera alternativa, un péptido macrocíclico se puede usar junto con otros agentes inmunógenos, tratamientos contra el cáncer estándares u otros péptidos macrocíclicos, como se describe a continuación.

En consecuencia, en una forma de realización, la divulgación proporciona un péptido macrocíclico de la invención para su uso en la inhibición del crecimiento de células tumorales en un sujeto.

Los tipos de cáncer preferidos cuyo crecimiento se puede inhibir usando los péptidos macrocíclicos de la divulgación incluyen los tipos de cáncer que generalmente son sensibles a la inmunoterapia. Los ejemplos de tipos de cáncer preferidos para el tratamiento incluyen melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico), carcinoma de células renales (por ejemplo, carcinoma de células claras), cáncer de próstata (por ejemplo, adenocarcinoma de próstata resistente al tratamiento hormonal y cáncer de próstata resistente a la castración), cáncer de mama, cáncer colorrectal y cáncer pulmonar (por ejemplo, cáncer pulmonar de células no pequeñas escamosas y no escamosas). Además, la divulgación incluye tumores malignos recidivantes o resistentes al tratamiento, cuyo crecimiento puede inhibirse usando los péptidos macrocíclicos de la divulgación.

Los ejemplos de otros tipos de cáncer que se pueden tratar usando los métodos de la divulgación incluyen cáncer óseo, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, melanoma maligno cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago/cáncer gástrico, cáncer de testículo, cáncer de útero, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroidea, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de las glándulas suprarrenales, sarcoma de tejido blando, cáncer de uretra, cáncer de pene, leucemias crónicas o agudas, que incluyen leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, tumores sólidos de la infancia, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o de uretra, carcinoma de pelvis renal, neoplasia del sistema nervioso central (SNC), linfoma del SNC primario, angiogénesis tumoral, tumor del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de linfocitos T, tipos de cáncer provocados por el entorno, que incluyen los provocados por el amianto, y combinaciones de estos tipos de cáncer. La presente divulgación también es útil para el tratamiento de tipos de cáncer metastásicos, en especial, tipos de cáncer metastásicos que expresan PD-L1 (Iwai et al., *Int. Immunol.*, 17:133-144 (2005)).

De manera opcional, los péptidos macrocíclicos a PD-L1 se pueden combinar con un agente inmunógeno, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (que incluyen proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citocinas estimulantes del sistema inmunitario

(He et al., *J. Immunol.*, 173:4919-4928 (2004)). Los ejemplos de vacunas antitumorales que se pueden usar incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos MAGE, Trp-2, MART1 y/o tirosinasa, o células tumorales transfectadas para expresar la citocina GM-CSF (analizada más adelante).

- 5 En los seres humanos, algunos tumores demostraron ser inmunogénicos, tales como los melanomas. Se prevé que mediante el aumento del umbral de activación de linfocitos T a través del bloqueo de PD-L1, se activen las respuestas tumorales en el huésped.

10 Es probable que el bloqueo de PD-L1 sea más eficaz en combinación con un protocolo de vacunación. Se trazaron diversas estrategias experimentales para la vacunación contra los tumores (véanse Rosenberg, S., *Development of Cancer Vaccines*, ASCO Educational Book Spring: 60-62 (2000); Logothetis, C., *ASCO Educational Book Spring*: 300-302 (2000); Khayat, D., *ASCO Educational Book Spring*: 414-428 (2000); Foon, K., *ASCO Educational Book Spring*: 730-738 (2000); véase también Restifo, N. et al., *Cancer Vaccines*, Capítulo 61, pp. 3023-3043, in DeVita, V. et al., eds., *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, quinta edición (1997)). En una de estas estrategias, se prepara una vacuna en la que se usan células tumorales autólogas o alogénicas. Estas vacunas celulares demostraron ser más eficaces cuando las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. GM-CSF demostró ser un activador potente de la presentación de antígenos para la vacunación contra los tumores (Dranoff et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 3539-3543 (1993)).

20 El estudio de los patrones de expresión génica y de expresión génica a gran escala en diversos tumores produjo la definición de los denominados antígenos específicos de tumores (Rosenberg, S.A., *Immunity*, 10:281-287 (1999)). En varios casos, estos antígenos específicos de tumores son antígenos diferenciados que se expresan en los tumores y en la célula donde se produjo el tumor, por ejemplo, antígenos melanocitos gp100, antígenos MAGE y Trp-2. Lo que es más importante, se puede demostrar que muchos de estos antígenos son las dianas de linfocitos T específicos del tumor en el huésped. El bloqueo de PD-L1 se puede usar en combinación con un conjunto de proteínas recombinantes y/o péptidos expresados en un tumor, a fin de generar una respuesta inmunitaria a estas proteínas. En general, el sistema inmunitario considera estas proteínas como autoantígenos y, por lo tanto, son tolerantes a ellos. El antígeno tumoral también puede incluir la proteína telomerasa, que es necesaria para la síntesis de telómeros de cromosomas y que se expresa en más del 85 % de los tipos de cáncer en seres humanos y solo en una cantidad limitada de tejidos somáticos (Kim, N et al., *Science*, 266:2011-2013 (1994)). (Estos tejidos somáticos pueden protegerse del ataque inmunitario de varias maneras). El antígeno tumoral también puede ser un "neoantígeno" expresado en células cancerosas debido a las mutaciones somáticas que alteran la secuencia proteica o crean proteínas de fusión entre dos secuencias no relacionadas (es decir, bcr-abl en el cromosoma Philadelphia), o idiotipo de tumores de linfocitos B.

35 Otras vacunas antitumorales pueden incluir las proteínas de virus implicados en ciertos tipos de cáncer humano, tales como el virus del papiloma humano (HPV), el virus de la hepatitis (HBV y HCV) y el virus herpes asociado al sarcoma de Kaposi (KHSV). Otra forma de antígeno específico de tumores que se puede usar junto con el bloqueo de PD-L1 son las proteínas de choque térmico (HSP) purificadas aisladas del tejido tumoral en sí mismo. Estas proteínas de choque térmico contienen fragmentos de proteínas de las células tumorales, y estas HSP son altamente eficaces para el suministro a las células que presentan antígenos, a fin de provocar inmunidad tumoral (Suot, R. et al., *Science*, 269:1585-1588 (1995); Tamura, Y. et al., *Science*, 278:117-120 (1997)).

45 Las células dendríticas (DC) son células que presentan antígenos potentes que se pueden usar para cebar respuestas específicas del antígeno. Las DC se pueden producir *ex vivo* y se pueden cargar con varios antígenos de proteínas y péptidos, así como extractos de células tumorales (Nestle, F. et al., *Nat. Med.*, 4:328-332 (1998)). Asimismo, las DC se pueden transducir por medios genéticos para que también expresen estos antígenos tumorales. Las DC también se fusionaron directamente a las células tumorales, a fin de lograr la inmunización (Kugler, A. et al., *Nat. Med.*, 6:332-336 (2000)). Como método de vacunación, la inmunización de DC se puede combinar de manera eficaz con el bloqueo de PD-L1 para activar respuestas antitumorales más potentes.

50 El bloqueo de PD-L1 también se puede combinar con tratamientos oncológicos estándares. El bloqueo de PD-L1 se puede combinar de manera eficaz con regímenes quimioterapéuticos. En estos casos, es posible reducir la dosis del reactivo quimioterapéutico administrado (Mokyr, M. et al., *Cancer Res.*, 58:5301-5304 (1998)). Un ejemplo de tal combinación es un péptido macrocíclico en combinación con decarbazina para el tratamiento del melanoma. Otro ejemplo de tal combinación es un péptido macrocíclico en combinación con interleucina-2 (IL-2) para el tratamiento del melanoma. La razón científica del uso combinado del bloqueo de PD-L1 y la quimioterapia es que la muerte celular, que es una consecuencia de la acción citotóxica de la mayoría de los compuestos quimioterapéuticos, debería provocar el aumento de los niveles de antígenos tumorales en la vía de presentación de antígenos. Otros tratamientos conjuntos que pueden dar como resultado la sinergia con el bloqueo de PD-L1 mediante la muerte celular son la radiación, la cirugía y la privación hormonal. Cada uno de estos protocolos crea una fuente de antígeno tumoral en el huésped. Los inhibidores de la angiogénesis también se pueden combinar con el bloqueo de PD-L1. La inhibición de la angiogénesis produce la muerte de células tumorales que podrían alimentar el antígeno tumoral en las vías de presentación del antígeno del huésped.

65 También se pueden usar péptidos macrocíclicos que bloquean PD-L1 en combinación con péptidos macrocíclicos

biespecíficos que dirigen células efectoras que expresan el receptor Fc alfa o Fc gamma a células tumorales (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 5.922.845 y 5.837.243). Se pueden usar péptidos macrocíclicos biespecíficos para dirigirse a dos antígenos separados. Por ejemplo, se usaron péptidos macrocíclicos biespecíficos del receptor anti-Fc/antígeno antitumoral (por ejemplo, Her-2/neu) para dirigir los macrófagos a los sitios tumorales. Este direccionamiento puede activar de manera más eficaz las repuestas específicas tumorales. El brazo de los linfocitos T de estas respuestas se podría aumentar mediante el uso del bloqueo de PD-L1. De manera alternativa, el antígeno se puede administrar directamente a las DC usando péptidos macrocíclicos biespecíficos que se fijan al antígeno tumoral y un marcador de superficie celular específico de células dendríticas.

5
10
15

Los tumores evaden la vigilancia inmunitaria del huésped mediante una gran variedad de mecanismos. Varios de estos mecanismos se pueden debilitar mediante la inactivación de proteínas expresadas por los tumores y que son inmunodepresoras. Estos incluyen, entre otros, TGF-beta (Kehrl, J. et al., *J. Exp. Med.*, 163:1037-1050 (1986)), IL-10 (Howard, M. et al., *Immunology Today*, 13:198-200 (1992)) y el ligando Fas (Hahne, M. et al., *Science*, 274:1363-1365 (1996)). Los péptidos macrocíclicos de cada una de estas entidades se pueden usar en combinación con anti-PD-L1 para contrarrestar los efectos del agente inmunodepresor y favorecer las respuestas inmunitarias tumorales por parte del huésped.

20
25

Otros péptidos macrocíclicos que se pueden usar para activar la respuesta inmunitaria del huésped se pueden usar en combinación con anti-PD-L1. Estos incluyen moléculas en la superficie de células dendríticas, que activan la función de DC y la presentación de antígenos. Los péptidos macrocíclicos anti-CD40 permiten sustituir eficazmente la actividad de los linfocitos T colaboradores (Ridge, J. et al., *Nature*, 393:474-478 (1998)) y se pueden usar junto con anticuerpos PD-1 (Ito, N. et al., *Immunobiology*, 201(5):527-540 (2000)). Los péptidos macrocíclicos de activación que se dirigen a moléculas coestimulantes de linfocitos T, tales como CTLA-4 (por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5,811,097), OX-40 (Weinberg, A. et al., *Immunol.*, 164:2160-2169 (2000)), 4-1BB (Melero, I. et al., *Nat. Med.*, 3:682-685 (1997) e ICOS (Hutloff, A. et al., *Nature*, 397:262-266 (1999)) también pueden proporcionar mayores niveles de activación de linfocitos T.

30

El trasplante de médula ósea se usa actualmente para tratar varios tumores de origen hematopoyético. Si bien la enfermedad del injerto contra el huésped es una consecuencia de este tratamiento, se puede obtener un beneficio terapéutico de las respuestas del injerto contra el tumor. El bloqueo de PD-L1 se puede usar para aumentar la eficacia de los linfocitos T específicos de tumor injertados en el donante.

35

También hay varios protocolos de tratamiento experimental que incluyen la activación y expansión *ex vivo* de linfocitos T específicos del antígeno y la transferencia adoptiva de estas células a receptores, a fin de estimular los linfocitos T específicos del antígeno contra los tumores (Greenberg, R. et al., *Science*, 285:546-551 (1999)). Estos métodos también se pueden usar para activar las respuestas de los linfocitos T a los agentes infecciosos, tales como CMV. Se prevé que la activación *ex vivo* en presencia de péptidos macrocíclicos aumente la frecuencia y actividad de los linfocitos T transferidos de manera adoptiva.

40 Enfermedades infecciosas

Se usan otros métodos de la divulgación para tratar pacientes que estuvieron expuestos a toxinas o patógenos particulares. En consecuencia, otro aspecto de la divulgación provee un método para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un péptido macrocíclico de la presente divulgación, de modo que el sujeto reciba tratamiento para la enfermedad infecciosa.

50
55

De manera similar a su aplicación a tumores como se analizó anteriormente, el bloqueo de PD-L1 se puede usar solo, o como adyuvante, en combinación con vacunas para estimular la respuesta inmunitaria a patógenos, toxinas y autoantígenos. Los ejemplos de patógenos para los que este enfoque terapéutico puede ser particularmente útil incluyen patógenos para los que no hay en la actualidad una vacuna eficaz o patógenos para los cuales las vacunas convencionales no son totalmente eficaces. Estos incluyen, entre otros, VIH, hepatitis (A, B y C), influenza, herpes, giardia, malaria (Butler, N.S. et al., *Nature Immunology* 13, 188-195 (2012); Hafalla, J.C.R., et al. *PLOS Pathogens*; 2 de febrero de 2012)), leishmania, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*. El bloqueo de PD-L1 es particularmente útil contra infecciones establecidas por agentes, tales como el VIH, que presentan antígenos alterados durante el curso de las infecciones. Estos nuevos epítopos se reconocen como extraños al momento de la administración de PD-L1 antihumano y, por lo tanto, provocan una fuerte respuesta de los linfocitos T que no disminuye por las señales negativas a través de PD-L1.

60
65

Algunos ejemplos de virus patógenos que causan infecciones que se pueden tratar mediante los métodos de la divulgación incluyen VIH, hepatitis (A, B o C), virus del herpes (por ejemplo, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, virus de Epstein Barr), adenovirus, virus de la influenza, flavivirus, virus ECHO, rinovirus, virus de Coxsackie, coronavirus, virus respiratorio sincicial, virus de la parotiditis, rotavirus, virus del sarampión, virus de la rubeola, parvovirus, viruela vacunoide, virus de HTLV, virus del dengue, virus del papiloma, virus del molusco contagioso, poliovirus, virus de la rabia, virus de John Cunningham y encefalitis causada por arbovirus.

Algunos ejemplos de bacterias patógenas que causan infecciones que se pueden tratar mediante los métodos de la

divulgación incluyen clamidia, bacterias rickettsias, micobacterias, estafilococos, estreptococos, neumococos, meningococos y conococi, Klebsiella, próteo, Serratia, seudomonas, legionela, difteria, salmonela, bacilos, cólera, tétanos, botulismo, antrax, peste, leptospirosis y bacterias de la enfermedad de Lyme.

5 Algunos ejemplos de hongos patógenos que causan infecciones que se pueden tratar mediante los métodos de la divulgación incluyen *Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.)*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus (fumigatus, niger, etc.)*, género Mucorales (*Mucor, Absidia, Rhizopus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*.

10 Algunos ejemplos de parásitos patógenos que causen infecciones que se pueden tratar mediante los métodos de la divulgación incluyen *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* y *Nippostrongylus brasiliensis*.

15 En todos los métodos antes mencionados, el bloqueo de PD-L1 se puede combinar con otras formas de inmunoterapia, tales como el tratamiento de citocinas (por ejemplo, interferones, agentes que dirigen la actividad de VEGF o receptores de VEGF, GM-CSF, G-CSF, IL-2) o terapia de anticuerpos biespecíficos, que proporciona una presentación mejorada de antígenos tumorales (véase, por ejemplo, Holliger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993); Poljak, *Structure*, 2:1121-1123 (1994)).

20 Reacciones autoinmunitarias

Los péptidos macrocíclicos pueden provocar y ampliar las respuestas autoinmunitarias. De hecho, la inducción de respuestas antitumorales mediante el uso de vacunas de péptidos y células tumorales revela que muchas respuestas antitumorales implican reactividad autoinmunitaria (despigmentación observada en melanoma B 16 modificado por anti-CTLA-4+GM-CSF en van Elsas et al. más atrás; despigmentación en ratones vacunados con Trp-2 (Overwijk, W. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:2982-2987 (1999)); prostatitis autoinmunitaria provocada por vacunas de células tumorales TRAMP (Hurwitz, A., *supra* (2000)), vacuna de antígenos peptídicos de melanoma y vitiligo observadas en ensayos clínicos en seres humanos (Rosenberg, S.A. et al., *J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol.*, 19(1):81-84 (1996)).

Por lo tanto, es posible considerar el uso del bloqueo de anti-PD-L1 junto con varias autoproteínas, a fin de elaborar protocolos de vacunación para generar eficazmente respuestas inmunitarias contra estas autoproteínas para el tratamiento de enfermedades. Por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer implica una acumulación inadecuada del péptido A.beta. en depósitos amiloides en el cerebro; las respuestas de anticuerpos contra el amiloide permiten aclarar estos depósitos de amiloides (Schenk et al., *Nature*, 400:173-177 (1999)).

También se pueden usar como dianas otras autoproteínas, tales como IgE, para el tratamiento de la alergia y el asma, y TNF.alfa para la artritis reumatoide. Finalmente, las respuestas del anticuerpo a distintas hormonas se pueden inducir mediante el uso de los macrociclos descritos en el presente documento. Las respuestas de los anticuerpos neutralizantes a las hormonas reproductoras se pueden usar para la anticoncepción. Las respuestas de los anticuerpos neutralizantes a las hormonas y otros factores solubles necesarios para el crecimiento de tumores particulares también se pueden considerar como posibles dianas de vacunación.

45 Los métodos análogos como se describieron anteriormente para el uso de macrociclos anti-PD-L1 se pueden usar para la inducción de respuestas autoinmunitarias terapéuticas en el tratamiento de pacientes que tienen una acumulación inadecuada de otros autoantígenos, tales como depósitos de amiloide, incluidos A.beta. en la enfermedad de Alzheimer, citocinas, tales como TNF α , e IgE.

50 Vacunas

Los péptidos macrocíclicos se pueden usar para estimular respuestas inmunitarias específicas de antígenos mediante la coadministración de un macrociclo anti-PD-1 con un antígeno de interés (por ejemplo, una vacuna). En consecuencia, en otro aspecto, la divulgación provee un método para mejorar una respuesta inmunitaria a un antígeno en un sujeto, que comprende administrar al sujeto: (i) el antígeno; y (ii) un macrociclo anti-PD-1, de modo que se mejora la respuesta inmunitaria al antígeno en el sujeto. El antígeno puede ser, por ejemplo, un antígeno tumoral, un antígeno viral, un antígeno bacteriano o un antígeno de un patógeno. Los ejemplos no limitantes de esos antígenos incluyen los que se analizan en las secciones anteriores, tales como los antígenos tumorales (o vacunas contra tumores) analizados anteriormente, o los antígenos de virus, bacterias u otros patógenos descritos anteriormente.

60 Las vías de administración adecuadas de las composiciones (por ejemplo, péptidos macrocíclicos, moléculas multiespecíficas y biespecíficas, e inmunocnjugados) de la divulgación *in vivo* e *in vitro* son conocidas en el estado de la técnica, y las pueden seleccionar las personas del oficio de nivel medio. Por ejemplo, las composiciones pueden administrarse mediante inyección (por ejemplo, intravenosa o subcutánea). Las dosis adecuadas de las moléculas usadas dependerán de la edad y el peso del sujeto y de la concentración y/o la formulación de la composición.

65

Como se describió anteriormente, los péptidos macrocíclicos de la divulgación se pueden coadministrar con uno o más agentes terapéuticos, por ejemplo, un agente citotóxico, un agente radiotóxico o un agente inmunodepresor. El péptido se puede fijar al agente (como un inmunocomplejo) o se puede administrar de manera separada del agente. En el último caso (administración por separado), el péptido se puede administrar antes o después del agente, o de manera simultánea con este, o se puede coadministrar con otros tratamientos conocidos, por ejemplo, un tratamiento contra el cáncer, por ejemplo, radiación. Los agentes terapéuticos incluyen, entre otros, agentes antineoplásicos, como doxorubicina (adriamicina), cisplatino, sulfato de bleomicina, carmustina, clorambucil, decarbazina y ciclofosfamida hidroxilada que, por sí solos, son eficaces únicamente a niveles que son tóxicos o subtóxicos para un paciente. El cisplatino se administra de manera intravenosa en dosis de 100 mg una vez cada cuatro semanas, y la adriamicina se administra de manera intravenosa en una dosis de 60-75 mg/ml una vez cada 21 días. La coadministración de los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación con agentes quimioterapéuticos proporciona dos agentes antineoplásicos que funcionan mediante diferentes mecanismos que producen un efecto citotóxico en las células tumorales humanas. La coadministración puede solucionar problemas debidos al desarrollo de resistencia a los fármacos o a un cambio en la antigenicidad de las células tumorales, lo cual las volvería no reactivas con los péptidos.

Dentro del alcance de la presente divulgación también se encuentran kits que comprenden las composiciones de la divulgación (por ejemplo, péptidos macrocíclicos, moléculas biespecíficas o multiespecíficas, o inmunoconjugados) e instrucciones de uso. El kit también puede contener al menos un reactivo adicional, o uno o más péptidos macrocíclicos adicionales de la divulgación (por ejemplo, un anticuerpo humano que tiene una actividad complementaria que se fija a un epítipo en el antígeno PD-L1 diferente del macrociclo). En general, los kits incluyen una etiqueta que indica el uso previsto del contenido del kit. El término "etiqueta" incluye cualquier leyenda o material grabado suministrado sobre el kit o junto con él, o que acompaña de otro modo al kit.

Tratamiento conjunto

La combinación de los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación con otro antagonista de PD-L1 y/u otro inmunomodulador es útil para la mejora de una respuesta inmunitaria contra una enfermedad hiperproliferativa. Por ejemplo, tales moléculas se pueden administrar a células en cultivo, *in vitro* o *ex vivo*, o a sujetos humanos, por ejemplo, *in vivo*, para mejorar la inmunidad en diversas situaciones. En consecuencia, en un aspecto, la divulgación provee un método para modificar una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un péptido macrocíclico de la divulgación de manera que se modifique la respuesta inmunitaria en el sujeto. Preferentemente, la respuesta se mejora, se estimula o se regula en forma ascendente. En otra forma de realización, la presente divulgación proporciona un método para alterar eventos adversos asociados al tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa con un agente terapéutico inmunostimulador, que comprende administrar un péptido macrocíclico de la presente divulgación y una dosis subterapéutica de otro inmunomodulador a un sujeto.

El bloqueo de PD-L1 por parte de los péptidos macrocíclicos puede mejorar la respuesta inmunitaria a las células cancerosas en el paciente. Los tipos de cáncer cuyo crecimiento se puede inhibir usando los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación incluyen los tipos de cáncer que responden a la inmunoterapia. Los ejemplos representativos de tipos de cáncer para el tratamiento con el tratamiento conjunto de la presente divulgación incluyen melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico), cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de colon y cáncer de pulmón. Los ejemplos de otros tipos de cáncer que se pueden tratar usando los métodos de la presente divulgación incluyen cáncer óseo, cáncer de páncreas, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, melanoma maligno cutáneo o intraocular, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de testículo, cáncer de útero, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de las glándulas suprarrenales, sarcoma de tejido blando, cáncer de uretra, cáncer de pene, leucemias crónicas o agudas, que incluyen leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, tumores sólidos de la infancia, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o de uretra, carcinoma de pelvis renal, neoplasia del sistema nervioso central (SNC), linfoma del SNC primario, angiogénesis tumoral, tumor del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de linfocitos T, tipos de cáncer provocados por el entorno, que incluyen los provocados por el amianto, y combinaciones de estos tipos de cáncer. La presente divulgación también es útil para el tratamiento de tipos de cáncer metastásicos.

En ciertas formas de realización, la combinación de agentes terapéuticos que contienen al menos un péptido macrocíclico analizado en el presente documento se puede administrar de manera simultánea como una sola composición en un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico, o de manera simultánea como composiciones separadas, en donde cada agente se puede administrar de manera secuencial. Por ejemplo, un segundo inmunomodulador y un péptido macrocíclico de la presente divulgación se pueden administrar secuencialmente, por ejemplo, en primer lugar, se administra el segundo inmunomodulador y, en segundo lugar, se administra el péptido macrocíclico, o el péptido macrocíclico se administra en primer lugar y el segundo inmunomodulador en segundo lugar. Asimismo, si se administra en forma secuencial más de una dosis del tratamiento conjunto, el orden de la administración secuencial se puede invertir o mantener en el mismo orden en cada punto temporal de administración, las administraciones secuenciales se pueden combinar con administraciones simultáneas,

o cualquier combinación de estas. Por ejemplo, la primera administración de un segundo inmunomodulador y el péptido macrocíclico puede ser simultánea; la segunda administración puede ser secuencial, con el segundo inmunomodulador en primer lugar y el péptido macrocíclico en segundo lugar; y la tercera administración puede ser secuencial con el péptido macrocíclico en primer lugar y el segundo inmunomodulador en segundo lugar, etc. Otro esquema de dosificación representativo puede implicar una primera administración que sea secuencial con el péptido macrocíclico en primer lugar y el segundo inmunomodulador en segundo lugar, y las administraciones posteriores pueden ser simultáneas.

De manera opcional, la combinación del péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador se puede combinar a su vez con un agente inmunógeno, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (que incluyen proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citocinas estimulantes del sistema inmunitario (He et al., *J. Immunol.*, 173:4919-4928 (2004)). Los ejemplos de vacunas antitumorales que se pueden usar incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos MAGE, Trp-2, MART1 y/o tirosinasa, o células tumorales transfectadas para expresar la citocina GM-CSF (analizada más adelante).

Un péptido macrocíclico PD-L1 y un segundo inmunomodulador combinados se pueden combinar, a su vez, con un protocolo de vacunación. Se trazaron diversas estrategias experimentales para la vacunación contra los tumores (véanse Rosenberg, S., *Development of Cancer Vaccines*, ASCO Educational Book Spring: 60-62 (2000); Logothetis, C., *ASCO Educational Book Spring*: 300-302 (2000); Khayat, D., *ASCO Educational Book Spring*: 414-428 (2000); Foon, K., *ASCO Educational Book Spring*: 730-738 (2000); véase también Restifo et al., *Cancer Vaccines*, Capítulo 61, pp. 3023-3043 in DeVita et al., eds., *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, quinta edición (1997)). En una de estas estrategias, se prepara una vacuna en la que se usan células tumorales autólogas o alogénicas. Estas vacunas celulares demostraron ser más eficaces cuando las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. GM-CSF demostró ser un activador potente de la presentación de antígenos para la vacunación contra los tumores (Dranoff et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:3539-3543 (1993)).

El estudio de los patrones de expresión génica y de expresión génica a gran escala en diversos tumores produjo la definición de los denominados antígenos específicos de tumores (Rosenberg, *Immunity*, 10:281-287 (1999)). En varios casos, estos antígenos específicos de tumores son antígenos de diferenciación que se expresan en los tumores y en la célula donde se produjo el tumor, por ejemplo, antígenos melanocitos gp100, antígenos MAGE y Trp-2. Lo que es más importante, se puede demostrar que muchos de estos antígenos son las dianas de linfocitos T específicos del tumor en el huésped. En ciertas formas de realización, un péptido macrocíclico PD-L1 y un segundo inmunomodulador combinados se pueden usar junto con un conjunto de proteínas y/o péptidos recombinantes expresados en un tumor, a fin de generar una respuesta inmunitaria a estas proteínas. En general, el sistema inmunitario considera estas proteínas como autoantígenos y, por lo tanto, son tolerantes a ellos. El antígeno tumoral también puede incluir la proteína telomerasa, que es necesaria para la síntesis de telómeros de cromosomas y que se expresa en más del 85 % de los tipos de cáncer en seres humanos y solo en una cantidad limitada de tejidos somáticos (Kim et al., *Science*, 266:2011-2013 (1994)). (Estos tejidos somáticos pueden protegerse del ataque inmunitario de varias maneras). El antígeno tumoral también puede ser un "neoantígeno" expresado en células cancerosas debido a las mutaciones somáticas que alteran la secuencia proteica o crean proteínas de fusión entre dos secuencias no relacionadas (es decir, bcr-abl en el cromosoma Philadelphia), o idioma de tumores de linfocitos B.

Otras vacunas antitumorales pueden incluir las proteínas de virus implicados en ciertos tipos de cáncer humano, tales como el virus del papiloma humano (HPV), el virus de la hepatitis (HBV y HCV) y el virus herpes asociado al sarcoma de Kaposi (KHSV). Otra forma de antígeno específico de tumores que se puede usar junto con el bloqueo del péptido macrocíclico PD-L1 son las proteínas de choque térmico (HSP) purificadas aisladas del tejido tumoral en sí mismo. Estas proteínas de choque térmico contienen fragmentos de proteínas de las células tumorales, y estas HSP son altamente eficaces para el suministro a las células que presentan antígenos, a fin de provocar inmunidad tumoral (Suot et al., *Science*, 269:1585-1588 (1995); Tamura et al., *Science*, 278:117-120 (1997)).

Las células dendríticas (DC) son células que presentan antígenos potentes que se pueden usar para cebar respuestas específicas del antígeno. Las DC se pueden producir *ex vivo* y se pueden cargar con varios antígenos de proteínas y péptidos, así como extractos de células tumorales (Nestle et al., *Nat. Med.*, 4:328-332 (1998)). Asimismo, las DC se pueden transducir por medios genéticos para que también expresen estos antígenos tumorales. Las DC también se fusionaron directamente a las células tumorales, a fin de lograr la inmunización (Kugler et al., *Nat. Med.*, 6:332-336 (2000)). Como método de vacunación, la inmunización de DC se puede combinar eficazmente con el péptido macrocíclico anti-PD-L1 y un segundo inmunomodulador combinados, a fin de activar respuestas antitumorales más potentes.

Un péptido macrocíclico anti-PD-L1 y un inmunomodulador adicional combinados también se pueden combinar con tratamientos oncológicos estándares. Por ejemplo, una combinación de un péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador se puede combinar eficazmente con regímenes quimioterapéuticos. En estos casos, como se observa en la combinación de un péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador, es posible reducir la dosis de otro reactivo quimioterapéutico administrado con la combinación de la presente divulgación (Mokyr et al., *Cancer Res.*, 58:5301-5304 (1998)). Un ejemplo es la combinación de un péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador a

su vez combinados con decarbazina para el tratamiento del melanoma. Otro ejemplo es la combinación de un péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador a su vez combinados con interleucina-2 (IL-2) para el tratamiento del melanoma. Las razones científicas del uso combinado del péptido macrocíclico PD-L1 y otro inmunomodulador con la quimioterapia consisten en que la muerte celular, que es una consecuencia de la acción citotóxica de la mayoría de los compuestos quimioterapéuticos, debería provocar el aumento de los niveles de antígenos tumorales en la vía de presentación de antígenos. Otros tratamientos conjuntos que pueden ocasionar sinergia con un péptido macrocíclico anti-PD-L1 y un inmunomodulador adicional combinados mediante la muerte celular incluyen radiación, cirugía o privación hormonal. Cada uno de estos protocolos crea una fuente de antígeno tumoral en el huésped. Los inhibidores de la angiogenia también se pueden combinar con PD-L1 y un segundo inmunomodulador combinados. La inhibición de la angiogénesis provoca la muerte de las células tumorales, lo cual también puede ser una fuente de antígenos tumorales que se alimentan en las vías de presentación de antígenos del huésped.

También se puede usar una combinación de PD-L1 y otro inmunomodulador en combinación con péptidos macrocíclicos biespecíficos que dirigen las células efectoras que expresan el receptor de Fc.alfa. o Fc.gamma. a las células tumorales (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 5,922,845 y 5,837,243). Se pueden usar péptidos macrocíclicos biespecíficos para dirigirse a dos antígenos separados. Por ejemplo, se usaron péptidos macrocíclicos biespecíficos del receptor anti-Fc/antígeno antitumoral (por ejemplo, Her-2/neu) para dirigir los macrófagos a los sitios tumorales. Este direccionamiento puede activar de manera más eficaz las repuestas específicas tumorales. El grupo de linfocitos T de estas repuestas se podría aumentar mediante el uso de PD-L1 y un segundo inmunomodulador combinados. De manera alternativa, el antígeno se puede administrar directamente a las DC usando péptidos macrocíclicos biespecíficos que se fijan al antígeno tumoral y un marcador de superficie celular específico de células dendríticas.

En otro ejemplo, se puede usar una combinación de un péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador junto con agentes macrocíclicos antineoplásicos, tales como RITUXAN® (rituximab), HERCEPTIN® (trastuzumab), BEXXAR® (tositumomab), ZEVALIN® (ibritumomab), CAMPATH® (alemtuzumab), Lymphocide (eptuzumab), AVASTIN® (bevacizumab), TARCEVA® (erlotinib) y similares. A modo de ejemplo y sin pretender limitarse a ninguna teoría, el tratamiento con un anticuerpo antineoplásico o un anticuerpo antineoplásico conjugado con una toxina puede provocar la muerte de células cancerosas (por ejemplo, células tumorales) que podrían potenciar una respuesta inmunitaria mediada por la diana del segundo inmunomodulador o PD-L1. En una forma de realización de ejemplo, un tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa (por ejemplo, un tumor canceroso) puede incluir un anticuerpo antineoplásico en combinación con un péptido macrocíclico y un segundo inmunomodulador, de manera simultánea o secuencial, o cualquier combinación de estas, lo cual puede potenciar una respuesta inmunitaria antitumoral por parte del huésped.

Los tumores evaden la vigilancia inmunitaria del huésped mediante una gran variedad de mecanismos. Varios de estos mecanismos pueden debilitarse mediante la inactivación de las proteínas expresadas por los tumores y que son inmunodepresoras. Estas incluyen, entre otros, TGF-.beta. (Kehrl, J. et al., *J. Exp. Med.*, 163:1037-1050 (1986)), IL-10 (Howard, M. et al., *Immunology Today*, 13:198-200 (1992)) y el ligando Fas (Hahne, M. et al., *Science*, 274:1363-1365 (1996)). En otro ejemplo, los anticuerpos dirigidos a cada una de estas entidades también se pueden combinar con un péptido macrocíclico y otro inmunomodulador para contrarrestar los efectos de los agentes inmunodepresores y favorecer las repuestas inmunitarias antitumorales por parte del huésped.

Otros agentes que se pueden usar para activar la respuesta inmunitaria del huésped también se pueden usar en combinación con un péptido macrocíclico de la presente divulgación. Estos incluyen moléculas en la superficie de células dendríticas, que activan la función de DC y la presentación de antígenos. Los péptidos macrocíclicos anti-CD40 son capaces de sustituir eficazmente la actividad de los linfocitos T colaboradores (Ridge, J. et al., *Nature*, 393:474-478 (1998)) y se pueden usar junto con los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación, solos o combinados con una combinación de anti-CTLA-4 (Ito, N. et al., *Immunobiology*, 201(5):527-540 (2000)). Los péptidos macrocíclicos de activación que se dirigen a las moléculas coestimulantes de linfocitos T, tales como OX-40 (Weinberg, A. et al., *Immunol.*, 164:2160-2169 (2000)), 4-1BB (Melero, I. et al., *Nat. Med.*, 3:682-685 (1997)) e ICOS (Hutloff, A. et al., *Nature*, 397:262-266 (1999)) también pueden proporcionar mayores niveles de activación de los linfocitos T.

El trasplante de médula ósea se usa actualmente para tratar varios tumores de origen hematopoyético. Si bien la enfermedad del injerto contra el huésped es una consecuencia de este tratamiento, se puede obtener un beneficio terapéutico de las repuestas del injerto contra el tumor. Se puede usar un péptido macrocíclico de la presente divulgación, ya sea solo o en combinación con otro inmunomodulador, para aumentar la eficacia de los linfocitos T específicos de tumores injertados en el donante.

También hay varios protocolos de tratamiento experimental que incluyen la activación y expansión *ex vivo* de linfocitos T específicos del antígeno y la transferencia adoptiva de estas células a receptores, a fin de estimular los linfocitos T específicos del antígeno contra los tumores (Greenberg, R. et al., *Science*, 285:546-551 (1999)). Estos métodos también se pueden usar para activar las repuestas de los linfocitos T a los agentes infecciosos, tales como CMV. Se puede esperar que la activación *ex vivo* en presencia de un péptido macrocíclico de la presente divulgación, ya sea solo o en combinación con otro inmunomodulador, aumente la frecuencia y la actividad de los linfocitos T transferidos de manera adoptiva.

En ciertas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para alterar un evento adverso asociado al tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa con un agente inmunoestimulador, que comprende administrar a un sujeto un péptido macrocíclico de la presente divulgación en combinación con una dosis subterapéutica de otro inmunomodulador. Por ejemplo, los métodos de la presente divulgación proveen un método para reducir la incidencia de diarrea o colitis inducida por anticuerpos terapéuticos inmunoestimuladores mediante la administración de un esteroide no absorbible al paciente. Debido a que cualquier paciente que reciba un anticuerpo terapéutico inmunoestimulador se encuentra en riesgo de desarrollar colitis o diarrea inducidas por dicho tratamiento, la totalidad de esta población de pacientes es adecuada para la terapia de acuerdo con los métodos de la presente divulgación. Si bien se administraron esteroides para tratar la enfermedad intestinal inflamatoria (IBD) y prevenir exacerbaciones de IBD, no se usaron para prevenir (reducir la incidencia de) IBD en pacientes que no recibieron un diagnóstico de IBD. Los efectos secundarios significativos asociados a los esteroides, incluso los esteroides no absorbibles, desalentaron el uso profiláctico.

En otras formas de realización, un péptido macrocíclico de la presente divulgación, ya sea solo o en combinación con otro inmunomodulador, también se puede combinar con el uso de cualquier esteroide no absorbible. Como se usa en el presente documento, un "esteroide no absorbible" es un glucocorticoide que muestra un metabolismo amplio en la primera pasada, de modo que después del metabolismo en el hígado, la biodisponibilidad del esteroide sea baja, es decir, de menos de alrededor de 20 %. En una forma de realización de la divulgación, el esteroide no absorbible es budesónida. La budesónida es un glucocorticoesteroide de acción local, que es metabolizado en forma amplia, principalmente por el hígado, después de la administración oral. ENTOCORT® EC (Astra-Zeneca) es una formulación oral de budesónida dependiente del pH y del tiempo, desarrollada para optimizar la administración del fármaco al íleo y en el colon. ENTOCORT® EC está aprobado en los EE. UU. para el tratamiento de la enfermedad de Crohn de leve a moderada que afecta el íleo y/o el colon ascendente. La dosis oral habitual de ENTOCORT® EC para el tratamiento de la enfermedad de Crohn es de 6 a 9 mg/día. ENTOCORT® EC se libera en los intestinos antes de ser absorbido y retenido en la mucosa intestinal. Una vez que pasa a través del tejido diana de la mucosa intestinal, ENTOCORT® EC es ampliamente metabolizado por el sistema de citocromo P450 en el hígado con metabolitos que tienen una actividad de glucocorticoides insignificante. Por lo tanto, la biodisponibilidad es baja (de alrededor de 10 %). La baja biodisponibilidad de budesónida da como resultado una relación terapéutica mejorada en comparación con otros glucocorticoides que tienen metabolismo de primera pasada menos amplio. La budesónida da como resultado menos cantidad de efectos adversos, incluso una menor inhibición hipotalámica-hipofisaria, que los corticoesteroides de acción sistemática. Sin embargo, la administración crónica de ENTOCORT® EC puede dar como resultado efectos glucocorticoides sistémicos, tales como hipercorticismos e inhibición suprarrenal. Véase *Physicians' Desk Reference Supplement*, 58.^a edición, 608-610 (2004).

Aun en otras formas de realización, una combinación de PD-L1 y otro inmunomodulador junto con un esteroide no absorbible se puede combinar, a su vez, con un salicilato. Los salicilatos incluyen agentes 5-ASA, tales como: sulfasalazine (AZULFIDINE®, Pharmacia & Upjohn); olsalazine (DIPENTUM®, Pharmacia & Upjohn); balsalazide (COLAZAL®, Salix Pharmaceuticals, Inc.); y mesalamine (ASACOL®, Procter & Gamble Pharmaceuticals; PENTASA®, Shire US; CANASA®, Axcan Scandipharm, Inc.; ROWASA®, Solvay).

Dosis y formulación

Un péptido adecuado de la fórmula I, o más específicamente un péptido macrocíclico descrito en el presente documento, se puede administrar a pacientes para tratar la diabetes y otras enfermedades relacionadas como un compuesto solo o mezclado con un portador aceptable en forma de formulaciones farmacéuticas. Las personas del oficio de nivel medio del tratamiento de la diabetes pueden determinar fácilmente la dosis y la vía de administración del compuesto a mamíferos, incluidos los seres humanos, que necesitan dicho tratamiento. La vía de administración puede incluir, por ejemplo, la administración oral, intraoral, rectal, transdérmica, bucal, intranasal, pulmonar, subcutánea, intramuscular, intradérmica, sublingual, intracelómica, intraocular, intravenosa o intestinal. El compuesto se formula de acuerdo con la vía de administración en función de la práctica farmacéutica aceptable (Fingl et al., en *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, capítulo 1, p. 1 (1975); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18.^a edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1990)).

Las composiciones peptídicas aceptables desde el punto de vista farmacéutico descritas en el presente documento se pueden administrar en múltiples formas de dosificación, tales como comprimidos, cápsulas (cada una de las cuales incluye formulaciones de liberación retardada o sostenida), píldoras, polvos, gránulos, elixires, geles *in situ*, microesferas, complejos cristalinos, liposomas, microemulsiones, tinturas, suspensiones, jarabes, atomizadores en aerosol y emulsiones. Las composiciones descritas en el presente documento también se pueden administrar en forma oral, intravenosa (bolo o infusión), intraperitoneal, subcutánea, transdérmica o intramuscular, todas las cuales implican formas de dosificación conocidas por las personas del oficio de nivel medio del campo farmacéutico. Las composiciones se pueden administrar solas, pero generalmente se administran con un portador farmacéutico seleccionado en función de la vía de administración elegida y la práctica farmacéutica estándar.

El régimen de dosificación de las composiciones descritas en el presente documento variará, naturalmente, según ciertos factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del agente particular y su modo y vía de

administración; la especie, la edad, el sexo, la salud, la afección médica y el peso del receptor; la naturaleza y el alcance de los síntomas; el tipo de tratamiento simultáneo; la frecuencia del tratamiento; la vía de administración, la función renal y hepática del paciente, y el efecto deseado. Un médico o veterinario puede determinar y recetar la cantidad eficaz del fármaco necesaria para prevenir, contrarrestar o detener el avance de la enfermedad.

5 A modo orientativo, la dosis oral diaria del principio activo, cuando se usa para los efectos indicados, variará de alrededor de 0,001 a 1000 mg/kg de peso corporal, preferentemente, de alrededor de 0,01 a 100 mg/kg de peso corporal por día y, con máxima preferencia, de alrededor de 0,6 a 20 mg/kg/día. Si la administración es intravenosa, la dosis diaria del principio activo cuando se usa para los efectos indicados variará de 0,001 ng a 100,0 ng por min/kg de peso corporal durante una infusión a velocidad constante. Dicha infusión intravenosa constante se puede administrar preferentemente a una velocidad de 0,01 ng a 50 ng por min/kg de peso corporal y, con máxima preferencia, de 0,01 ng a 10,0 mg por min/kg de peso corporal. Las composiciones descritas en el presente documento se pueden administrar en una sola dosis diaria, o la dosis diaria total se puede administrar en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces por día. Las composiciones descritas en el presente documento también se pueden administrar mediante una formulación de absorción retardada que permitirá la liberación sostenida del fármaco durante un período de días/semanas/meses, según se desee.

20 Las composiciones descritas en el presente documento se pueden administrar de manera intranasal mediante el uso tópico de vehículos intranasales adecuados o mediante vías transdérmicas, usando parches transdérmicos para la piel. Cuando se administra en forma de un sistema de administración transdérmico, la administración de las dosis será, por supuesto, continua en lugar de intermitente durante todo el régimen de dosificación.

25 Las combinaciones se administran en una mezcla con diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticos adecuados (que se denominan conjuntamente en el presente documento "portadores farmacéuticos") seleccionados de manera adecuada con respecto a la forma de administración pretendida, es decir, comprimidos orales, cápsulas, elixires, atomizadores de aerosol generados con o sin propulsores y jarabes, y de acuerdo con las prácticas farmacéuticas convencionales.

30 Por ejemplo, para la administración oral en forma de comprimido o cápsula, el componente farmacológico activo se puede combinar con un portador inerte oral, no tóxico, aceptable desde el punto de vista farmacéutico, tal como lactosa, almidón, sacarosa, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, manitol y sorbitol; para la administración oral en forma líquida, los componentes farmacológicos orales se pueden combinar con cualquier portador inerte oral, no tóxico, aceptable desde el punto de vista farmacéutico, tal como etanol, glicerol y agua. Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar en la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes de desintegración y colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen, entre otros, almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como glucosa o beta-lactosa, endulzantes del maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y ceras. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio y cloruro de sodio. Los desintegrantes incluyen, por ejemplo, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita y goma xantana.

45 Las composiciones descritas en el presente documento también se pueden administrar en forma de sistemas de administración de micelas o liposomas mezclados, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas se pueden formar de varios fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas. Se pueden añadir mejoradores de la penetración para mejorar la absorción del fármaco.

50 Debido a que se sabe que los profármacos mejoran múltiples cualidades beneficiosas de los productos farmacéuticos (por ejemplo, solubilidad, biodisponibilidad, fabricación, etc.), los compuestos descritos en el presente documento se pueden suministrar en forma de profármacos. Por ello, el objetivo descrito en el presente documento pretende incluir profármacos de los compuestos reivindicados en el presente documento, métodos para suministrarlos y composiciones que los contienen.

55 Las composiciones descritas en el presente documento también se pueden acoplar a polímeros solubles como portadores farmacológicos direccionables. Estos polímeros pueden incluir polivinil-pirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropil- metacrilamida-fenol, polihidroxietilaspártamidafenol u óxido de polietileno-polilisina sustituida con residuos de palmitoilo. Asimismo, las composiciones descritas en el presente documento se pueden combinar con una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico y poliglicólico, caprolactona de poliépsilon, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacilatos y copolímeros en bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

65 Las formas de dosificación (composiciones farmacéuticas) adecuadas para la administración pueden contener de alrededor de 0,01 miligramo a alrededor de 500 miligramos de principio activo por unidad de dosificación. Generalmente, en estas composiciones farmacéuticas, el principio activo está presente en una cantidad de alrededor de 0,5-95 % en peso en función del peso total de la composición.

Las cápsulas de gelatina pueden contener el principio activo y portadores en polvo, tales como lactosa, almidón, derivados de celulosa, estearato de magnesio y ácido esteárico. Se pueden usar diluyentes similares para fabricar comprimidos. Tanto los comprimidos como las cápsulas se pueden fabricar como productos de liberación sostenida para proporcionar una liberación continua del medicamento durante un período de horas. Los comprimidos pueden estar recubiertos con azúcar o con una película para disimular el sabor desagradable y protegerlo de la atmósfera, o pueden estar recubiertos de manera entérica para la desintegración selectiva en el tubo gastrointestinal.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral pueden contener colorantes y saborizantes, a fin de aumentar la aceptación por parte del paciente.

En general, el agua, un aceite adecuado, la solución salina, la dextrosa acuosa (glucosa) y las soluciones de azúcares relacionadas, y los glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicoles son portadores adecuados para soluciones parenterales. La solución para la administración parenteral contiene, preferentemente, una sal hidrosoluble del principio activo, agentes estabilizantes adecuados y, de ser necesario, sustancias amortiguadoras. Los agentes antioxidantes, tales como bisulfito de sodio, sulfito de sodio o ácido ascórbico, ya sean solos o en combinación, son agentes estabilizantes adecuados. También se usan el ácido cítrico y sus sales, y EDTA de sodio. Asimismo, las soluciones parenterales pueden contener conservantes, tales como cloruro de benzalconio, metilparabeno o propilparabeno y clorobutanol.

Los portadores farmacéuticos adecuados se describen en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19.^a edición, Mack Publishing Company (1995), un texto de referencia estándar en este campo.

Las formas de dosificación farmacéuticas útiles y representativas para la administración de los compuestos descritos en el presente documento se pueden ilustrar de la siguiente manera:

Cápsulas

Se puede preparar una gran cantidad de unidades de cápsulas llenando cápsulas de gelatina dura de dos piezas estándares con 100 miligramos de principio activo en polvo, 150 miligramos de lactosa, 50 miligramos de celulosa y 6 miligramos de estearato de magnesio.

Cápsulas de gelatina blandas

Una mezcla de principio activo en un aceite que se puede digerir, tal como aceite de soja, aceite de semillas de algodón o aceite de oliva, se puede preparar e inyectar por medio de una bomba de desplazamiento positivo en gelatina para formar cápsulas de gelatina blandas que contienen 100 miligramos del principio activo. Las cápsulas deben lavarse y secarse.

Comprimidos

Los comprimidos se pueden preparar mediante procedimientos convencionales, de modo que la unidad de dosificación sea, por ejemplo, de 100 miligramos de principio activo, 0,2 miligramos de dióxido de silicio coloidal, 5 miligramos de estearato de magnesio, 275 miligramos de celulosa microcristalina, 11 miligramos de almidón y 98,8 miligramos de lactosa. Los recubrimientos adecuados se pueden aplicar para aumentar la palatabilidad o retrasar la absorción.

Inyectable

Una formulación inyectable de una composición peptídica descrita en el presente documento puede requerir o no el uso de excipientes, tales como los aprobados por entidades reguladoras. Estos excipientes incluyen, por ejemplo, disolventes y codisolventes, solubilizantes, emulgentes o espesantes, agentes quelantes, antioxidantes y agentes reductores, conservantes antimicrobianos, amortiguadores y agentes de ajuste del pH, agentes volumétricos, protectores y de ajuste de la tonicidad, y aditivos especiales. Una formulación inyectable tiene que ser estéril, libre de pirógeno y, en el caso de soluciones, libre de material particulado.

Una composición parenteral adecuada para la administración mediante inyección se puede preparar agitando, por ejemplo, 1,5 % en peso de principio activo en un amortiguador aceptable desde el punto de vista farmacéutico que puede contener o no un codisolvente u otro excipiente. La solución debería transformarse en isotónica con cloruro de sodio y debería esterilizarse.

Las abreviaturas que se usan en la presente solicitud, que incluyen, en particular, los siguientes ejemplos ilustrativos, son conocidas por las personas del oficio de nivel medio. Algunas de las abreviaturas que se usan son las siguientes: HOBt para hidroxibenzotriazol; HOAt para 1-hidroxi-7-azabenzotriazol; DIC para N,N'-diisopropilcarbodiimida; HBTU para hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; BOP para hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)fosfonio; PyBOP para hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio; TIS o TIPS para triisopropilsilano; DMSO para dimetilsulfóxido; MeCN o ACN para acetonitrilo; DCM para diclorometano; min para

minutos; NMP para N-metilpirrolidiona; h para horas; TA para temperatura ambiente o tiempo de retención (según el contexto); EtOAc para acetato de etilo; Fmoc para 9-fluorenilmetiloxycarbonilo; OAc para acetato; MeOH para metanol; TFA para ácido trifluoracético; Et para etilo; DMAP para 4-(N,N-dimetilamino)piridina; EDCI para 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; EtOH para etanol; DEA para dietilamina; DCC para diciclohexilcarbodiimida; DMF para N,N-dimetilformamida; EtOAc para acetato de etilo; DIEA para diisopropiletilamina y HATU para hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

Suspensión

Se puede preparar una suspensión acuosa para administración oral y/o parenteral, de modo que, por ejemplo, cada 5 ml contenga 100 mg de principio activo finamente dividido, 20 mg de carboximetilcelulosa de sodio, 5 mg de benzoato de sodio, 1,0 g de solución de sorbitol, U.S.P. y 0,025 ml de vanilina u otro saborizante agradable al paladar.

Micropartículas biodegradables

Una composición parenteral de liberación sostenida adecuada para la administración mediante inyección se puede preparar, por ejemplo, disolviendo un polímero biodegradable adecuado en un disolvente, añadiendo a la solución polimérica el agente activo que se desea incorporar y retirando el disolvente de la matriz, para así formar la matriz del polímero con el agente activo distribuido a lo largo de la matriz.

Síntesis de péptidos

Cabe destacar que el grupo -C(O)NH- se puede orientar dentro de los ligadores X y X' en cualquiera de las dos posibles orientaciones (por ejemplo, como -C(O)NH- o como -NHC(O)-), a menos que se indique lo contrario.

La descripción de la presente invención se debe interpretar de acuerdo con las leyes y los principios de la fijación química. Se debe entender que los compuestos abarcados por la presente divulgación son aquellos adecuadamente estables para ser usados como agente farmacéutico. Por ejemplo, en los compuestos de la fórmula (I), cuando X es una cadena de 1 a 172 átomos en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -(CH₂)CO₂, cabe destacar que esto no abarca los compuestos en donde múltiples heteroátomos se ligan entre sí (es decir, -O-O- u O-NHC(O)NH-) ya que estos no se considerarían moléculas estables. En otro ejemplo, X no abarcaría compuestos en donde dos heteroátomos están separados solo por un carbono ya que tampoco se considerarían estables. La persona del oficio de nivel medio sabrá qué compuestos serían estables o no en función de los principios generales de la fijación química y la estabilidad.

La síntesis química de un péptido macrocíclico de la presente divulgación se puede llevar a cabo usando una variedad de métodos reconocidos en el estado de la técnica, que incluyen la síntesis gradual en fase sólida, la semisíntesis mediante la religadura de fragmentos peptídicos asistida en forma conformacional, la ligadura enzimática de segmentos peptídicos clonados o sintéticos, y la ligadura química. Un método preferido para sintetizar los péptidos macrocíclicos y sus análogos descritos en el presente documento es la síntesis química en la que se emplean varias técnicas en fase sólida, tales como las descritas en Chan, W.C. et al., eds., *Fmoc Solid Phase Synthesis*, Oxford University Press, Oxford (2000); Barany, G. et al., *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 2: "Special Methods in Peptide Synthesis, Part A", pp. 3-284, Gross, E. et al., eds., Academic Press, Nueva York (1980); y en Stewart, J.M. et al., *Solid-Phase Peptide Synthesis*, 2.^a edición, Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984). La estrategia preferida se basa en el grupo Fmoc (9-fluorenilmetilmetil-oxycarbonilo) para la protección temporal del grupo α-amino, en combinación con el grupo *tert*-butilo para la protección temporal de las cadenas laterales de aminoácidos (véase, por ejemplo, Atherton, E. et al., "The Fluorenylmethoxycarbonyl Amino Protecting Group", en *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 9: "Special Methods in Peptide Synthesis, Part C", pp. 1-38, Udenfriend, S. et al., eds., Academic Press, San Diego (1987).

Los péptidos se pueden sintetizar en etapas en un soporte polimérico insoluble (también denominado "resina") desde el terminal C del péptido. Una síntesis comienza al añadir el aminoácido del terminal C del péptido a la resina mediante la formación de una ligadura amida o éster. Esto permite la liberación final del péptido resultante como amida del terminal C o ácido carboxílico, respectivamente.

El aminoácido del terminal C y todos los otros aminoácidos que se usan en la síntesis deben tener sus grupos α-amino y funcionalidades de cadena lateral (de estar presentes) protegidas de manera diferencial, de manera que el grupo protector α-amino se puede retirar de manera selectiva durante la síntesis. El acoplamiento de un aminoácido se realiza mediante la activación de su grupo carboxilo como un éster activo y una reacción de éste con un grupo α-amino no bloqueado del aminoácido del terminal N unido a la resina. La secuencia de desprotección y acoplamiento del grupo α-amino se repite hasta que se ensambla la secuencia peptídica completa. Después se libera el péptido de la resina con la desprotección concomitante de las funcionalidades de la cadena lateral, usualmente en presencia de secuestrantes adecuados para limitar las cadenas laterales. El péptido resultante se purifica finalmente mediante HPLC de fase inversa.

En la síntesis de las resinas de peptidilo necesarias como precursores de los péptidos finales se emplean resinas poliméricas de poliestireno reticulado disponibles en el comercio (Novabiochem, San Diego, CA; Applied Biosystems, Foster City, CA). Los soportes sólidos preferidos son los siguientes: Resina 4-(2',4'-dimetoxifenil-Fmoc-aminometil)-fenoxiacetil-p-metil bencidrilamina (resina MBHA de amida Rink); 9-Fmoc-amino-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (resina de amida Sieber); 4-(9-Fmoc)aminometil-3,5-dimetoxifenoxi)valeril-aminometil-resina Merrifield (resina PAL), para carboxamidas del terminal C. El acoplamiento del primer aminoácido con los aminoácidos posteriores se puede lograr mediante el uso de ésteres activos HOBt, 6-Cl-HOBt o HOAt producidos de DIC/HOBt, HBTU/HOBt, BOP, PyBOP, o de DIC/6-Cl-HOBt, HCTU, DIC/HOAt o HATU, respectivamente. Los soportes sólidos preferidos son los siguientes: resina de cloruro de 2-clorotritilo y 9-Fmoc-amino-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (resina de amida Sieber) para los fragmentos peptídicos protegidos. La carga del primer aminoácido en la resina de cloruro de 2-clorotritilo se logra mejor haciendo reaccionar el aminoácido protegido por Fmoc con la resina en diclorometano y DIEA. Si fuese necesario, se puede añadir una pequeña cantidad de DMF para facilitar la disolución del aminoácido.

Las síntesis de los análogos peptídicos descritos en el presente documento se pueden realizar usando un sintetizador peptídico de un solo canal o de múltiples canales, tal como un sintetizador de microondas CEM Liberty, o un sintetizador Prelude (6 canales) o Symphony (12 canales) de Protein Technologies, Inc.

Los precursores de la resina de peptidilo para sus péptidos respectivos se pueden escindir y desproteger usando cualquier procedimiento estándar (véase, por ejemplo, King, D.S. et al., *Int. J. Peptide Protein Res.*, 36:255-266 (1990)). Un método deseado es el uso de TFA en presencia de agua y TIS como secuestrantes. En general, la resina de peptidilo se agita en TFA/agua/TIS (94:3:3, v:v:v; 1 ml/100 mg de resina de peptidilo) durante 2-6 h a temperatura ambiente. Después, la resina gastada se filtra, y la solución de TFA se concentra o se seca a presión reducida. El péptido en bruto resultante se precipita y se lava con Et₂O o se vuelve a disolver directamente en DMSO o ácido acético acuoso al 50 % para la purificación mediante HPLC preparativa.

Se pueden obtener péptidos con la pureza deseada mediante purificación con HPLC preparativa, por ejemplo, en un cromatógrafo de líquidos Waters modelo 4000 o Shimadzu modelo LC-8A. La solución de péptidos en bruto se inyecta en una columna YMC S5 ODS (20 x 100 mm) y se eluyó con un gradiente lineal de MeCN en agua, ambos amortiguados con 0,1 % de TFA, con una caudal de 14-20 ml/min con monitoreo de efluente por absorbancia de UV a 220 nm. Las estructuras de los péptidos purificados se pueden confirmar mediante análisis EM de electropulverización.

Datos analíticos:

Espectrometría de masa: "IEN-EM(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion positivo; "IEN-EM(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion negativo; "IEN-HRMS(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion positivo; "IEN-HRMS(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion negativo. Las masas detectadas se informan de acuerdo con la designación de unidad "m/z". En general, los compuestos con masas exactas mayores de 1000 se detectaron como iones de doble carga o de triple carga.

Los análisis de espectrometría de masa de alta resolución (HRMS) se realizaron en un espectrómetro de masa Orbitrap mediante transformada de Fourier (Exactive, Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) usando ionización de electropulverización positiva o negativa que operaba a una resolución de 25,000 (anchura a media altura, FWHM). El instrumento se calibró diariamente de acuerdo con las especificaciones del fabricante, lo cual produjo errores de precisión de masa < 5 ppm. El *software* operativo, Xcalibur, se usó para calcular los valores teóricos de la masa con respecto a la carga y para procesar los datos obtenidos.

Condición A del análisis de CLEM:

Columna: Waters BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: agua con 0,05 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,05 % de TFA; temperatura: 50 °C; gradiente: 2 % de B a 98 % de B durante 1 minuto, después una retención de 0,5 minutos a 98 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición C del análisis de CLEM:

Columna: Waters BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: agua con 0,2 % de ácido fórmico y 0,01 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,2 % de ácido fórmico y 0,01 % de TFA; temperatura: 50 °C; gradiente: 2 % de B a 80 % de B durante 2 minutos, de 80 % de B a 98 % de B durante 0,1 minutos, después una retención de 0,5 minutos a 98 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición D del análisis de CLEM:

Columna: Waters BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de

acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 °C; gradiente: 0-100 % de B durante 3 min, después, un mantenimiento de 0,75 minutos a 100 % de B; flujo: 1,0 ml/min; detección: UV a 220 nm.

5 *Condición E del análisis de CLEM:*

10 Columna: Waters BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; temperatura: 50 °C; gradiente: 0-100 % de B durante 3 min, después, un mantenimiento de 0,75 minutos a 100 % de B; flujo: 1,11 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición B del análisis de HPLC:

15 Columna: YMC Pack ODS-AQ 3 µm 150 x 4,6 mm; fase móvil A: agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,1 % de TFA; temperatura: 40 °C; gradiente: de 10 % de B a 100 % de B durante 10 a 40 min; caudal: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Procedimientos generales:

20 *Método A de Prelude:*

25 Todas las manipulaciones se realizaron mediante automatización en un sintetizador de péptidos Prelude (Protein Technologies). A menos que se indique lo contrario, todos los procedimientos se realizaron en un tubo de polipropileno de 10 o 45 ml equipado con una frita en la parte inferior. El tubo se conecta con el sintetizador de péptidos Prelude a través de la parte inferior y superior del tubo. Se pueden añadir DMF y DCM a través de la parte superior del tubo, lo que produce el lavado parejo de los laterales del tubo. Los reactivos restantes se añaden a través de la parte inferior del tubo y se hacen pasar a través de la frita para entrar en contacto con la resina. Todas las soluciones se retiran a través de la parte inferior del tubo. La "agitación periódica" describe un impulso breve de gas de N₂ a través de la frita de la parte inferior; el impulso dura aproximadamente 5 segundos y se produce cada 30 segundos. En general, no se usaron soluciones de aminoácidos de más de tres semanas desde de la preparación. Se usó solución HATU dentro de los 5 días de preparación. DMF = dimetilformamida; HCTU = 2-(6-cloro-1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; HATU = hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido; NMM = N-metilmorfolina; Sieber = Fmoc-amino-xanten-3-iloxi, en donde "3-iloxi" describe la posición y el tipo de conectividad con la resina de poliestireno. La resina usada es polímero Merrifield (poliestireno) con un ligador Sieber (protegido por Fmoc en el nitrógeno); malla de 100-200, 1 % de DVB, 0,71 mmol/g de carga. Los aminoácidos comunes usados se enumeran a continuación con grupos protectores de cadenas laterales que se indican entre paréntesis. Fmoc-Ala-OH; Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Fmoc-Asn(Trt)-OH; Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Fmoc-Bzt-OH; Fmoc-Cys(Trt)-OH; Fmoc-Dab(Boc)-OH; Fmoc-Dap(Boc)-OH; Fmoc-Gln(Trt)-OH; Fmoc-Gly-OH; Fmoc-His(Trt)-OH; Fmoc-Ile-OH; Fmoc-Leu-OH; Fmoc-Lys(Boc)-OH; Fmoc-Nle-OH; Fmoc-[N-Me]Ala-OH; Fmoc-[N-Me]Nle-OH; Fmoc-Phe-OH; Fmoc-Pro-OH; Fmoc-(D)-cis-Pro(4-OtBu)-OH; Fmoc-(D)-trans-Pro(4-OtBu)-OH; Fmoc-Sar-OH; Fmoc-Ser(tBu)-OH; Fmoc-Thr(tBu)-OH; Fmoc-Trp(Boc)-OH; Fmoc-Tyr(tBu)-OH; Fmoc-Val-OH.

45 Los procedimientos del "Método A de Prelude" describen un experimento realizado a una escala 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Sieber unido a la resina. Esta escala corresponde aproximadamente a 140 mg de la resina Sieber-Merrifield descrita anteriormente. Todos los procedimientos se pueden realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Antes del acoplamiento de los aminoácidos, todas las secuencias de síntesis de péptidos comenzaron con un procedimiento de expansión de resina, descrito a continuación como "procedimiento de expansión de resina". En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina primaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento simple" descrito a continuación. En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina secundaria, se usó el "Procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria" descrito a continuación. El acoplamiento del grupo cloroacetilo al terminal N del péptido se describe mediante el "Procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo" o "Procedimiento de acoplamiento a ácido cloroacético" que se detallan a continuación.

55 *Procedimiento de expansión de resina:*

60 A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 40 ml, se le añadió resina Merrifield Sieber (140 mg, 0,100 mmol). La resina se lavó (expandió) tres veces de la siguiente manera: al recipiente de reacción, se añadieron DMF (5,0 ml) y DCM (5,0 ml), después de lo cual la mezcla se agitó periódicamente con burbujeo de N₂ de la parte inferior del recipiente de reacción durante 10 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.

Procedimiento de acoplamiento simple:

65 Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 o 5 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 o 5 minutos,

y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cinco veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 60 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 5,0 ml, 10 eq.), después HATU o HCTU (0,2 M en DMF, 5,0 ml, 10 eq.) y finalmente NMM (0,8 M en DMF, 2,5 ml, 20 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 60 min, después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de anhídrido acético:DIEA:DMF (10:1:89 v/v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 min, después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

15 *Procedimiento de acoplamiento de amina secundaria:*

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 o 5 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 o 5 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cinco veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 2,5 ml, 5 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 2,5 ml, 5 eq.) y finalmente NMM (0,8 M en DMF, 1,5 ml, 12 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 300 min, después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de anhídrido acético:DIEA:DMF (10:1:89 v/v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 min, después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

35 *Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida:*

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 o 5 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 o 5 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cinco veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 0,5 a 2,5 ml, 1 a 5 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 0,5 a 2,5 ml, 1 a 5 eq.) y finalmente DIPEA (0,8 M en DMF, 0,5 a 1,5 ml, 4 a 12 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 60 a 600 minutos, después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de anhídrido acético:DIEA:DMF (10:1:89 v/v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 min, después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento A de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cinco veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadieron 3,0 ml de una solución de DIPEA (4,0 mmol, 0,699 ml, 40 eq.) y cloruro de cloroacetilo (2,0 mmol, 0,160 ml, 20 eq.) en DMF. La mezcla se agitó periódicamente durante 12 a 18 h, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH₂Cl₂ (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante

se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita.

Procedimiento A de acoplamiento al ácido cloroacético:

- 5 Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió la piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cinco veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó
- 10 periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadieron DMF (2,0 ml), ácido cloroacético (1,2 mmol, 113 mg, 12 eq.) y N,N'-diisopropilcarbodiimida (1,2 mmol, 0,187 ml, 12 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 12 a 18 h, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (4,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes
- 15 de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH₂Cl₂ (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita.

Método A de CEM:

- 20 Todas las manipulaciones se realizaron mediante automatización en un sintetizador de péptidos para microondas CEM Liberty (CEM Corporation). A menos que se indique lo contrario, todos los procedimientos se realizaron en un tubo de polipropileno de 30 o 125 ml equipado con una frita en la parte inferior a una unidad de microondas CEM Discovery. El tubo se conecta con el sintetizador CEM Liberty a través de la parte inferior y superior del tubo. Se pueden añadir DMF y DCM a través de la parte superior e inferior del tubo, lo que produce el lavado parejo de los laterales del tubo. Todas las soluciones se retiran a través de la parte inferior del tubo, excepto durante la transferencia de la resina desde la parte superior. El "burbujeo periódico" describe un breve burbujeo de gas de N₂ a través de la frita de la parte inferior. En general, no se usaron soluciones de aminoácidos de más de tres semanas desde de la preparación. Se usó solución HATU dentro de los 5 días de preparación. DMF = dimetilformamida; HCTU = 2-(6-cloro-1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; HATU = hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido; DIEA/DIPEA = diisopropiletilamina; Sieber = Fmoc-amino-xanten-3-iloxi, en donde "3-iloxi" describe la posición y el tipo de conectividad con la resina de poliestireno. La resina usada es polímero Merrifield (poliestireno) con un ligador Sieber (protegido por Fmoc en el nitrógeno); malla de 100-200, 1 % de DVB, 0,71 mmol/g de carga. Los aminoácidos comunes usados se enumeran a continuación con grupos protectores de cadenas laterales que se indican entre paréntesis. Fmoc-Ala-OH; Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Fmoc-Asn(Trt)-OH; Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Fmoc-Bzt-OH; Fmoc-Cys(Trt)-OH; Fmoc-Dab(Boc)-OH; Fmoc-Dap(Boc)-OH; Fmoc-Gln(Trt)-OH; Fmoc-Gly-OH; Fmoc-His(Trt)-OH; Fmoc-Hyp(tBu)-OH; Fmoc-Ile-OH; Fmoc-Leu-OH; Fmoc-Lys(Boc)-OH; Fmoc-Nle-OH; Fmoc-Met-OH; Fmoc-[N-Me]Ala-OH; Fmoc-[N-Me]Nle-OH; Fmoc-Phe-OH; Fmoc-Pro-OH; Fmoc-Sar-OH; Fmoc-Ser(tBu)-OH; Fmoc-Thr(tBu)-OH; Fmoc-Trp(Boc)-OH; Fmoc-Tyr(tBu)-OH; Fmoc-Val-OH.
- 35

- 40 Los procedimientos del "Método A de CEM" describen un experimento realizado a una escala 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Sieber unido a la resina. Esta escala corresponde aproximadamente a 140 mg de la resina Sieber-Merrifield descrita anteriormente. Todos los procedimientos se pueden realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Antes del acoplamiento de los aminoácidos, todas las secuencias de síntesis de péptidos comenzaron con un procedimiento de expansión de resina, descrito a continuación como "procedimiento de expansión de resina". En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina primaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento simple" descrito a continuación. En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina secundaria, se usó el "Procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria" descrito a continuación. El acoplamiento del grupo cloroacetilo al terminal N del péptido se describe mediante el "procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo" o "procedimiento de acoplamiento a ácido cloroacético" descrito anteriormente.
- 45
- 50

Procedimiento de expansión de resina:

- 55 A un tubo cónico de polipropileno de 50 ml, se le añadió resina Merrifield Sieber (140 mg, 0,100 mmol). Después, se añadió DMF (7 ml) al tubo seguida de DCM (7 ml). La resina después se transfirió al recipiente de reacción de la parte superior del recipiente. El procedimiento se repitió dos veces más. Se añadió DMF (7 ml) y después DCM (7 ml). La resina se expandió con burbujeo de N₂ de la parte inferior del recipiente de reacción durante 15 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.
- 60

Procedimiento de acoplamiento estándar:

- Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió una solución de piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente
- 65

tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 2,5 ml, 5 eq.), después HATU (0,5 M en DMF, 1,0 ml, 5 eq.) y finalmente DIPEA (2 M en NMP, 0,5 ml, 10 eq.). La mezcla se mezcló mediante burbujeo de N₂ durante 5 minutos a 75 °C para todos los aminoácidos, excepto Fmoc-Cys(Trt)-OH y Fmoc-His(Trt)-OH que se acoplan a 50 °C, la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de anhídrido acético:DIEA:DMF (10:1:89 v/v/v, 5,0 ml). La mezcla se hizo burbujear periódicamente durante 2 minutos a 65 °C, después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de acoplamiento de doble acople:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió una solución de piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 2,5 ml, 5 eq.), después HATU (0,5 M en DMF, 1,0 ml, 5 eq.) y finalmente DIPEA (2 M en NMP, 0,5 ml, 10 eq.). La mezcla se mezcló mediante burbujeo de N₂ durante 5 minutos a 75 °C para todos los aminoácidos, excepto Fmoc-Cys(Trt)-OH y Fmoc-His(Trt)-OH que se acoplan a 50 °C, la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 2,5 ml, 5 eq.), después HATU (0,5 M en DMF, 1,0 ml, 5 eq.) y finalmente DIPEA (2 M en NMP, 0,5 ml, 10 eq.). La mezcla se mezcló mediante burbujeo de N₂ durante 5 minutos a 75 °C para todos los aminoácidos, excepto Fmoc-Cys(Trt)-OH y Fmoc-His(Trt)-OH que se acoplan a 50 °C, la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de anhídrido acético:DIEA:DMF (10:1:89 v/v/v, 5,0 ml). La mezcla se hizo burbujear periódicamente durante 2 minutos a 65 °C, después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió una solución de piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió la solución de aminoácidos (1,25 ml a 5 ml, 2,5 eq. a 10 eq.) que contenía HATU (2,5 eq. a 10 eq.), y finalmente DIPEA (2 M en NMP, 0,5 ml a 1 ml, 20 eq.). La mezcla se mezcló mediante burbujeo de N₂ durante 5 minutos a 2 horas a 25 °C a 75 °C, después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. Al recipiente de reacción, se le añadió una solución de anhídrido acético:DIEA:DMF (10:1:89 v/v/v, 5,0 ml). La mezcla se hizo burbujear periódicamente durante 2 minutos a 65 °C, después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: lavado con DMF (7 ml) de la parte superior, seguido de lavado con DMF (7 ml) de la parte inferior y, finalmente, lavado con DMF (7 ml) de la parte superior. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

N-metilación en resina (Turner, R. A.; Hauksson, N. E.; Gipe, J. H.; Lokey, R. S. *Org. Lett.* **2013**, 15(19), 5012-5015):

Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento de "N-metilación en resina" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Sieber unido a la resina que se usó para generar el péptido. Esta escala no se basa en una determinación directa de la cantidad de péptido usado en el procedimiento. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala.

La resina se transfirió a una jeringa de 25 ml equipada con una frita. A la resina se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 5,0 ml). La mezcla se agitó durante 3 min, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó tres veces con DMF (4,0 ml). Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 4,0 ml). La mezcla se agitó

durante 3 min, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: Se añadió 3 veces DMF (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita, y después se añadió 3 veces DCM (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita.

5 La resina se suspendió en DMF (2,0 ml) y trifluoroacetato de etilo (0,119 ml, 1,00 mmol), 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (0,181 ml, 1,20 mmol). La mezcla se colocó en un agitador durante 60 min. La solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: Se añadió 3 veces DMF (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita, y después se añadió 3
10 veces DCM (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó 3 veces con THF seco (2,0 ml) para eliminar el agua residual. A un vial de 4,0 ml secado en el horno, se le añadieron THF (1,0 ml) y trifenilfosfina (131 mg, 0,500 mmol) en tamices moleculares de 4 Å secos (20 mg). La solución turbia se transfirió a la resina, y se añadió lentamente azodicarboxilato de isopropilo (0,097 ml, 0,5 mmol). La resina se agitó durante 15 min. La solución drenó a través de la frita, y la resina se lavó 3 veces con
15 THF seco (2,0 ml) para retirar el agua residual. A un vial de 4,0 ml secado en el horno, se le añadieron THF (1,0 ml) y trifenilfosfina (131 mg, 0,500 mmol) en tamices moleculares de 4 Å secos (20 mg). La solución turbia se transfirió a la resina, y se añadió lentamente azodicarboxilato de diisopropilo (0,097 ml, 0,5 mmol). La resina se agitó durante 15 min. La solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: Se añadió
20 3 veces DMF (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita, y después se añadió 3 veces DCM (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita.

La resina se suspendió en etanol (1,0 ml) y THF (1,0 ml), y se añadió borohidruro de sodio (37,8 mg, 1,000 mmol). La mezcla se mezcló en un agitador durante 30 min. La solución drenó a través de la frita, y la resina se lavó
25 sucesivamente 6 veces de la siguiente manera: Se añadió 3 veces DMF (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita, y después se añadió 3 veces DCM (4,0 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 3 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita.

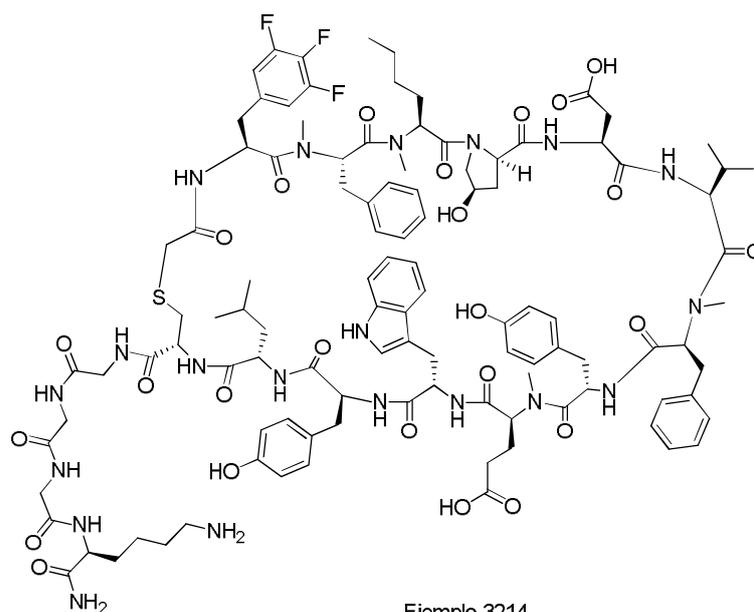
Método B de desprotección global:

30 Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento del "Método B de desprotección global" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Sieber unido a la resina. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Se preparó una
35 "solución de desprotección" usando ácido trifluoroacético:triisopropilsilano:ditiotretol (94:3:3 v:v:p). La resina se retiró del recipiente de reacción y se transfirió a una jeringa de 25 ml equipada con una frita. A la jeringa se le añadió la "solución de desprotección" (5,0 ml). La mezcla se mezcló en un agitador durante 5 min. La solución se filtró y se diluyó en dietiléter (30 ml). El sólido precipitado se centrifugó durante 3 minutos. La solución sobrenadante se decantó, y el sólido se volvió a suspender en dietiléter (25 ml). La suspensión se centrifugó durante 3 minutos. El sobrenadante se decantó, y el sólido restante se suspendió en dietiléter (25 ml). La suspensión se centrifugó durante 3 minutos. El sobrenadante se decantó, y el sólido restante se secó en alto vacío. El péptido en bruto se obtuvo en forma de un sólido de color blanco a blancuzco.

Método C de ciclación:

45 Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento del "Método C de ciclación" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Sieber unido a la resina que se usó para generar el péptido. Esta escala no se basa en una determinación directa de la cantidad de péptido usado en el procedimiento. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Los sólidos de péptidos en bruto se disolvieron en una solución de acetonitrilo:amortiguador de bicarbonato de amonio acuoso 0,1 M (11 ml:24 ml), y después la solución se ajustó cuidadosamente a pH = 8,5-9,0 usando NaOH acuoso (1,0 M). Después la solución se mezcló usando un agitador durante 12 a 18 horas. La solución de reacción se concentró, y después el residuo se disolvió en acetonitrilo:agua. Esta solución se sometió a purificación mediante
50 HPLC de fase inversa para obtener el péptido cíclico deseado.

Preparación del Ejemplo 3214



Ejemplo 3214

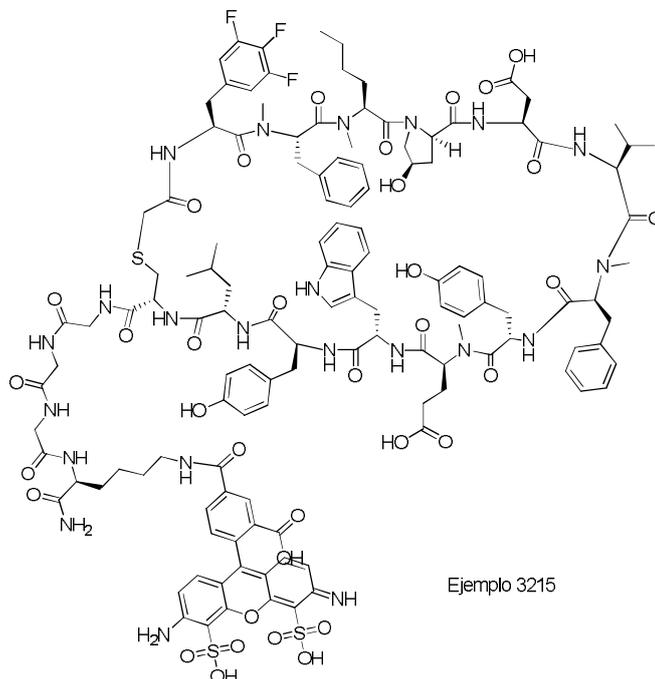
El Ejemplo 3214 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita a continuación.

- 5 A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 40 ml, se le añadió resina Sieber (140 mg, 0,100 mmol), y el recipiente de reacción se colocó en el sintetizador de péptidos Prelude. Después, los siguientes procedimientos se realizaron de manera secuencial:

- 10 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de expansión de resina";
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Lys(Boc)-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Gly-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Gly-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Gly-OH;
 15 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Cys(Trt)-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Leu-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Tyr(tBu)-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Trp(Boc)-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-[N-Me]Glu(OtBu)-OH;
 20 Se siguió el "Método A de Prelude: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*" con Fmoc-Tyr(tBu)-OH durante 6 h;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-[N-Me]Phe-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*" con Fmoc-Val-OH durante 6 h;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-Asp(OtBu)-OH;
 25 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" con Fmoc-*cis*-(D)-Pro(4-OH)-OH;
 Se siguió el "Método A de Prelude: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*" con Fmoc-[N-Me]Nle-OH durante 6 h;
 Se siguió el "Método A de Prelude: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*" con Fmoc-[N-Me]Phe-OH durante 6 h;
 30 Se siguió el "Método A de Prelude: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*" con Fmoc-Phe(3,4,5-tri-F)-OH durante 6 h;
 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento A de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo";
 Se siguió el "Método B de desprotección global";
 Se siguió el "Método C de ciclación".

- 35 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 20x250 5u partículas; fase móvil A: agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,1 % de TFA; gradiente: 35-95 % de B durante 50 min, después, un mantenimiento de 5 minutos a 95 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.
 40 El rendimiento del producto fue de 5,3 mg, y la pureza calculada mediante "condición B del análisis de HPLC" fue de 80 % usando un gradiente de 35 % a 80 % de amortiguador B en A durante 30 min. *Condición A del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,33 min; IEN-EM(+) *m/z* 1104,1 (M+2H). *IEN-HRMS*(+) *m/z*: Calculado: 1103,5019 (M+2H); Encontrado: 1103,5034 (M+2H)

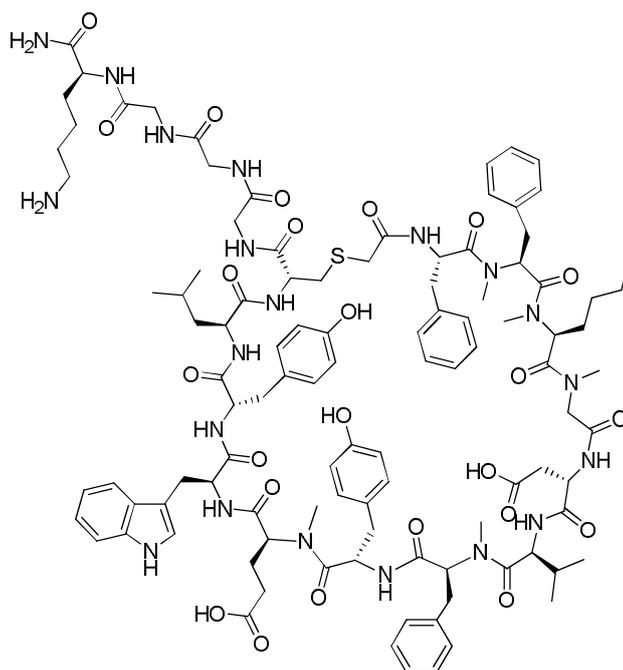
Preparación del Ejemplo 3215



- 5 El compuesto del Ejemplo 3214 (4,7 mg, 2,130 μmol) se disolvió en 0,4 ml de DMF/ACN (1:1). Se añadió DIEA (3,72 μl , 0,021 mmol), y después una solución de 0,9 ml de éster Alexa-5-SDP (2,93mg, 3,5 μmol , Molecular Probes, A30052) en DMF/CH₃CN/DMSO (1:1:1). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa con las siguientes condiciones: Columna: YMC ODS-AQ 100 x 10 mm S-5 μm 12nm; fase móvil A: agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-75 % de B durante 50 min, después, un mantenimiento de 5 minutos a 75 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 0,75 mg, y la pureza calculada mediante "condición B del análisis de HPLC" fue de 96 % usando un gradiente de 35 % a 65 % de amortiguador B durante 30 min. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,39 min; IEN-EM(+) m/z 1362,5 (M+2H).

15

Preparación del Ejemplo 3619



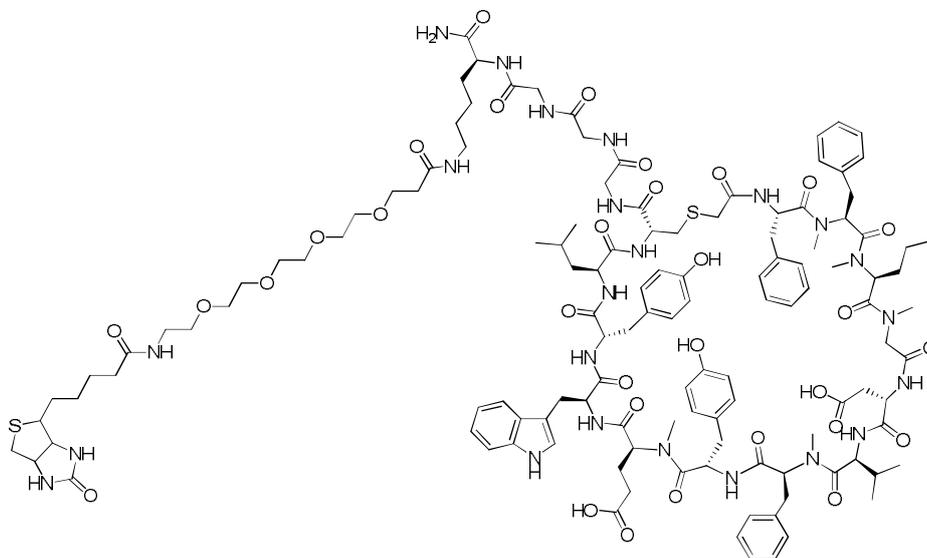
Ejemplo 3619

El Ejemplo 3619 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita a continuación.

- 5 A un tubo de polipropileno de 50 ml, se le añadió resina Sieber (350 mg, 0,250 mmol), y el tubo se colocó en el sintetizador de péptidos para microondas CEM Liberty. Después, los siguientes procedimientos se realizaron de manera secuencial:
- 10 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de expansión de resina";
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Lys-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Gly-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Gly-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Gly-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Cys(Trt)-OH;
 15 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Leu-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Tyr(tBu)-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Trp(tBu)-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-[N-Me]Glu-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*" con Fmoc-Tyr(tBu)-OH;
 20 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-[N-Me]Phe-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*" con Fmoc-Val-OH usando 10 eq durante 10 min a 75 °C, y después 2 horas a temperatura ambiente;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Asp(OtBu)-OH;
 Se siguió el "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar" con Fmoc-Sar-OH;
 25 Se siguió el "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*" con Fmoc-[N-Me]Ile-OH usando 5 eq durante 10 minutos;
 Se siguió el "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*" con Fmoc-[N-Me]Phe-OH usando 5 eq durante 10 minutos;
 Se siguió el "Método A de CEM: : *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*" con Fmoc-Phe-OH usando 5 eq durante 10 minutos;
 30 Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento A de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo"; se siguió el "Método B de desprotección global" y se siguió el "Método C de ciclación".

- El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 5u C18(2) 250 x 21,2 AXIA, 100A Ser.#520221-1; fase móvil A: 0,1 % de TFA en agua; fase móvil B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo; gradiente: 35-75 % de B durante 40 min, después, un gradiente de 5 minutos hasta 85 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga y liofilización. El rendimiento del producto fue de 12,9 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 98 % usando "condiciones A y C del análisis de CLEM". *Condición A del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,29 min; IEN-EM(+) *m/z* 1056,1 (M+2H). *Condición C del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,33 min; IEN-EM(+) *m/z* 1055,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1056,0077 (M+2H); Encontrado: 1056,0077 (M+2H).
- 40

Preparación del Ejemplo 3620



Ejemplo 3620

5

El producto peptídico del Ejemplo 3619 (8,0 mg, 3,79 μmol) se disolvió en 40 μl de DMF y 20 μl de acetonitrilo. A esta solución se le añadieron 17-oxo-21-(2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)-4,7,10,13-tetraoxa-16-azahenicosa-1-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2,231 mg, 3,79 μmol) y N,N-diisopropiletilamina (6,60 μl , 0,038 mmol). La solución se agitó durante 6 h. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las

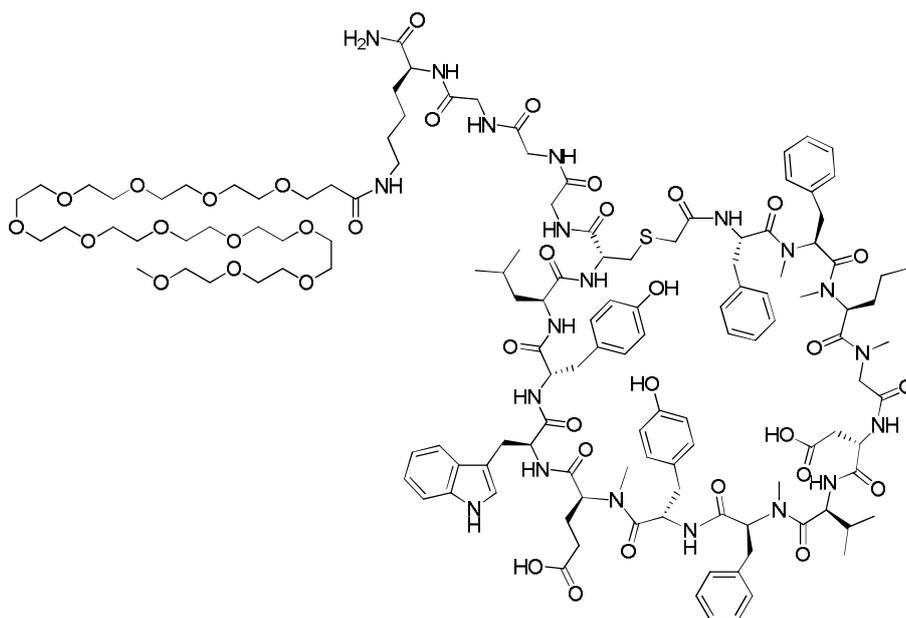
10

siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 5u C18(2) 250 x 21,2 AXIA, 100A Ser.#520221-1; fase móvil A: 0,1 % de TFA en agua; fase móvil B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo; gradiente: 35-75 % de B durante 40 min, después, un gradiente de 5 minutos hasta 85 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga y después se secaron mediante liofilización.

15

Preparación del Ejemplo 3621

20

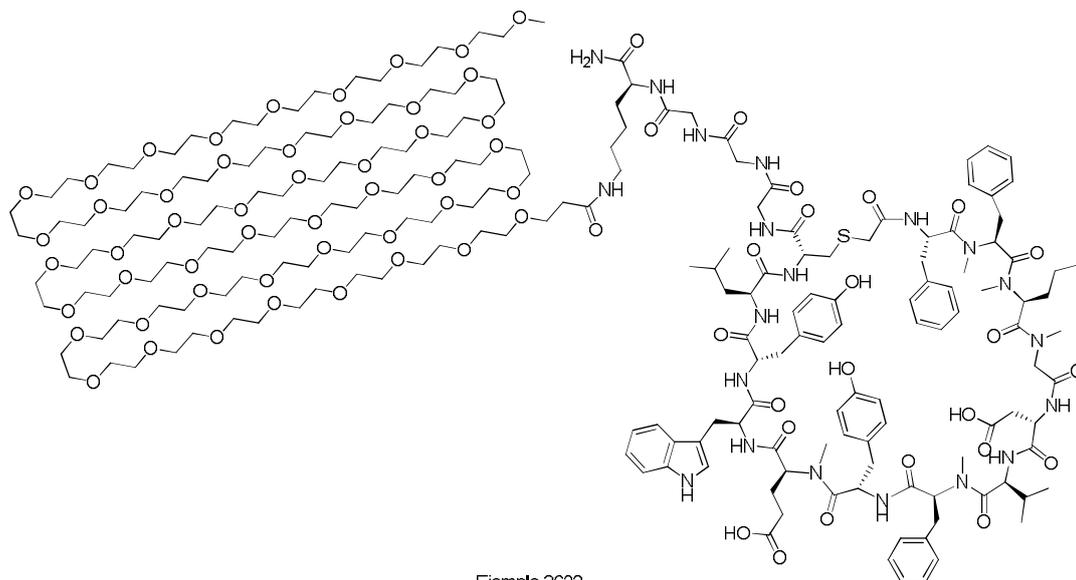


Ejemplo 3621

El Ejemplo 3621 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo

3619, compuesta por los siguientes procedimientos: "Método A de CEM: procedimiento de expansión de resina", "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*", "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*", "*Procedimiento A de acoplamiento al ácido cloroacético*", "Método B de desprotección global" y "Método C de ciclación". El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 5u C18(2) 250 x 21,2 AXIA, 100A Ser.#520221-1; fase móvil A: 0,1 % de TFA en agua; fase móvil B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo; gradiente: 35-75 % de B durante 40 min, después, un gradiente de 5 minutos hasta 85 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga, y después liofilización. El péptido (6,0 mg, 2,84 μ mol) se disolvió en 100 μ l de DMF. A esta solución se le añadieron 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (1,950 mg, 2,84 μ mol) y N,N-diisopropiletilamina (4,95 μ l, 0,028 mmol). La solución se agitó durante 3 h. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 5u C18(2) 250 x 21,2 AXIA, 100A Ser.#520221-1; fase móvil A: 0,1 % de TFA en agua; fase móvil B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo; gradiente: 35-75 % de B durante 40 min, después, un gradiente de 5 minutos hasta 85 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga, y después liofilización. El rendimiento del producto fue de 4,0 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 98 % usando "condiciones A y C del análisis de CLEM". *Condición A del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,34 min; IEN-EM(+) m/z 1341,0 (M+2H). *Condición C del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,62 min; IEN-EM(+) m/z 1341,4 (M+2H).

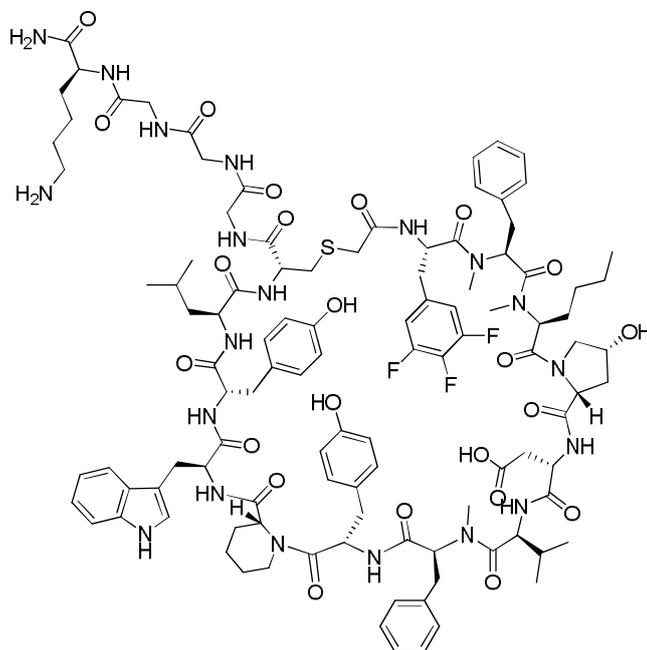
Preparación del Ejemplo 3622



Ejemplo 3622

El Ejemplo 3622 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 3619, compuesta por los siguientes procedimientos: "Método A de CEM: procedimiento de expansión de resina", "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento a la amina secundaria*", "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*", "*Procedimiento A de acoplamiento al ácido cloroacético*", "Método B de desprotección global" y "Método C de ciclación". El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 5u C18(2) 250 x 21,2 AXIA, 100A Ser.#520221-1; fase móvil A: 0,1 % de TFA en agua; fase móvil B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo; gradiente: 35-75 % de B durante 40 min, después, un gradiente de 5 minutos hasta 85 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga, y después liofilización. El péptido (6,0 mg, 2,84 μ mol) se disolvió en 100 μ l de DMF. A esta solución se le añadió 2,5-ioxopirrolidin-1-il-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86,89,92,95,98,101,104,107,110,113,116,119,122,125,128,131,134,137,140,143,146-nonatetracontaoxanonatetracontahectan-149-oato (6,58 mg, 2,84 μ mol) y N,N-diisopropiletilamina (4,95 μ l, 0,028 mmol). La solución se agitó durante 3 h. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Luna 5u C18(2) 250 x 21,2 AXIA, 100A Ser.#520221-1; fase móvil A: 0,1 % de TFA en agua; fase móvil B: 0,1 % de TFA en acetonitrilo; gradiente: 35-75 % de B durante 40 min, después, un gradiente de 5 minutos hasta 85 % de B; flujo: 15 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga, y después liofilización. El rendimiento del producto fue de 3,5 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 96 % usando "condiciones A y C del análisis de CLEM". *Condición A del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,39 min; IEN-EM(+) m/z 1078,7 (M+4H). *Condición C del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,63 min; IEN-EM(+) m/z 1078,5 (M+4H).

Preparación del Ejemplo 3623



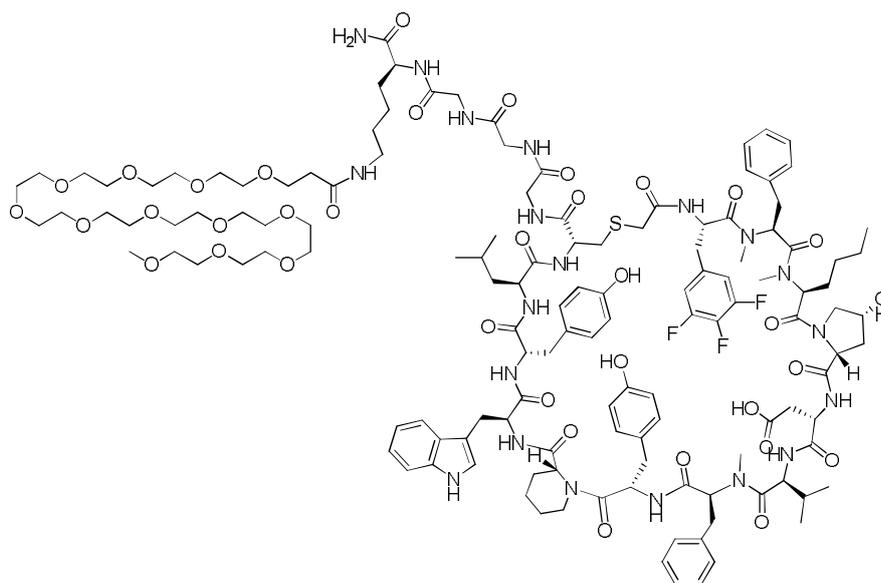
Ejemplo 3623

5

El Ejemplo 3623 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 3619, compuesta por los siguientes procedimientos: "Método A de CEM: procedimiento de expansión de resina", "Método A de CEM: procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de CEM: *procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida*", "*Procedimiento A de acoplamiento al ácido cloroacético*", "Método B de desprotección global" y "Método C de ciclación". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 19 x 250 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-60 % de B durante 25 min, después, un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrifuga, y después liofilización.

El rendimiento del producto fue de 28 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 98 % usando "condiciones D y E del análisis de CLEM". *Condición D del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,69 min; IEN-EM(+) m/z 1088,1 (M+2H). *Condición E del análisis de CLEM*: Tiempo de retención = 1,80 min; IEN-EM(+) m/z 1088,2 (M+2H). *IEN-HRMS(+)* m/z : Calculado: 1087,5070 (M+2H); Encontrado: 1087,5062 (M+2H).

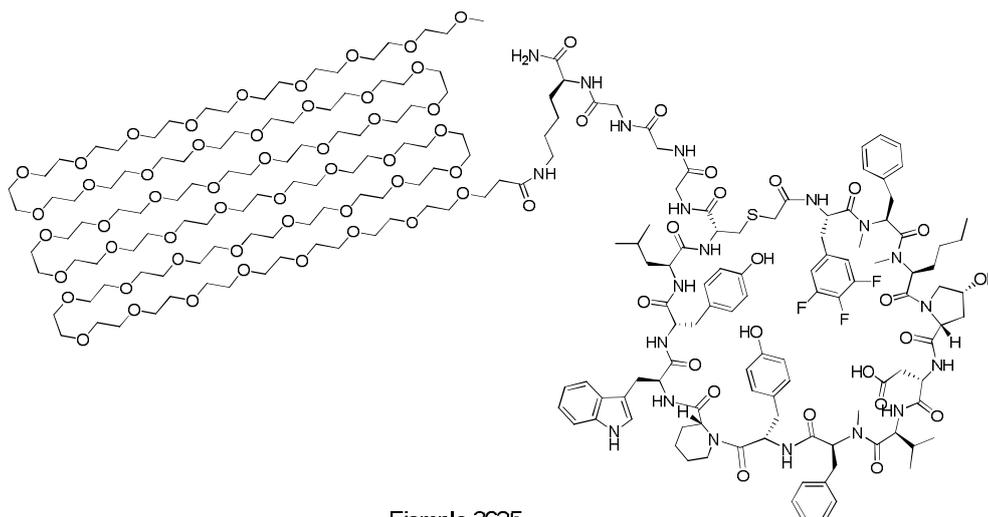
20 Preparación del Ejemplo 3624



Ejemplo 3624

El producto peptídico del Ejemplo 3623 (8,0 mg, 3,68 μmol) se disolvió en 100 μl de DMF. A esta solución se le añadieron 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxa-octatriacontanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2,78 mg, 4,05 μmol) y N,N-diisopropiletilamina (6,41 μl , 0,037 mmol). La solución se agitó durante 3 horas. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 19 x 250 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-60 % de B durante 25 min, después, un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,5 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 94 % usando "condiciones D y E del análisis de CLEM". Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,71 min; IEN-EM(+) m/z 1390,2 (M+2H+2H₂O); Condición E del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,89 min; IEN-EM(+) m/z 1372,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1372,6696 (M+2H); Encontrado: 1372,6729 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 3625

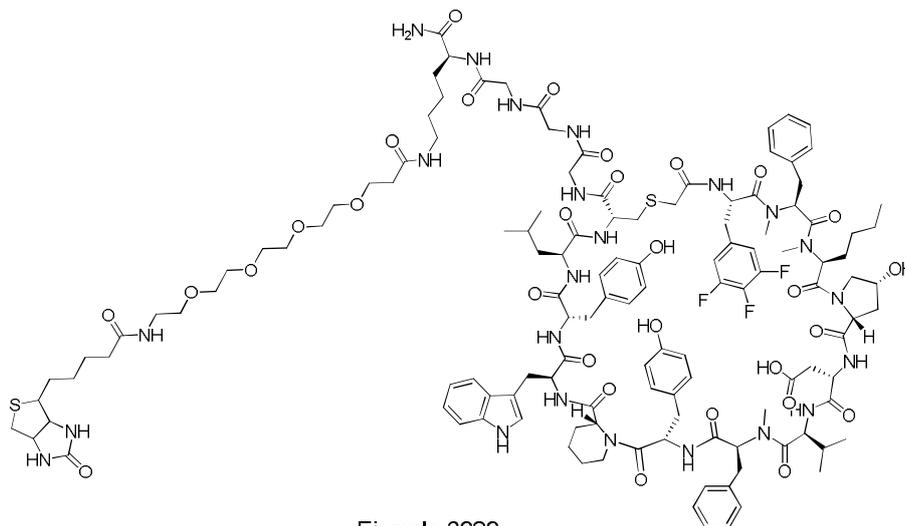


Ejemplo 3625

El producto peptídico del Ejemplo 3623 (8,0 mg, 3,68 μmol) se disolvió en 100 μl de DMF. A esta solución se le añadió 149-((2,5-dioxopirrolidin-1-ilo)oxi)-149-oxo-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86,89,92,95,98,101,104,107,110,113,116,119,122,125,128,131,134,137,140,143,146-nonatetracontaoxonatetracontahectanoato (9,38 mg, 4,05 μmol) y N,N-diisopropiletilamina (6,41 μl , 0,037 mmol). La solución se agitó durante 3 horas. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 19 x 250 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético;

gradiente: 10-60 % de B durante 25 min, después, un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,4 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 91 % usando "condiciones D y E del análisis de CLEM". *Condición D del análisis de CLEM:* Tiempo de retención = 1,76 min; IEN-EM(+) m/z 1112,0 (M+4H+4H₂O). *Condición E del análisis de CLEM:* Tiempo de retención = 1,91 min; IEN-EM(+) m/z 1094,8 (M+4H).

Preparación del Ejemplo 3626



10

Ejemplo 3626

El producto peptídico del Ejemplo 3623 (8,0 mg, 3,68 μ mol) se disolvió en 100 μ l de DMF. A esta solución se le añadieron 17-oxo-21-(2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)-4,7,10,13-tetraoxa-16-azahenicosan-1-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (2,382 mg, 4,05 μ mol) y N,N-diisopropiletilamina (6,41 μ l, 0,037 mmol). La solución se agitó durante 3 horas. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 19 x 250 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-60 % de B durante 25 min, después, un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,7 mg, y la pureza calculada mediante análisis de CLEM fue de 92 % usando "condiciones D y E del análisis de CLEM". *Condición D del análisis de CLEM:* Tiempo de retención = 1,65 min; IEN-EM(+) m/z 1323,8 (M+2H). *Condición E del análisis de CLEM:* Tiempo de retención = 1,81 min; IEN-EM(+) m/z 1324,6 (M+2H). *IEN-HRMS(+)* m/z : Calculado: 1324,1168 (M+2H) Encontrado: 1324,1180 (M+2H).

25 Datos analíticos:

Espectrometría de masa: "IEN-EM(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion positivo; "IEN-EM(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion negativo; "IEN-HRMS(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion positivo; "IEN-HRMS(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion negativo. Las masas detectadas se informan de acuerdo con la designación de unidad " m/z ". En general, los compuestos con masas exactas mayores de 1000 se detectaron como iones de doble carga o de triple carga.

35 Condición A de análisis:

Columna: Waters BEH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición B de análisis:

Columna: Waters BEH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición C de análisis:

- 5 Columna: Waters Aquity BEH C18 2,1 X 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: agua con 0,05 % de TFA; fase móvil B: acetonitrilo con 0,05 % de TFA; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición D de análisis:

- 10 Columna: Waters Aquity BEH C18 2,1 X 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: agua con 0,05 % de TFA; fase móvil B: metanol con 0,05 % de TFA; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Procedimientos generales:

15

Método A de Prelude:

- 20 Todas las manipulaciones se realizaron mediante automatización en un sintetizador de péptidos Prelude (Protein Technologies). A menos que se indique lo contrario, todos los procedimientos se realizaron en un tubo de polipropileno de 10 ml equipado con una frita en la parte inferior; en donde la escala de la reacción excedió los 0,100 mmol, se usó un tubo de polipropileno de 40 ml equipado con una frita en la parte inferior. El tubo se conecta con el sintetizador de péptidos Prelude a través de la parte inferior y superior del tubo. Se pueden añadir DMF y DCM a través de la parte superior del tubo, lo que produce el lavado parejo de los laterales del tubo. Los reactivos restantes se añaden a través de la parte inferior del tubo y se hacen pasar a través de la frita para entrar en contacto con la resina. Todas las soluciones se retiran a través de la parte inferior del tubo. La "agitación periódica" describe un impulso breve de gas de N₂ a través de la frita de la parte inferior; el impulso dura aproximadamente 5 segundos y se produce cada 30 segundos. Las soluciones de cloruro de cloroacetilo en DMF se usaron dentro de las 24 h de la preparación. En general, no se usaron soluciones de aminoácidos de más de tres semanas desde de la preparación. Se usaron soluciones HATU dentro de los 5 días de preparación. DMF = dimetilformamida; HATU = hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido; DIPEA = diisopropiletilamina; Rink = (2,4-dimetoxifenil)(4-alcoxilfenil)metanamina, en donde "4-alcoxi" describe la posición y el tipo de conectividad de la resina de poliestireno. A menos que se indique lo contrario, la resina usada es polímero Merrifield (poliestireno) con un ligador Rink (protegido por Fmoc en el nitrógeno); malla de 100-200, 1 % de DVB, 0,56 mmol/g de carga. Los aminoácidos comunes usados se enumeran a continuación con grupos protectores de cadenas laterales que se indican entre paréntesis. Fmoc-Ala-OH; Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Fmoc-Asn(Trt)-OH; Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Fmoc-Bzt-OH; Fmoc-Cys(Trt)-OH; Fmoc-Dab(Boc)-OH; Fmoc-Dap(Boc)-OH; Fmoc-Gln(Trt)-OH; Fmoc-Gly-OH; Fmoc-His(Trt)-OH; Fmoc-Hyp(tBu)-OH; Fmoc-Ile-OH; Fmoc-Leu-OH; Fmoc-Lys(Boc)-OH; Fmoc-Nle-OH; Fmoc-Met-OH; Fmoc-[N-Me]Ala-OH; Fmoc-[N-Me]Nle-OH; Fmoc-Phe-OH; Fmoc-Pro-OH; Fmoc-Sar-OH; Fmoc-Ser(tBu)-OH; Fmoc-Thr(tBu)-OH; Fmoc-Trp(Boc)-OH; Fmoc-Tyr(tBu)-OH; Fmoc-Val-OH.

40

- 45 Los procedimientos del "Método A de Prelude" describen un experimento realizado a una escala 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Rink unido a la resina. Esta escala corresponde aproximadamente a 178 mg de la resina Rink-Merrifield descrita anteriormente. Todos los procedimientos se pueden realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Antes del acoplamiento de los aminoácidos, todas las secuencias de síntesis de péptidos comenzaron con un procedimiento de expansión de resina, descrito a continuación como "procedimiento de expansión de resina". En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina primaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento simple" descrito a continuación. En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina secundaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento doble" descrito a continuación. El acoplamiento de cloroacetilcloruro al terminal N del péptido se describe mediante el "procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo" que se detalla a continuación.

50

Procedimiento de expansión de resina:

- 55 La resina se lavó (expandió) tres veces de la siguiente manera: al recipiente de reacción, se le añadió DMF (2,0 ml), después de lo cual la mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.

Procedimiento de acoplamiento simple:

- 60 Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente

65

DIPEA (0,8 M en DMF, 0,5 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de acoplamiento doble:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,8 M en DMF, 0,5 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,8 M en DMF, 0,5 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió DIPEA (0,8 M en DMF, 3,0 ml, 24 eq.), y después cloruro de cloroacetilo (0,8 M en DMF, 1,65 ml, 13,2 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 30 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH_2Cl_2 (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se colocó en un flujo de N_2 durante 15 minutos.

Método A de Symphony:

Este conjunto de procedimientos es idéntico al del "Método A de Prelude", a menos que se indique lo contrario. En todos los procedimientos, se usó un sintetizador de péptidos Symphony X (Protein Technologies) en lugar de un sintetizador de péptidos Prelude, y todos los reactivos se añadieron a través de la parte superior del recipiente de reacción.

Procedimiento de expansión de resina:

Este procedimiento es idéntico al "Método A de Prelude: Procedimiento de expansión de resina".

Procedimiento de acoplamiento simple:

Este procedimiento es idéntico al "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple", excepto en que la concentración de solución de DIPEA es de 0,4 M, y se añadió 1,0 ml de esta solución a la reacción.

Procedimiento de acoplamiento doble:

Este procedimiento es idéntico al "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento doble", excepto en que la concentración de solución de DIPEA es de 0,4 M, y se añadió 1,0 ml de esta solución a la reacción.

5

Procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo:

Este procedimiento es idéntico al "Método A de Prelude: Procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo".

10 *Método A de desprotección global:*

Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento del "Método A de desprotección global" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Rink unido a la resina. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Se preparó una "solución de desprotección" combinando, en un vial de vidrio de 40 ml, ácido trifluoroacético (22 ml), fenol (1,325 g), agua (1,25 ml) y triisopropilsilano (0,5 ml). La resina se retiró del recipiente de reacción y se transfirió a un vial de vidrio de 4 ml. Al vial se le añadió la "solución de desprotección" (2,0 ml). La mezcla se mezcló vigorosamente en un agitador (1000 RPM durante 1 minuto, después 500 RPM durante 1-2 horas). La mezcla se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,2 micrómetros, y los sólidos se extrajeron con la "solución de desprotección" (1,0 ml) o TFA (1,0 ml). A un tubo de ensayo de 24 ml cargado con los filtrados combinados, se le añadió Et₂O (15 ml). La mezcla se mezcló vigorosamente, después de lo cual una cantidad significativa de un sólido blanco precipitó. La mezcla se centrifugó durante 5 minutos, después la solución decantó de los sólidos y se descartó. Los sólidos se suspendieron en Et₂O (20 ml); después la mezcla se centrifugó durante 5 minutos; y la solución decantó de los sólidos y se descartó. Por última vez, los sólidos se suspendieron en Et₂O (20 ml); la mezcla se centrifugó durante 5 minutos; y la solución decantó de los sólidos y se descartó para obtener el péptido en bruto en forma de un sólido de color blanco a blancuzco.

15

20

25

Método A de ciclación:

Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento del "Método A de ciclación" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Rink unido a la resina que se usó para generar el péptido. Esta escala no se basa en una determinación directa de la cantidad de péptido usado en el procedimiento. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Los sólidos de péptido en bruto se disolvieron en MeCN:NH₄OAc 0,1 M acuoso (1:1) hasta obtener un volumen total de 18-22 ml, y después la solución se ajustó cuidadosamente a pH = 8,5-9,0 usando NaOH acuoso (1,0 M). Después, la solución se mantuvo sin agitación durante 12-18 h. La solución de reacción se concentró, y después el residuo se disolvió en DMSO:MeOH. Esta solución se sometió a purificación mediante HPLC de fase inversa para obtener el péptido cíclico deseado.

35

40

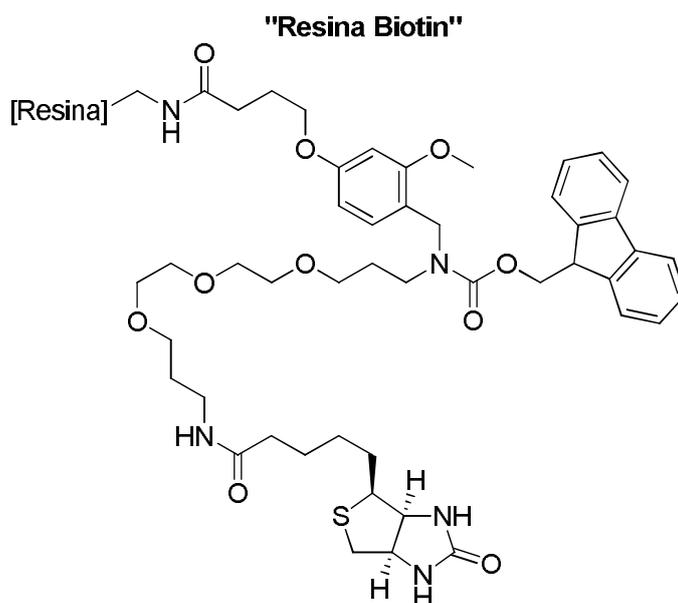
Secuencia de síntesis general A:

La "secuencia sintética generalA" describe una secuencia general de procedimientos que se usaron para obtener los péptidos cíclicos descritos en el presente documento. Para los fines de este procedimiento general, los procedimientos del "Método A de Symphony" son intercambiables por aquellos del "Método A de Prelude". A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 10 ml, se añadió "resina Biotin" (véase a continuación) (161 mg, 0,050 mmol), y el recipiente de reacción se colocó en el sintetizador de péptidos Prelude. Para los siguientes procedimientos, se usaron las mismas cantidades de reactivos descritas anteriormente para una escala de 0,100 mmol, si bien en esta secuencia sintética general la cantidad de resina utilizada corresponde a una escala de 0,050 mmol. Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de expansión de resina". Después se realizaron secuencialmente una serie de acoplamientos de aminoácidos en Prelude de acuerdo con el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" si el terminal N del péptido unido a resina era una amina primaria, o "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento doble" si el terminal N del péptido unido a resina era una amina secundaria. Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo"; después se siguió el "Método A de desprotección global"; después se siguió el "Método A de ciclación".

45

50

55

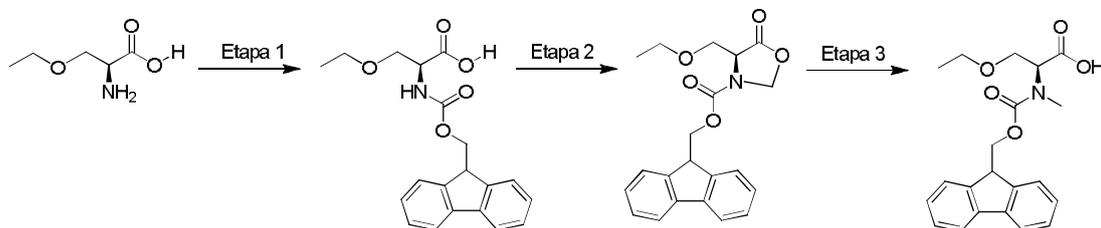


Resina = 0,31 mmol/g de carga
 1% DVB, malla de 100-200
 Ligador = Rink con Biotin-PEG
 CAS 1194054-19-7
 #8550550001 de Novabiochem

Secuencia de síntesis general B:

- 5 La "secuencia sintética general B" describe una secuencia general de procedimientos que se usaron para obtener los péptidos cíclicos descritos en el presente documento. Para los fines de este procedimiento general, los procedimientos del "Método A de Symphony" son intercambiables por aquellos del "Método A de Prelude". A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 10 ml, se le añadió resina Rink-Merrifield (178 mg, 0,100 mmol), y el recipiente de
- 10 reacción se colocó en el sintetizador de péptidos Prelude. Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de expansión de resina". Después se realizaron secuencialmente una serie de acoplamientos de aminoácidos en Prelude de acuerdo con el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento simple" si el terminal N del péptido unido a resina era una amina primaria, o "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento doble" si el terminal N del péptido unido a resina era una amina secundaria. Se siguió el "Método A de Prelude: procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo"; después se siguió el "Método A de desprotección global"; después se siguió el "Método A
- 15 de ciclación".

Preparación de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)(metil)amino)-3-etoxipropanoico



20 Etapa 1:

A una solución de ácido (S)-2-amino-3-etoxipropanoico (1,5 g, 11,3 mmol) en THF (38 ml) y agua (19 ml), se le añadieron bicarbonato de sodio (2,37 g, 28,2 mmol) y Fmoc-OSu (3,80 g, 11,3 mmol). La mezcla resultante se agitó

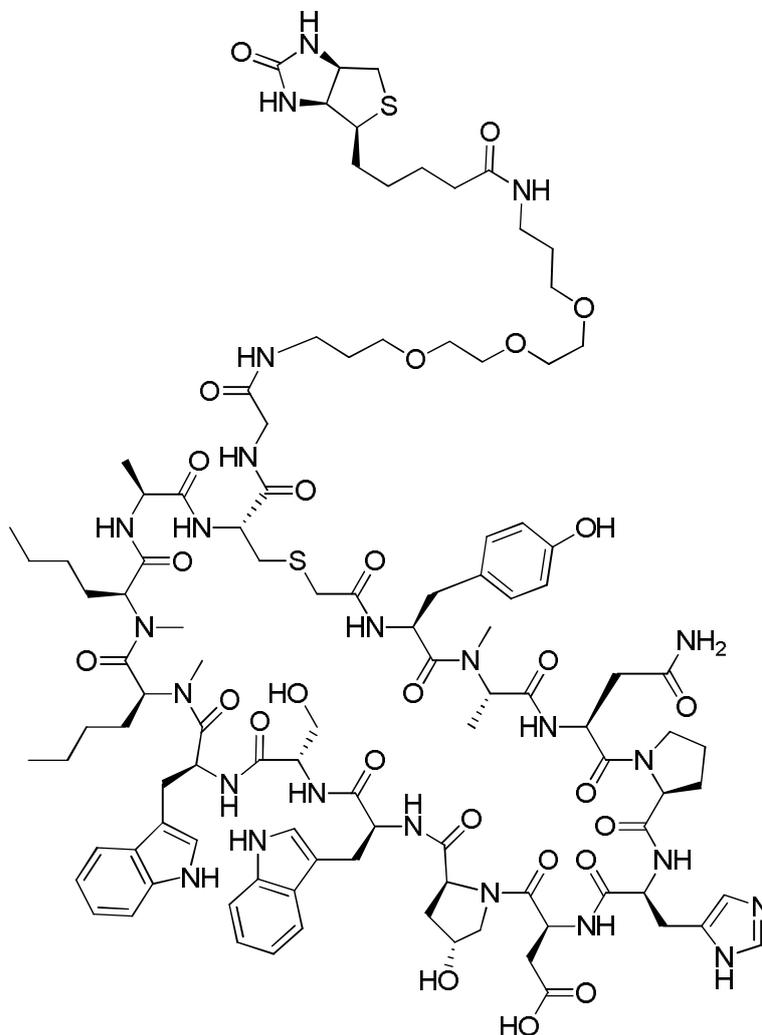
25 durante 16 h. Después de retirar el THF, el residuo se acidificó con HCl 1 N, se extrajo con acetato de etilo, se secó en Na₂SO₄, después se concentró para obtener ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-etoxipropanoico en forma de un sólido de color blanco, 3,6 g (90 %).

30 Etapa 2:

de análisis: Tiempo de retención = 2,83 min; IEN-EM(+) m/z 1171,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1170,5781; Encontrado: 1170,5776.

Preparación del Ejemplo 5002

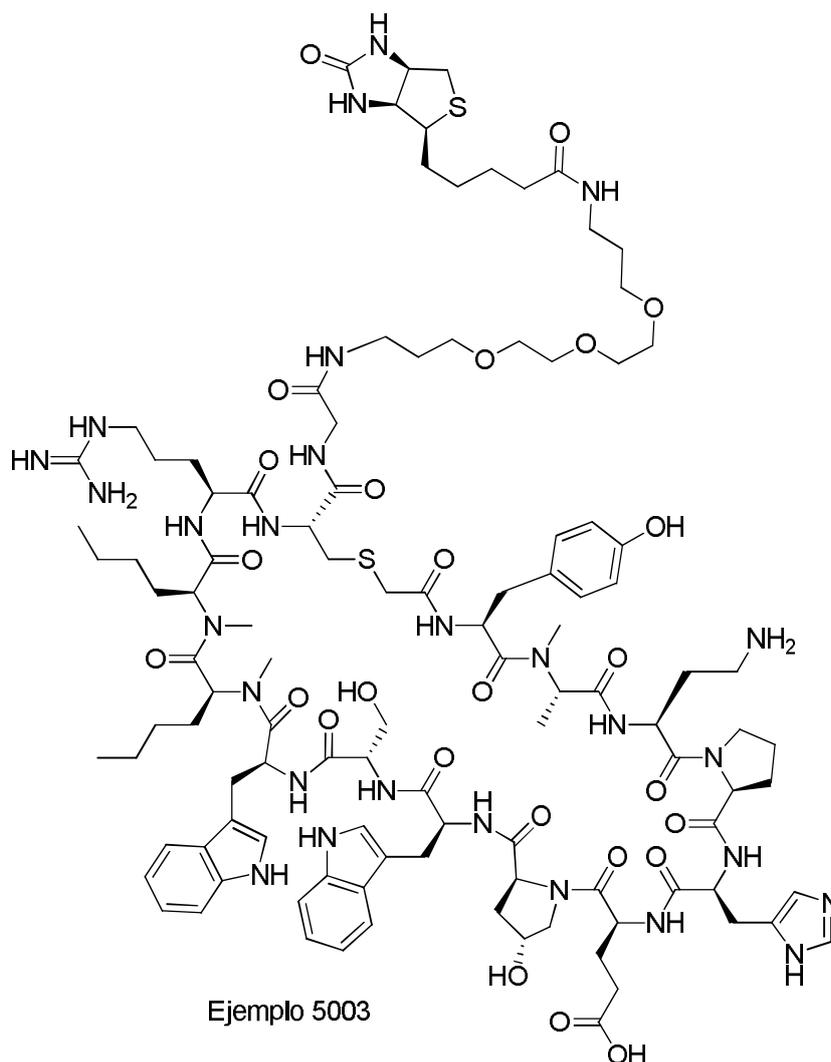
5



Ejemplo 5002

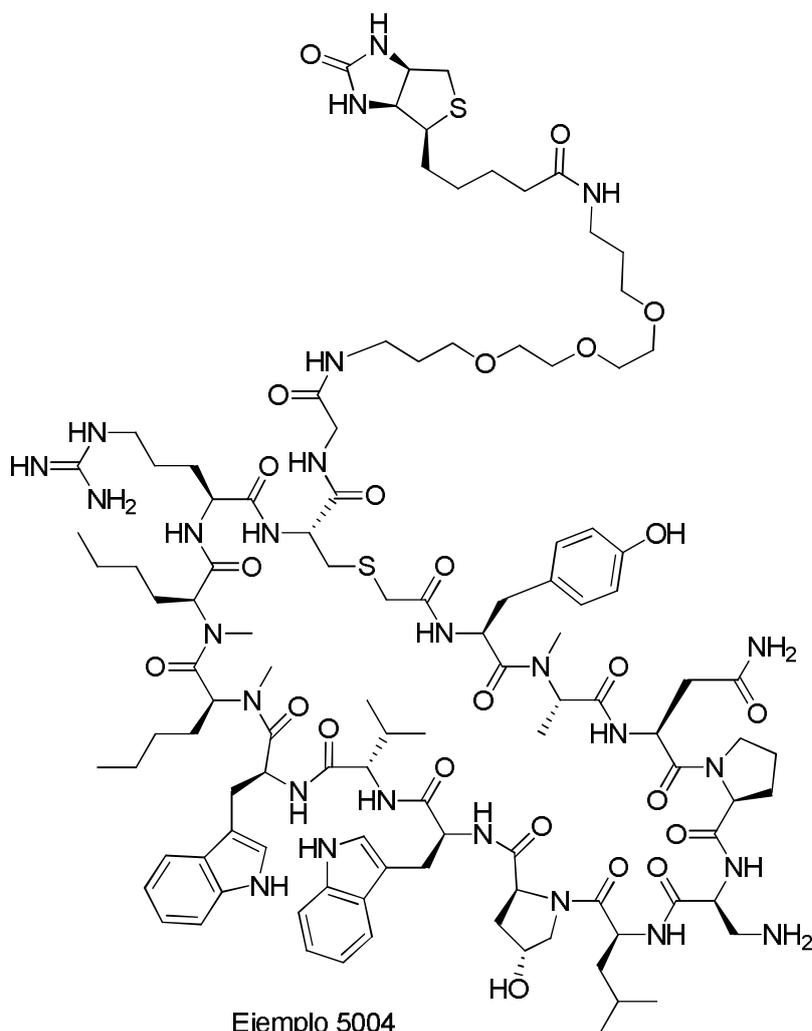
El Ejemplo 5002 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general A". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,42 min; IEN-EM(+) m/z 1128,8 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,57 min; IEN-EM(-) m/z 1126,8 (M-2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1128,5345 Encontrado: 1128,5349.

Preparación del Ejemplo 5003



- El Ejemplo 5003 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general A". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,44 min; IEN-EM(+) m/z 1172,4 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,55 min; IEN-EM(+) m/z 1172,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1171,0847; Encontrado: 1171,0862.

Preparación del Ejemplo 5004

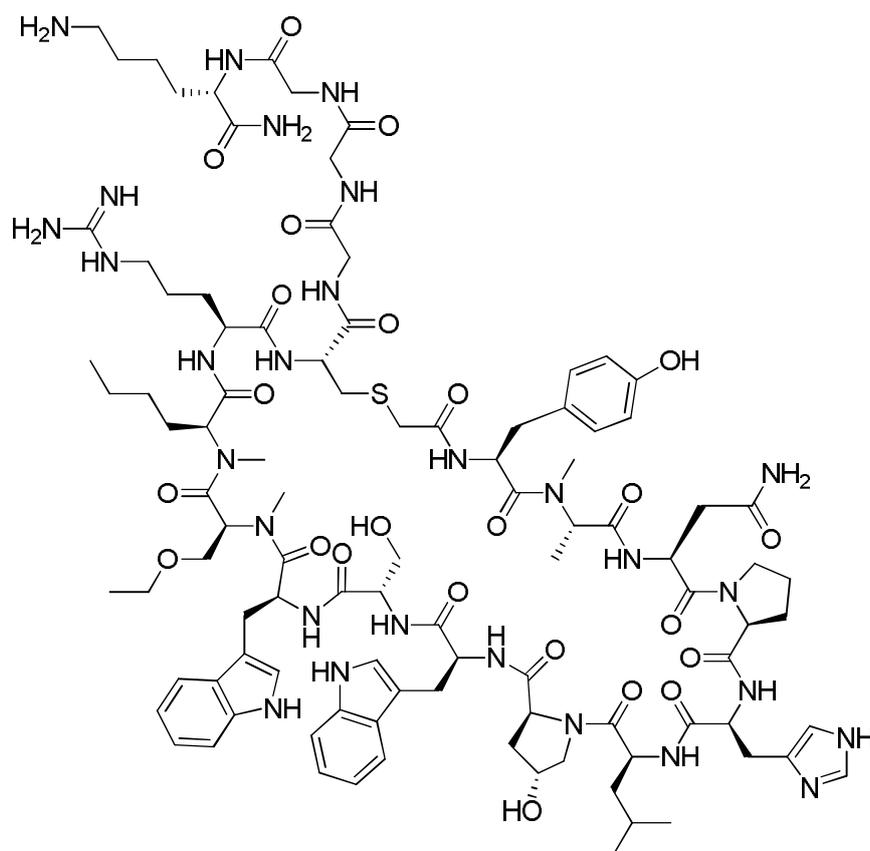


El Ejemplo 5004 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general A". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ;

5 fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,52 min; IEN-EM(+) m/z 1151,2 (M+2H); Condición B de

10 análisis: Tiempo de retención = 2,61 min; IEN-EM(+) m/z 1151,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1150,6078; Encontrado: 1150,6096.

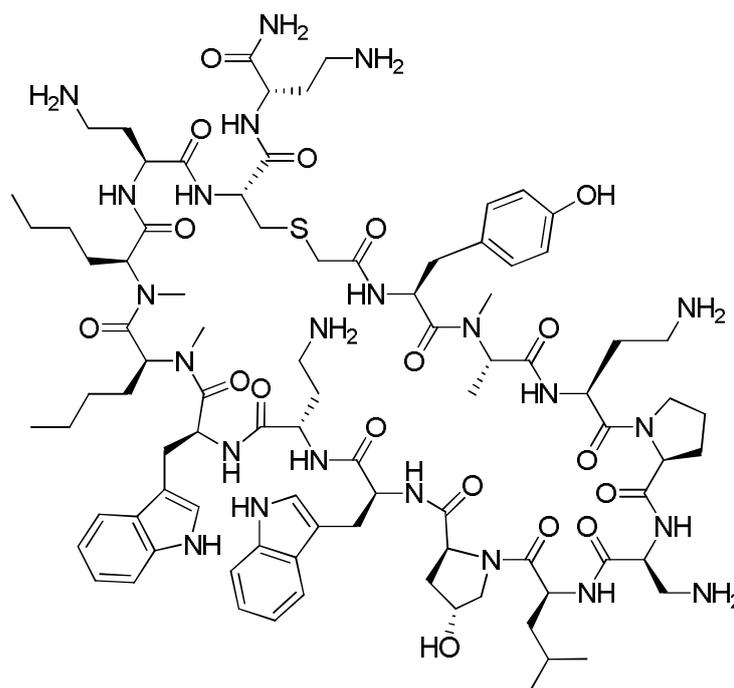
Preparación del Ejemplo 5006



Ejemplo 5006

- El Ejemplo 5006 se preparó de acuerdo con la "secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 26,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,32 min; IEN-EM(+) m/z 1078,3 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,42 min; IEN-EM(+) m/z 1078,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1077,5387 Encontrado: 1077,5396.

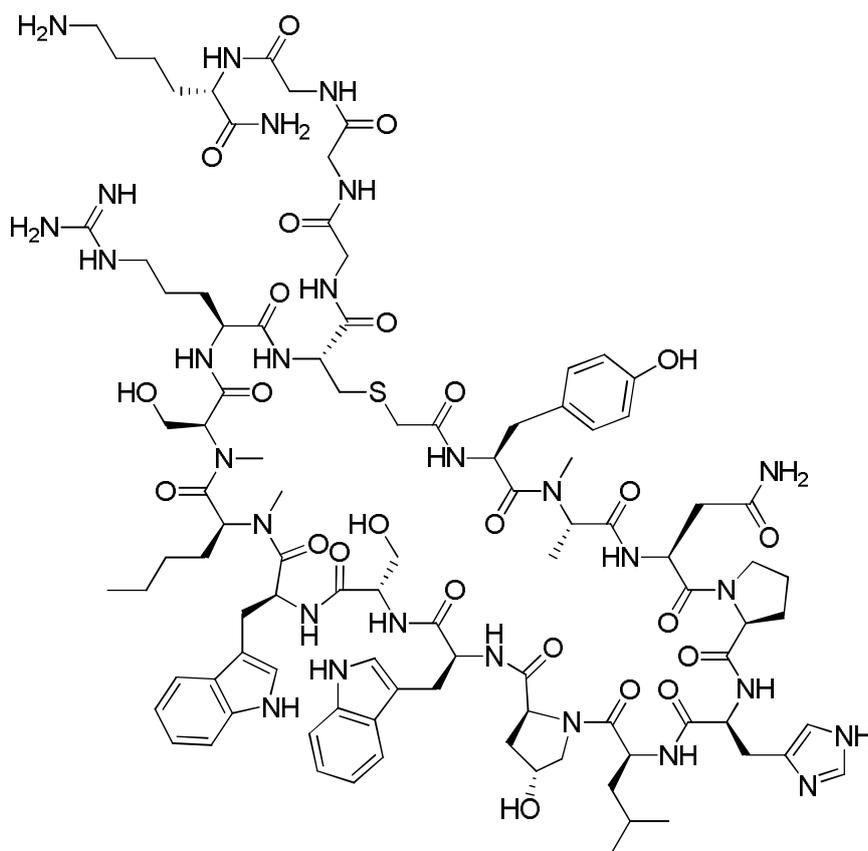
Preparación del Ejemplo 5007



Ejemplo 5007

- El Ejemplo 5007 se preparó de acuerdo con la "secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 36,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,10 min; IEN-EM(+) m/z 923,7 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,29 min; IEN-EM(+) m/z 923,7 (M+2H)

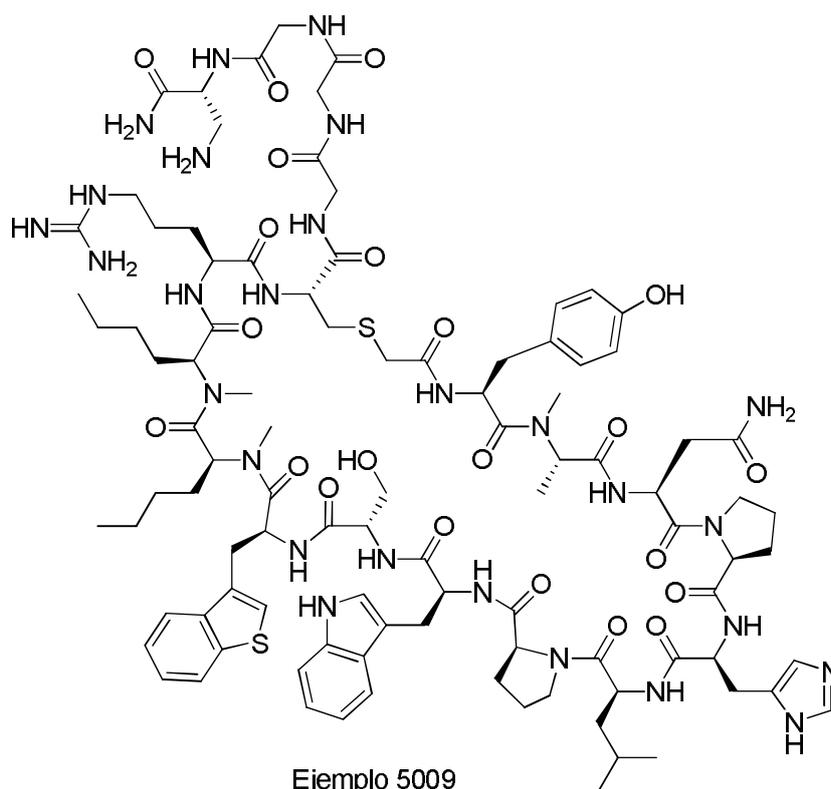
Preparación del Ejemplo 5008



Ejemplo 5008

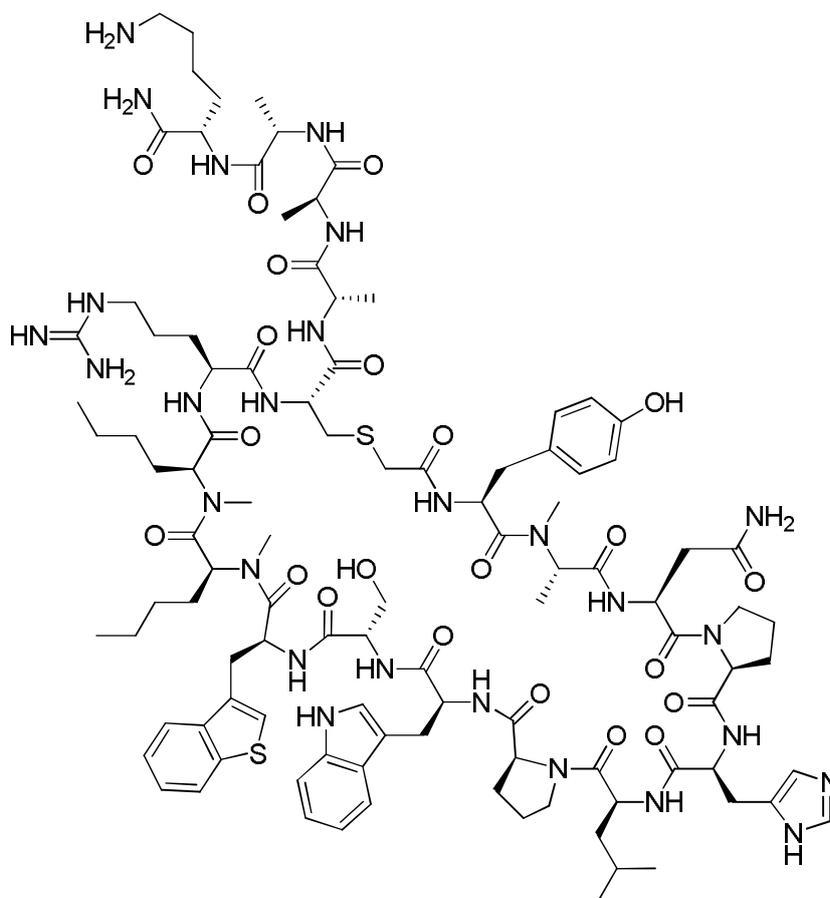
El Ejemplo 5008 se preparó de acuerdo con la "secuencia sintética general B" en una escala de 0,600 mmol. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 25-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 49,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,15 min; IEN-EM(+) m/z 1064,9 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,19 min; IEN-EM(+) m/z 1064,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1063,5231; Encontrado: 1063,5222.

Preparación del Ejemplo 5009



- El Ejemplo 5009 se preparó de acuerdo con la "secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 55-95 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %;
- 5 Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,60 min; IEN-EM(+) m/z 1057,4 (M+2H); Condición B de análisis:
- 10 Tiempo de retención = 2,81 min; IEN-EM(+) m/z 1056,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1056,0087; Encontrado: 1056,0069.

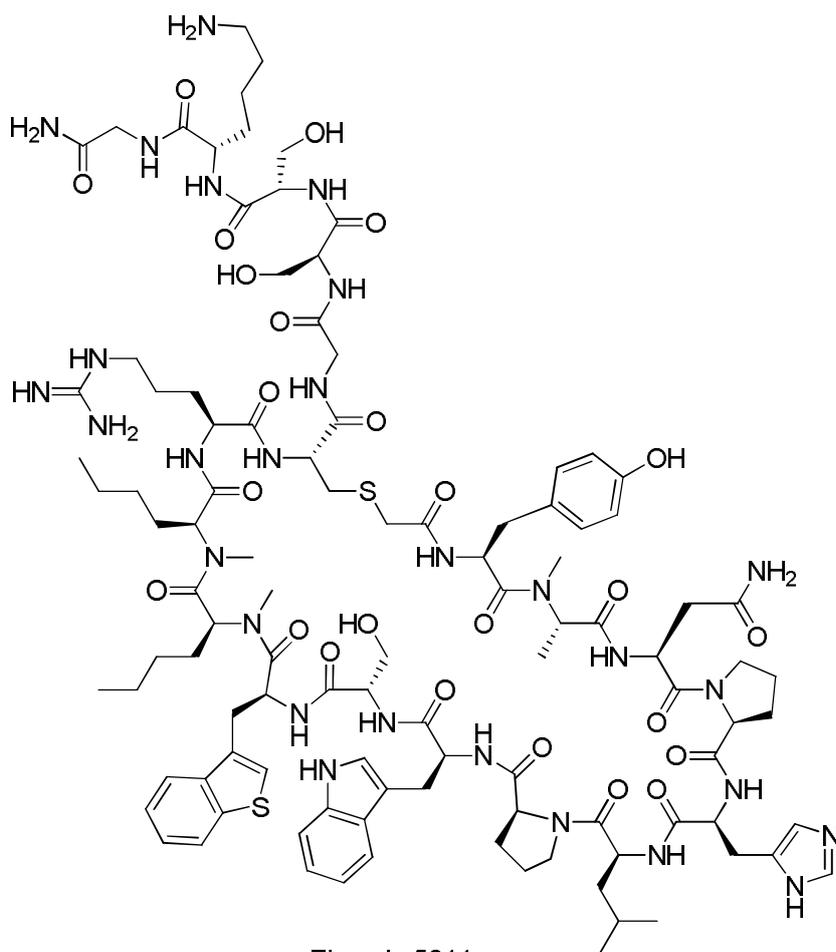
Preparación del Ejemplo 5010



Ejemplo 5010

- El Ejemplo 5010 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,58 min; IEN-EM(+) m/z 1098,7 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,76 min; IEN-EM(-) m/z 1096,6 (M-2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1098,0557; Encontrado: 1098,0554.

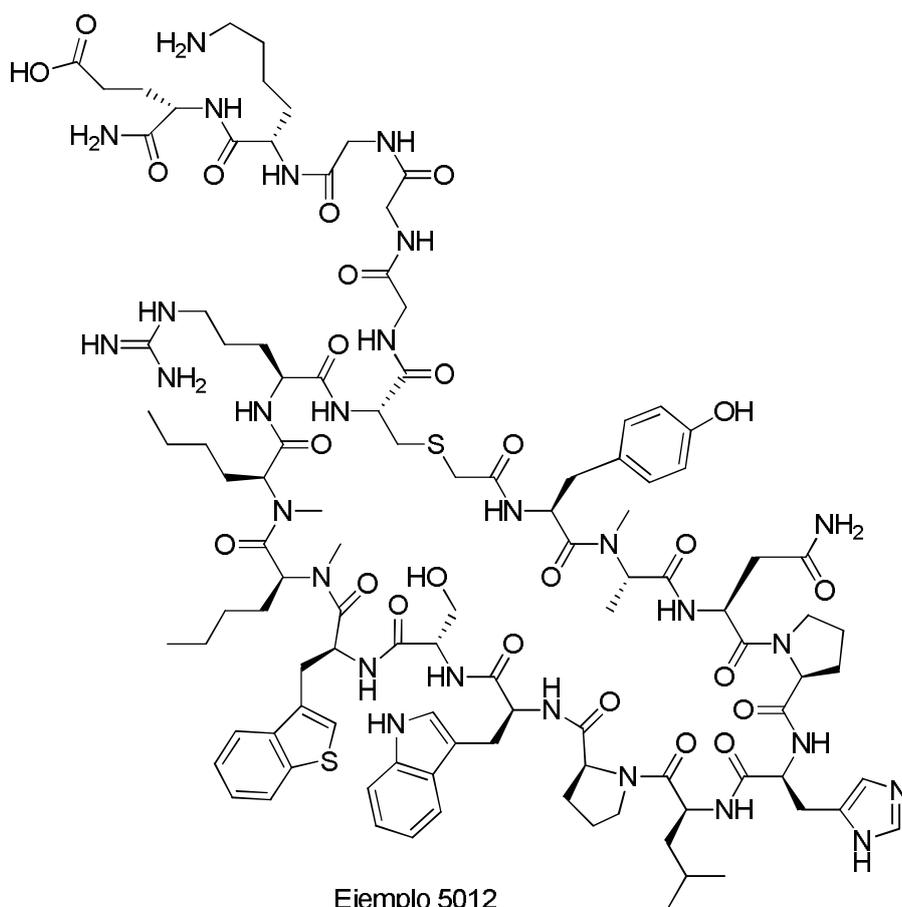
Preparación del Ejemplo 5011



Ejemplo 5011

El Ejemplo 5011 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,58 min; IEN-EM(+) m/z 1136,7 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,75 min; IEN-EM(-) m/z 1134,3 (M-2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1135,5535; Encontrado: 1135,5528.

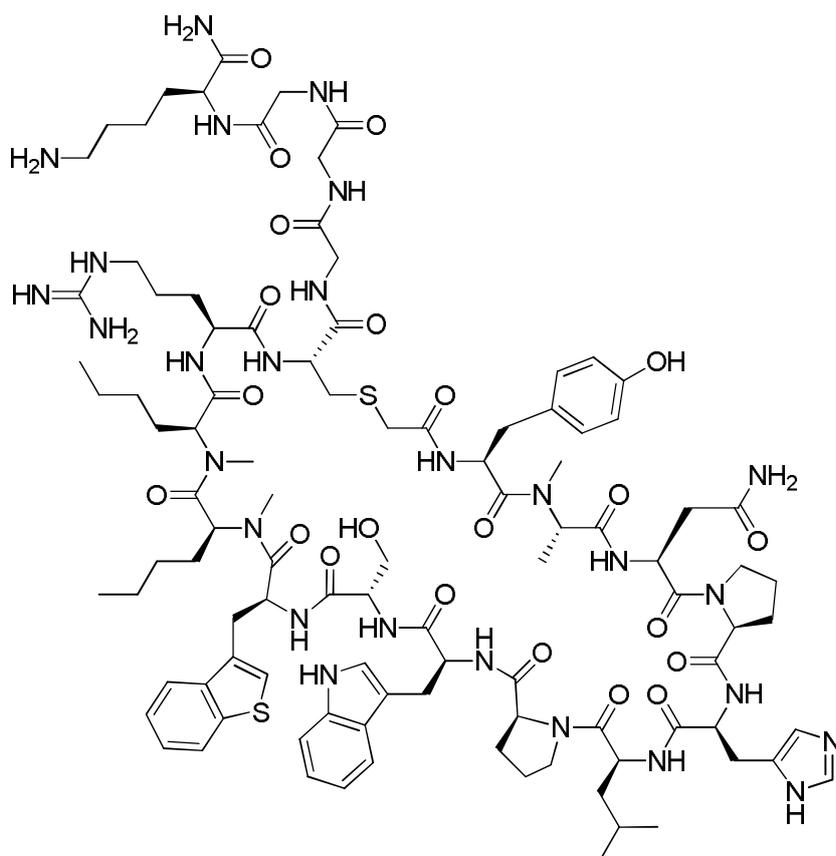
Preparación del Ejemplo 5012



El Ejemplo 5012 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil

- 5 A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-95 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 13,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,59 min; IEN-EM(-) m/z 1140,3 (M-2H); Condición B de
- 10 análisis: Tiempo de retención = 2,81 min; IEN-EM(+) m/z 1142,4 (M+2H; IEN-HRMS(+)) m/z: Calculado: 1141,5535 Encontrado: 1141,5539.

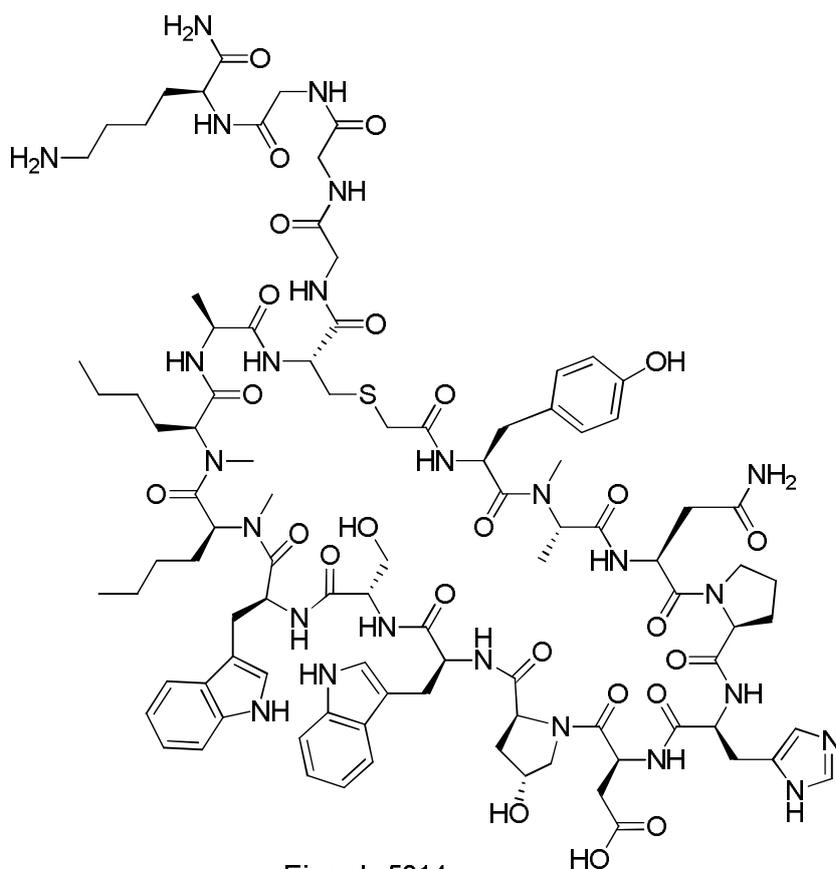
Preparación del Ejemplo 5013



Ejemplo 5013

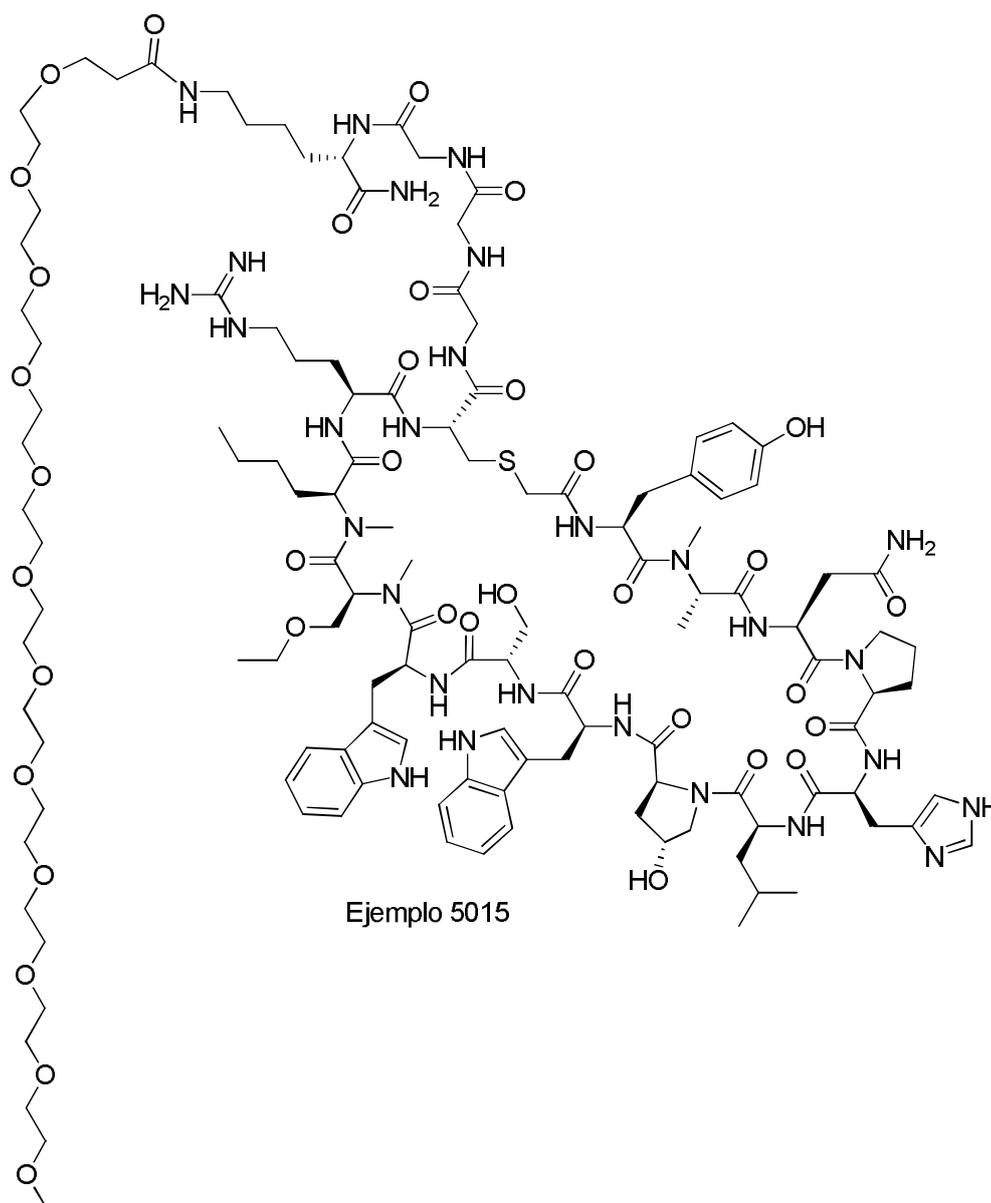
- El Ejemplo 5013 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,57 min; IEN-EM(-) m/z 1075,8 (M-2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,75 min; IEN-EM(+) m/z 1077,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1077,0322 Encontrado: 1077,0330.

Preparación del Ejemplo 5014



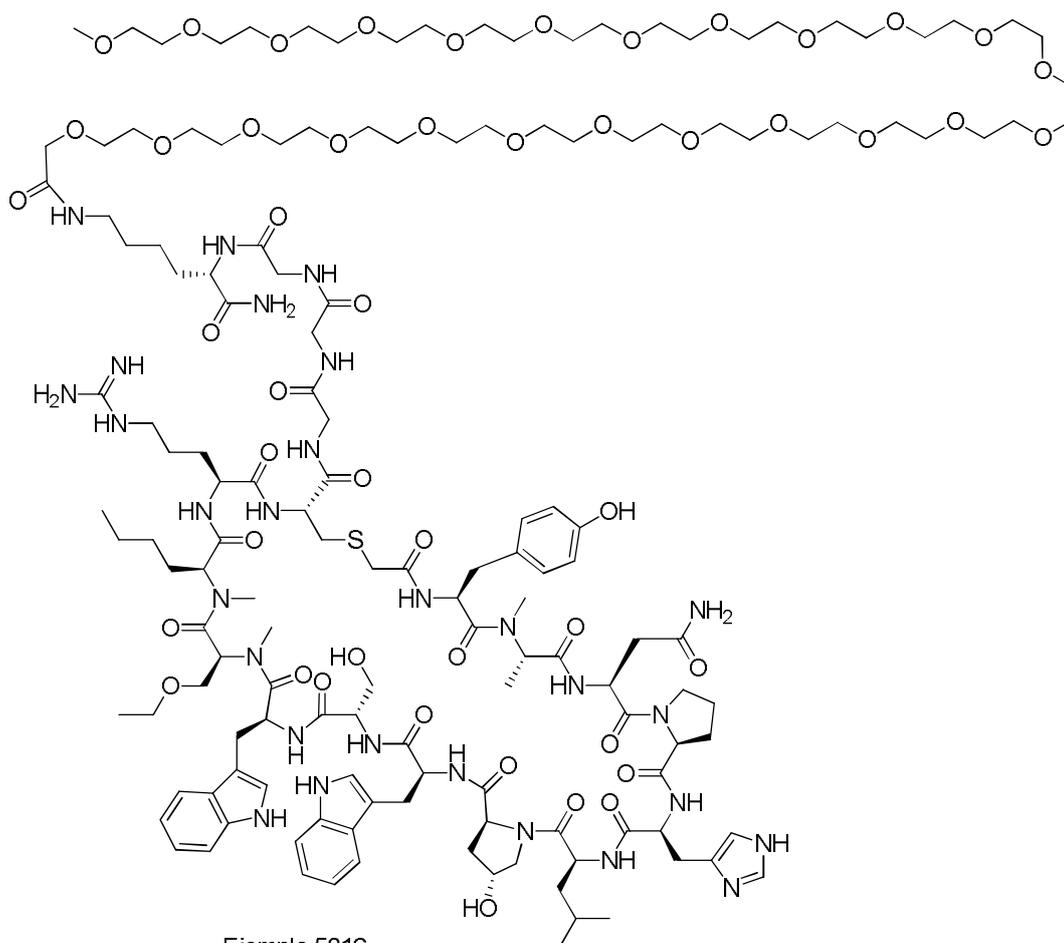
- El Ejemplo 5014 se preparó de acuerdo con la "Secuencia sintética general B". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,36 min; IEN-EM(+) m/z 1035,8 (M+2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,52 min; IEN-EM(-) m/z 1033,7 (M-2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1034,9885; Encontrado: 1034,9887.

Preparación del Ejemplo 5015



El Ejemplo 5015 se preparó de la siguiente manera: A un vial de 1 dram cargado con Ejemplo 5006 (5,8 mg, 2,7 μmol), se le añadió NMP seca. La mezcla se agitó hasta que se formó una solución homogénea. A la solución se le añadió DIPEA (0,025 ml, 0,143 mmol), después 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (3,5 mg, 5,1 μmol). El vial se colocó en un agitador que giraba a 500 rpm durante 30 minutos. La reacción se interrumpió activó mediante la adición de etanolamina (0,020 ml). El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,52 min; IEN-EM(-) m/z 1361,4 (M-2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,61 min; IEN-EM(-) m/z 1361,7 (M-2H).

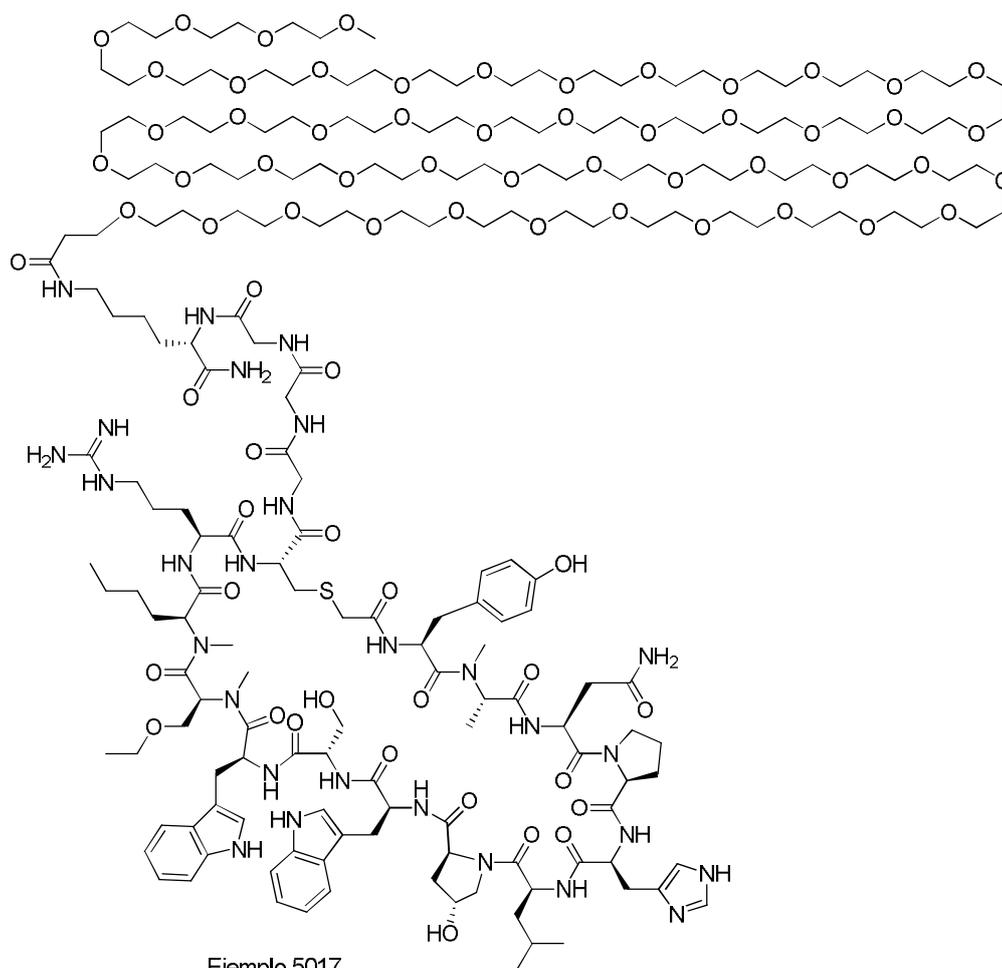
Preparación del Ejemplo 5016



Ejemplo 5016

El Ejemplo 5016 se preparó de la siguiente manera: A un vial de 1 dram cargado con Ejemplo 5006 (5,8 mg, 2,7 μmol), se le añadió NMP seca. La mezcla se agitó hasta que se formó una solución homogénea. A la solución se le añadió
 5 DIPEA (0,025 ml, 0,143 mmol), después 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatetraheptacontan-74-oato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (3,27 mg, 2,69 μmol). El vial se colocó en un agitador que giraba a 500 rpm durante 40 minutos. La reacción se interrumpió mediante la adición de etanolamina (0,020 ml). El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,55 min; IEN-EM(-) m/z 1625,4 (M-2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,67 min; IEN-EM(-) m/z 1625,7 (M-2H).

15 *Preparación del Ejemplo 5017*



- El Ejemplo 5017 se preparó de la siguiente manera: a un vial de 1 dram cargado con Ejemplo 5006 (5,8 mg, 2,7 μmol), se le añadió NMP seca. La mezcla se agitó hasta que se formó una solución homogénea. A la solución se le añadió
- 5 DIPEA (0,025 ml, 0,143 mmol), después 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71,74,77,80,83,86,89,92,95,98,101,104,107,110,113,116,119,122,125,128,131,134,137,140,143,146-nonatetracontaoxanonatetracontahectan-149-oato de 2,5-dioxipirrolidin-1-ilo (6,2 mg, 2,7 μmol). El vial se colocó en un agitador que giraba a 500 rpm durante 30 minutos. La reacción se inactivó mediante la adición de etanolamina (0,020 ml). El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención =
- 10 1,63 min; IEN-EM(+) m/z 882,5 (M+5H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,74 min; IEN-EM(+) m/z 882,6 (M+5H).
- 15

Preparación del Ejemplo 5018

recombinante en una célula o se puedan aislar de una fuente biológica. La síntesis química de un péptido macrocíclico de la presente divulgación se puede llevar a cabo usando una variedad de métodos reconocidos en el estado de la técnica, que incluyen la síntesis gradual en fase sólida, la semisíntesis mediante la religadura de fragmentos peptídicos asistida en forma conformacional, la ligadura enzimática de segmentos peptídicos clonados o sintéticos, y la ligadura química. Un método preferido para sintetizar los péptidos macrocíclicos y sus análogos descritos en el presente documento es la síntesis química en la que se emplean varias técnicas en fase sólida, tales como las descritas en Chan, W.C. et al., eds., *Fmoc Solid Phase Synthesis*, Oxford University Press, Oxford (2000); Barany, G. et al., *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 2: "Special Methods in Peptide Synthesis, Part A", pp. 3-284, Gross, E. et al., eds., Academic Press, Nueva York (1980); y en Stewart, J.M. et al., *Solid-Phase Peptide Synthesis*, 2.^a edición, Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984). La estrategia preferida se basa en el grupo Fmoc (9-fluorenilmetilmetiloxycarbonilo) para la protección temporal del grupo α -amino, en combinación con el grupo *tert*-butilo para la protección temporal de las cadenas laterales de aminoácidos (véase, por ejemplo, Atherton, E. et al., "The Fluorenylmethoxycarbonyl Amino Protecting Group", en *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 9: "Special Methods in Peptide Synthesis, Part C", pp. 1-38, Udenfriend, S. et al., eds., Academic Press, San Diego (1987).

Los péptidos se pueden sintetizar en etapas en un soporte polimérico insoluble (también denominado "resina") desde el terminal C del péptido. Una síntesis comienza al añadir el aminoácido del terminal C del péptido a la resina mediante la formación de una ligadura amida o éster. Esto permite la liberación final del péptido resultante como amida del terminal C o ácido carboxílico, respectivamente.

El aminoácido del terminal C y todos los otros aminoácidos que se usan en la síntesis deben tener sus grupos α -amino y funcionalidades de cadena lateral (de estar presentes) protegidas de manera diferencial, de manera que el grupo protector α -amino se puede retirar de manera selectiva durante la síntesis. El acoplamiento de un aminoácido se realiza mediante la activación de su grupo carboxilo como un éster activo y una reacción de éste con un grupo α -amino no bloqueado del aminoácido del terminal N unido a la resina. La secuencia de desprotección y acoplamiento del grupo α -amino se repite hasta que se ensambla la secuencia peptídica completa. Después se libera el péptido de la resina con la desprotección concomitante de las funcionalidades de la cadena lateral, usualmente en presencia de secuestrantes adecuados para limitar las cadenas laterales. El péptido resultante se purifica finalmente mediante HPLC de fase inversa.

En la síntesis de las resinas de peptidilo necesarias como precursores de los péptidos finales se emplean resinas poliméricas de poliestireno reticulado disponibles en el comercio (Novabiochem, San Diego, CA; Applied Biosystems, Foster City, CA). Los soportes sólidos preferidos son los siguientes: Resina 4-(2',4'-dimetoxifenil-Fmoc-aminometil)-fenoxiacetil-p-metil bencidrilamina (resina MBHA de amida Rink); 9-Fmoc-amino-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (resina de amida Sieber); 4-(9-Fmoc)aminometil-3,5-dimetoxifenoxi)valeril-aminometil-resina Merrifield (resina PAL), para carboxamidas del terminal C. El acoplamiento del primer aminoácido con los aminoácidos posteriores se puede lograr mediante el uso de ésteres activos HOBt, 6-Cl-HOBt o HOAt producidos de DIC/HOBt, HBTU/HOBt, BOP, PyBOP, o de DIC/6-Cl-HOBt, HCTU, DIC/HOAt o HATU, respectivamente. Los soportes sólidos preferidos son los siguientes: resina de cloruro de 2-clorotritilo y 9-Fmoc-amino-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (resina de amida Sieber) para los fragmentos peptídicos protegidos. La carga del primer aminoácido en la resina de cloruro de 2-clorotritilo se logra mejor haciendo reaccionar el aminoácido protegido por Fmoc con la resina en diclorometano y DIEA. Si fuese necesario, se puede añadir una pequeña cantidad de DMF para facilitar la disolución del aminoácido.

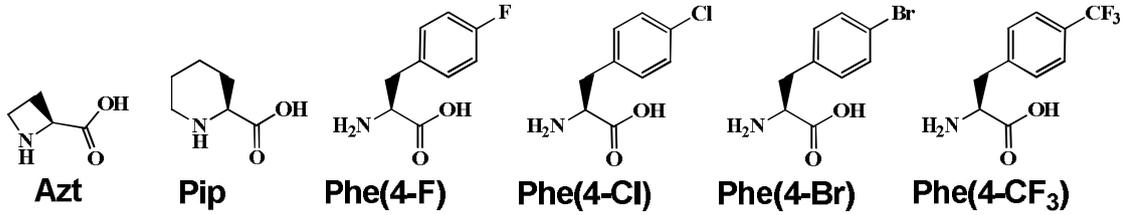
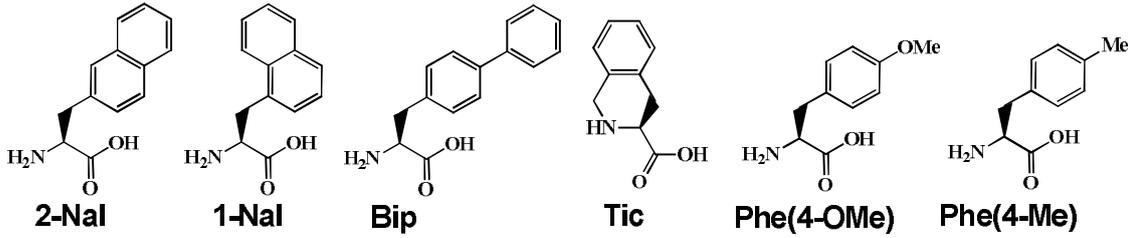
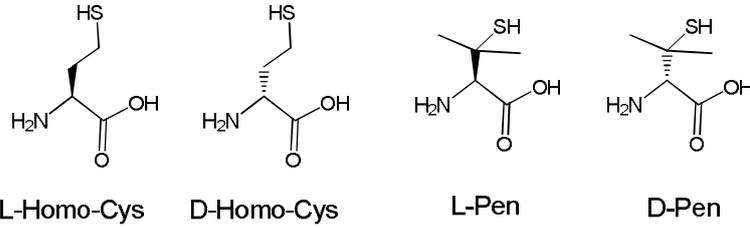
Las síntesis de los análogos peptídicos descritos en el presente documento se pueden realizar usando un sintetizador peptídico de un solo canal o de múltiples canales, tal como un sintetizador de microondas CEM Liberty, o un sintetizador Prelude (6 canales) o Symphony (12 canales) de Protein Technologies, Inc.

Los derivados de aminoácidos Fmoc útiles se muestran a continuación.

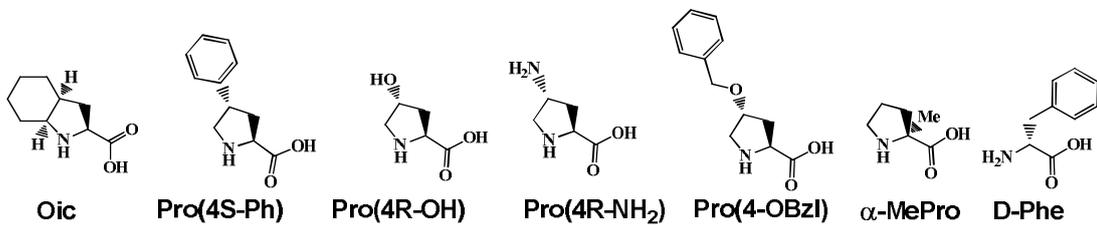
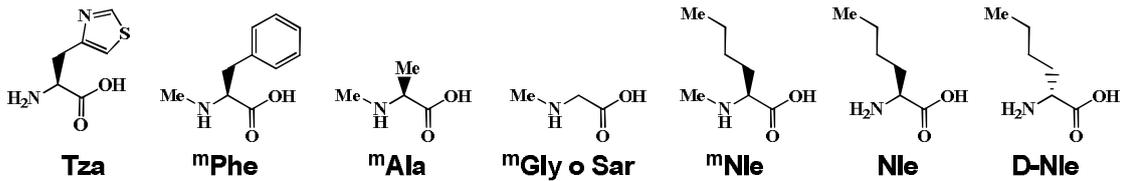
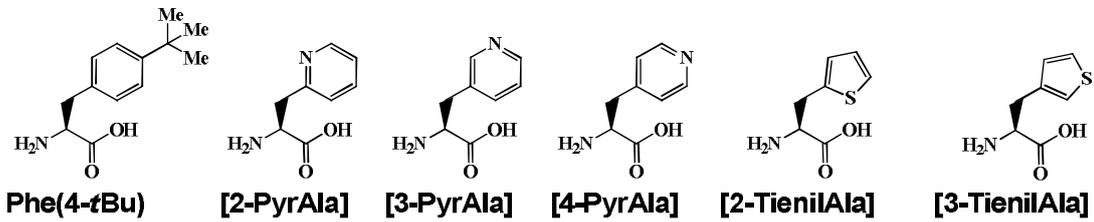
Ejemplos de aminoácidos protegidos ortogonalmente que se usan en la síntesis en fase sólida

documento.

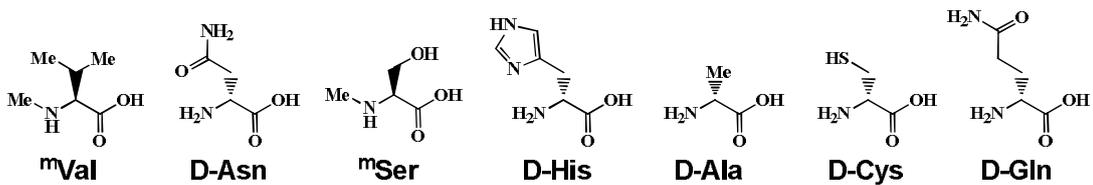
5

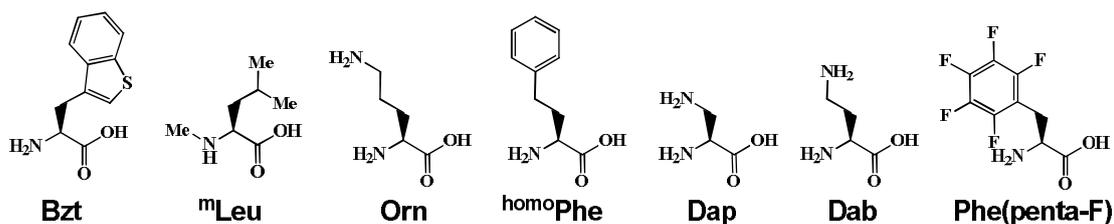


10



15





Las siguientes abreviaturas se utilizan en los Ejemplos y en otras secciones de la presente:

- 5 Ph = fenilo
 Bn = bencilo
 i-Bu = iso-butilo
 i-Pr = iso-propilo
 Me = metilo
- 10 Et = etilo
 Pr = n-propilo
 Bu = n-butilo
 t-Bu = *terc*-butilo
 Trt = tritilo
- 15 TMS = trimetilsililo
 TIS = triisopropilsilano
 Et₂O = dietiléter
 HOAc o AcOH = ácido acético
 MeCN o AcCN = acetonitrilo
- 20 DMF = N,N-dimetilformamida
 EtOAc = acetato de etilo
 THF = tetrahidrofurano
 TFA = ácido trifluoroacético
 TFE = α,α,α-trifluoroetanol
- 25 Et₂NH = dietilamina
 NMM = N-metilmorfolina
 NMP = N-metilpirrolidona
 DCM = diclorometano
 TEA = trietilamina
- 30 min = minuto(s)
 h = hora(s)
 l = litro
 ml = mililitro
 μl = microlitro
- 35 g = gramo(s)
 mg = miligramo(s)
 mol = mol
 mmol = milimol
 meq = miliequivalente
- 40 ta o TA = temperatura ambiente
 sat. = saturado
 ac. = acuoso
 pf = punto de fusión
- 45 reactivo de BOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris-dimetilamino-fosfonio (reactivo de Castro)
 reactivo de PyBOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidinofosfonio
 HBTU = hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
 HATU = hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
 HCTU = hexafluorofosfato de 2-(6-cloro-1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
 T3P = 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrisforinan-2,4,6-trióxido
- 50 DMAP = 4-(dimetilamino)piridina
 DIEA = diisopropiletilamina
 Fmoc o FMOC = fluorenilmetiloxycarbonilo
 Boc o BOC = *terc*-butiloxycarbonilo
 HOBT o HOBT•H₂O = hidrato de 1-hidroxibenzotriazol
- 55 Cl-HOBt = 6-cloro-benzotriazol
 HOAT = 1-hidroxi-7-azabenzotriazol
 HPLC = cromatografía de líquidos de alto rendimiento
 CL/EM = cromatografía de líquidos de alto rendimiento/espectrometría de masas
 EM o espec. de masas = espectrometría de masas

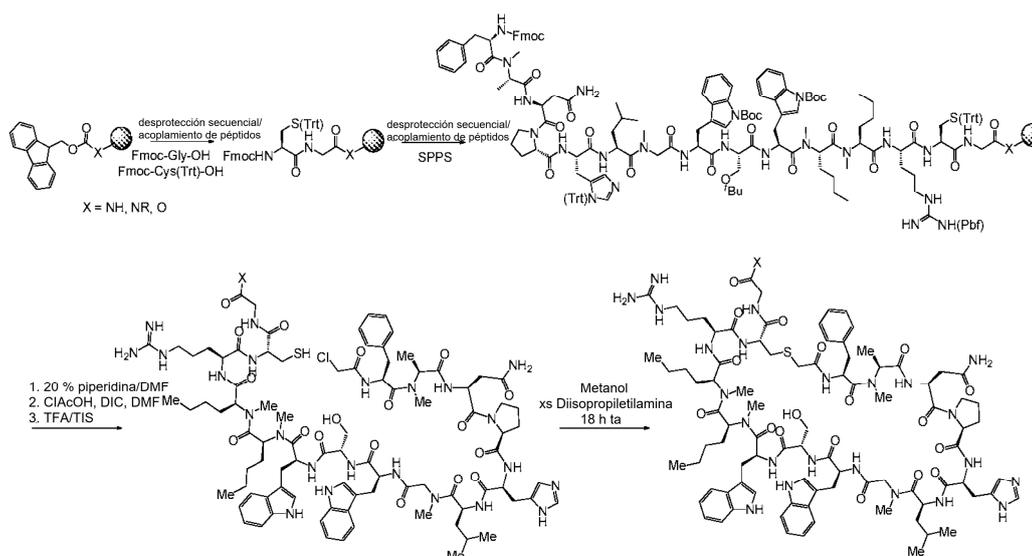
NMR = resonancia magnética nuclear
 Sc o SC = subcutáneo
 IP o ip = intraperitoneal

5 Ejemplos

EJEMPLO 0001 - SÍNTIENS DE PÉPTIDOS EN FASE SÓLIDA Y CICLIZACIÓN DE PÉPTIDOS

10 Los procedimientos descritos en este ejemplo, ya sea en su totalidad o en parte, se usaron para sintetizar los péptidos macrocíclicos que se muestran en las Tablas 1, 2, 3, 4 y 5.

ESQUEMA 1 - MÉTODO DE SÍNTIENS COMÚN QUE SE USA PARA LOS PÉPTIDOS CICLIZADOS POR TIOÉTER



15 Protocolo general para la síntesis de péptidos en fase sólida y macrociclización En un sintetizador de péptidos Symphony (Protein Technology Inc. Tucson, AZ), sintetizador de péptidos Prelude (Protein Technology Inc. Tucson, AZ) o Liberty (CEM Matthews, NC), la resina de amida Sieber (0,71 mmol/g, 0,100 mmol, 141 mg) se expandió con DMF (7 ml x 4 min) y se mezcló con un flujo suave de N₂ cada 30 segundos. El disolvente drenó, y se usó el siguiente método para acoplar el primer aminoácido: el grupo Fmoc se retiró del bloque de construcción soportado por la resina lavando la resina dos veces con una solución de 20 % de piperidina en DMF (5 ml y 2,5 minutos por lavado) y mezclándola con un flujo suave de N₂ cada 30 segundos. La resina se lavó tres veces con DMF (5-8 ml y 1,5 min por lavado). Se añadió ácido 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)acético (solución 0,2 M en DMF, 0,5 mmol), y después activador de acoplamiento (es decir, HATU (Intermediario I de Chem-Impex, solución 0,4 M en DMF, 1,25 ml, 0,5 mmol)) y una base (es decir, N-metilmorfolina (Aldrich, 0,8 M en DMF, 1,25 ml, 1 mmol)). La mezcla de reacción se agitó mediante un flujo suave de nitrógeno durante 1 h. Los reactivos drenaron del recipiente de reacción, y la resina se lavó tres veces con DMF (5 ml x 1,5 min). Cabe destacar que los reactivos típicos de Liberty CEM fueron los siguientes: HCTU (0,45 M en DMF) como activador de acoplamiento, DIEA (2 M en NMP) como base, y 5 % de piperazina en DMF con HOBt 0,1 M como solución de desprotección.

20 Después el dipéptido resultante protegido por Fmoc soportado por la resina se desprotegió secuencialmente y se acopló al tercer aminoácido y así sucesivamente en forma repetitiva para obtener el producto deseado soportado por la resina.

35 El análisis de CLEM se realizó en una alícuota de péptido, que se escindió de la resina (la cantidad analítica se trató con una solución TFA/TIS (96:4) (0,2 ml) a temperatura ambiente). Después de la confirmación de la secuencia lineal deseada, el grupo Fmoc se retiró del terminal N después de lavar la resina dos veces con una solución de piperidina al 20 % en DMF (5 ml y 2,5 minutos por lavado), y se agitó la suspensión por vórtice. La resina se lavó con DMF (2 x 5 ml). Al péptido-resina, se le añadieron sucesivamente ácido 2-cloroacético (0,6 mmol, 57 mg), DMF (5,26 ml) y DIC (0,6 mmol, 93 µl). La nueva suspensión se agitó por vórtice durante 1-2 días, después de lo cual el péptido-resina se lavó con DMF (1 x 5 ml x 1 min) y DCM (3 x DCM x 1 min).

45 El péptido se desprotegió y se escindió de la resina al momento del tratamiento con una solución de TFA/TIS (96:4) (10 ml) durante 1 h. La resina se retiró mediante filtración, se lavó con un cóctel de escisión (2 x 1 ml), los filtrados combinados se añadieron a Et₂O (10-15 ml), y la solución se enfrió a 0 °C, a fin de que el péptido precipitara de la solución. La suspensión se centrifugó para convertir los sólidos en pelets, y el sobrenadante decantó. Se añadió Et₂O

recientemente preparado (25 ml), y el proceso se repitió tres veces para lavar los sólidos. A los sólidos húmedos, se le añadió una solución de NH_4HCO_3 0,1 M/acetonitrilo (de 1/1 a 3/1 (v/v), pH = 8,6) o HCl de guanidina 6 M en 100 mM de NaH_2PO_4 (pH = 8,4). La solución se agitó durante 1-2 días y se controló mediante CLEM. La solución de reacción se purificó mediante HPLC preparativa para obtener el producto deseado.

5

PROTOCOLOS ANALÍTICOS GENERALES Y MÉTODOS DE SÍNTIENS

Datos analíticos:

- 10 Espectrometría de masa: "IEN-EM(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion positivo; "IEN-EM(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion negativo; "IEN-HRMS(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion positivo; "IEN-HRMS(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion negativo. Las masas detectadas se informan de acuerdo con la designación de unidad "m/z". En general, los compuestos con masas exactas mayores de 1000 se detectaron como iones de doble carga o de triple carga.

15

Procedimientos generales:

20 *Método A de Symphony X:*

- Todas las manipulaciones se realizaron mediante automatización en un sintetizador de péptidos Symphony X (Protein Technologies). Todos los procedimientos se realizaron en un tubo de polipropileno de 10 ml equipado con una frita en la parte inferior. El tubo se conecta con el sintetizador de péptidos Symphony X a través de la parte inferior y superior del tubo. Se pueden añadir DMF y DCM a través de la parte superior del tubo, lo que produce el lavado parejo de los laterales del tubo. Los reactivos restantes se añaden a través de la parte inferior del tubo y se hacen pasar a través de la frita para entrar en contacto con la resina. Todas las soluciones se retiran a través de la parte inferior del tubo. La "agitación periódica" describe un impulso breve de gas de N_2 a través de la frita de la parte inferior; el impulso dura aproximadamente 5 segundos y se produce cada 30 segundos. Las soluciones de cloruro de cloroacetilo en DMF se usaron dentro de las 24 h de la preparación. En general, no se usaron soluciones de aminoácidos de más de tres semanas desde de la preparación. Se usaron soluciones HATU dentro de los 5 días de preparación. DMF = dimetilformamida; HATU = hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido; DIPEA = diisopropiletilamina; Rink = (2,4-dimetoxifenil)(4-alcoxifenil)metanamina, en donde "4-alcoxi" describe la posición y el tipo de conectividad de la resina de poliestireno. La resina usada es polímero Merrifield (poliestireno) con un ligador Rink (protegido por Fmoc en el nitrógeno); malla de 100-200, 1 % de DVB, 0,56 mmol/g de carga. Los aminoácidos comunes usados se enumeran a continuación con grupos protectores de cadenas laterales que se indican entre paréntesis.

25

30

35

40

Fmoc-Ala-OH; Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Fmoc-Asn(Trt)-OH; Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Fmoc-Bzt-OH; Fmoc-Cys(Trt)-OH; Fmoc-Dab(Boc)-OH; Fmoc-Dap(Boc)-OH; Fmoc-Gln(Trt)-OH; Fmoc-Gly-OH; Fmoc-His(Trt)-OH; Fmoc-Hyp(tBu)-OH; Fmoc-Ile-OH; Fmoc-Leu-OH; Fmoc-Lys(Boc)-OH; Fmoc-Nle-OH; Fmoc-Met-OH; Fmoc-[N-Me]Ala-OH; Fmoc-[N-Me]Nle-OH; Fmoc-Phe-OH; Fmoc-Pro-OH; Fmoc-Sar-OH; Fmoc-Ser(tBu)-OH; Fmoc-Thr(tBu)-OH; Fmoc-Trp(Boc)-OH; Fmoc-Tyr(tBu)-OH; Fmoc-Val-OH.

45

50

55

Procedimiento A de expansión de resina:

- A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 10 ml, se le añadió resina Merrifield:Rink (178 mg, 0,100 mmol). La resina se lavó (expandió) tres veces de la siguiente manera: al recipiente de reacción, se le añadió DMF (2,0 ml), después de lo cual la mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.

60

Procedimiento A de acoplamiento simple:

- 65 Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de

reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento A de acoplamiento doble:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de detención del terminal N de aminoácidos Symphony:

A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 10 ml, se le añadió resina Merrifield:Rink (178 mg, 0,100 mmol). La resina se lavó (expandió) tres veces de la siguiente manera: al recipiente de reacción, se le añadió DMF (2,0 ml), después de lo cual la mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.

Al recipiente de reacción que contenía la resina Rink de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cinco veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DCM (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la

solución drenara a través de la frita. La resina resultante se colocó en un flujo de nitrógeno durante 15 minutos.

Procedimiento A de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo:

5 Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió DIPEA (0,4 M en DMF, 4,0 ml, 16 eq), después cloruro de cloroacetilo (0,8 M en DMF, 1,50 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 30 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH₂Cl₂ (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se colocó en un flujo de N₂ durante 15 minutos.

20 *Procedimiento A de acoplamiento al ácido cloroacético:*

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el ácido cloroacético (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH₂Cl₂ (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente, y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se secó durante 5 minutos.

Método A de desprotección global:

Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento del "Método A de desprotección global" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina en función de la cantidad de ligador Rink unido a la resina. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Se preparó una "solución de desprotección" combinando, en un vial de vidrio de 40 ml, ácido trifluoroacético (22 ml), fenol (1,325 g), agua (1,25 ml) y triisopropilsilano (0,5 ml). La resina se retiró del recipiente de reacción y se transfirió a un vial de vidrio de 4 ml. Al vial se le añadió la "solución de desprotección" (2,0 ml). La mezcla se mezcló vigorosamente en un agitador (1000 RPM durante 1 minuto, después 500 RPM durante 90 minutos). La mezcla se filtró a través de un tubo de polipropileno de 10 ml equipado con una frita en la parte inferior, que permitió la adición por goteo a un tubo de ensayo de 24 ml que contenía 15 ml de dietiléter, lo cual dio como resultado un precipitado blanco. Los sólidos (resina) en el tubo se extrajeron una vez con la "solución de desprotección" (1,0 ml), lo que permitió la adición por goteo al éter. La mezcla se centrifugó durante 7 minutos, después la solución decantó de los sólidos y se descartó. Los sólidos se suspendieron en Et₂O (20 ml); después la mezcla se centrifugó durante 5 minutos; y la solución decantó de los sólidos y se descartó. Por última vez, los sólidos se suspendieron en Et₂O (20 ml); la mezcla se centrifugó durante 5 minutos; y la solución decantó de los sólidos y se descartó para obtener el péptido en bruto en forma de un sólido de color blanco a blancuzco.

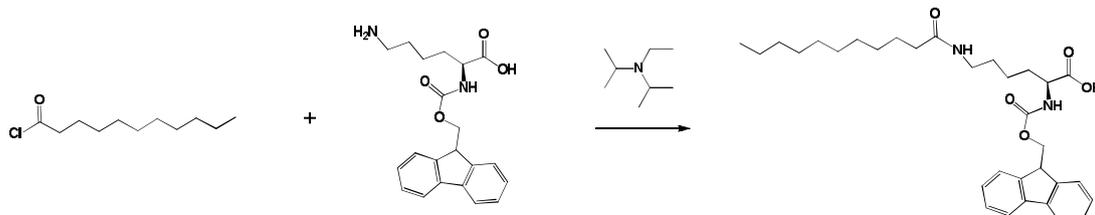
Método A de ciclación:

Todas las manipulaciones se realizaron de manera manual, a menos que se indique lo contrario. El procedimiento del "Método A de ciclación" describe un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador Rink unido a la resina que se usó para generar el péptido. Esta escala no se basa en una determinación directa de la cantidad de péptido usado en el procedimiento. El procedimiento se puede realizar a una escala superior a 0,100 mmol ajustando los volúmenes descritos por el múltiplo de la escala. Los sólidos de péptido en bruto se disolvieron en metanol (10 ml), y la solución después se ajustó cuidadosamente a pH = 9,0-11 usando N,N-diisopropilamina. La solución después se agitó durante 18-24 h. La solución de reacción se concentró, y el residuo después se disolvió en MeOH. Esta solución se sometió a purificación mediante HPLC de fase inversa para obtener el péptido cíclico deseado.

Condición A de análisis:

Columna: X-Bridge C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 8 minutos, después un mantenimiento de 1,0 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Preparación de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-undecanamido hexanoico

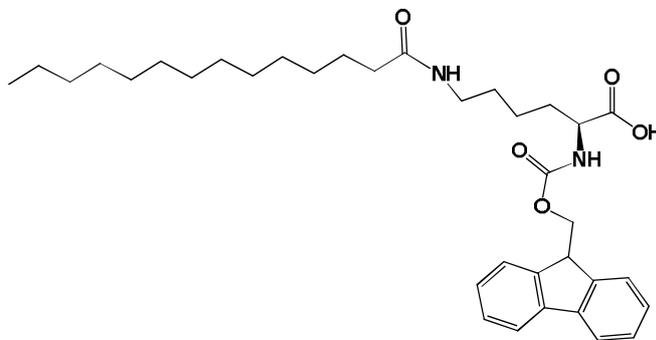


10

A un matraz de fondo redondo cargado con ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-aminohexanoico (2,5 g, 6,79 mmol), cloruro de undecanoilo (1,647 ml, 7,46 mmol) y diclorometano (27 ml), se le añadió N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (3,56 ml, 20,36 mmol). La suspensión inicial se tornó inmediatamente de color amarillo y, después, transparente. Después de 10 minutos, un sólido comenzó a precipitar. La reacción se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 20 ml de diclorometano y se vertió en solución saturada de cloruro de amonio. Las capas se separaron, y la capa acuosa se lavó con una solución al 20 % de metanol/cloroforno. Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para obtener un sólido de color amarillo pegajoso. El residuo resultante se sometió a cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0-5 % de metanol/diclorometano) para obtener ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-undecanamido hexanoico (2,81 g, 5,24 mmol, 77 % de rendimiento) como una espuma amarilla. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,80 - 7,71 (m, 2H), 7,63 - 7,52 (m, 2H), 7,39 (t, J=7,0 Hz, 2H), 7,34 - 7,27 (m, 2H), 4,49 - 4,29 (m, 2H), 4,27 - 4,14 (m, 1H), 3,24 (s a, 1H), 2,35 (t, J=7,5 Hz, 1H), 2,29 - 2,06 (m, 2H), 1,89 (s a, 1H), 1,86 - 1,72 (m, 1H), 1,72 - 1,63 (m, 1H), 1,62 - 1,46 (m, 4H), 1,39 - 1,14 (m, 18H), 0,92 - 0,86 (m, 3H).

15

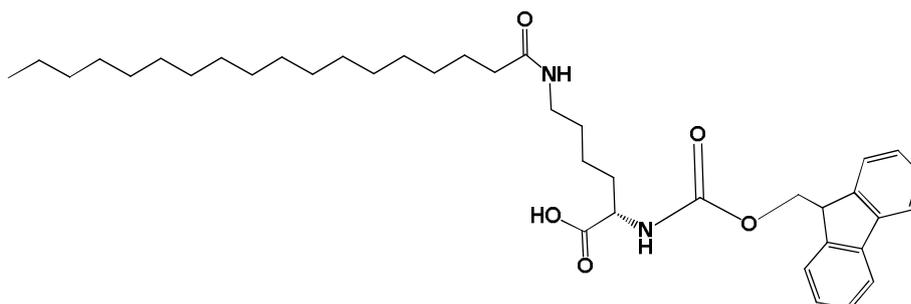
Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-tetradecanamido hexanoico



30 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,88 (dd, J=7,2, 4,1 Hz, 2H), 7,77 - 7,69 (m, 2H), 7,44 - 7,37 (m, 2H), 7,35 - 7,28 (m, 2H), 4,29 - 4,17 (m, 2H), 3,95 - 3,84 (m, 1H), 3,63 - 3,52 (m, 1H), 3,10 (q, J=7,4 Hz, 1H), 3,05 - 2,94 (m, 2H), 2,01 (t, J=7,4 Hz, 2H), 1,46 (d, J=6,8 Hz, 3H), 1,34 (dd, J=13,1, 5,0 Hz, 3H), 1,24 - 1,20 (m, 22H), 0,86 - 0,82 (m, 3H)

Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-estearamido hexanoico

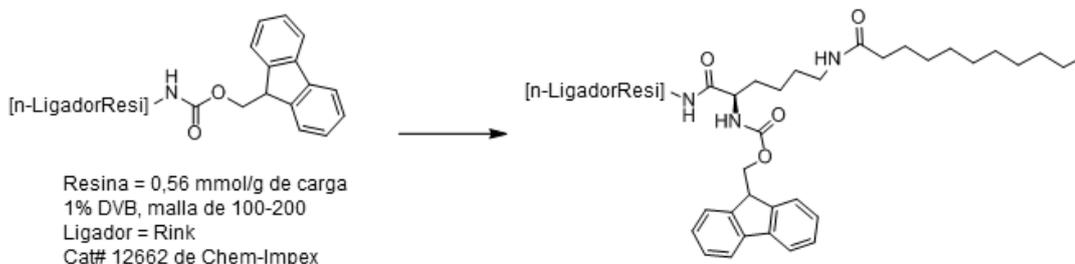
35



RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,92 - 7,84 (m, 2H), 7,72 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,44 - 7,36 (m, 2H), 7,36 - 7,26 (m, 2H), 4,35 - 4,22 (m, 2H), 4,20 (d, J=7,5 Hz, 1H), 3,94 - 3,85 (m, 1H), 3,00 (s a, 2H), 2,17 (t, J=7,4 Hz, 1H), 2,09 - 1,91 (m, 1H), 1,69 (d, J=6,8 Hz, 1H), 1,65 - 1,51 (m, 1H), 1,46 (d, J=7,0 Hz, 2H), 1,34 (dd, J=13,1, 5,0 Hz, 2H), 1,24 - 1,19 (m, 30H), 0,87 - 0,82 (m, 3H).

5

Preparación de resina Rink modificada A



- 10 Un vial de centelleo de 20 ml se cargó con resina Merrifield Rink (0,56 mmol/g de carga) (1,0 g, 0,560 mmol). La resina se expandió en 5 ml de DMF durante 10 minutos. Se añadió una solución de 8 ml de una solución 20:80 de piperidina:DMF, y la suspensión resultante se agitó en el miniagitador durante 2 horas. La resina se aisló transfiriendo el contenido del vial a un tubo de reacción de polipropileno de 10 ml y filtrándolo mediante filtración al vacío. La resina se lavó con 30 ml de DMF y después con 30 ml de diclorometano y, por último, con 5 ml de dietiléter. La resina se transfirió a un vial de 20 ml. Al vial que contenía la resina se le añadieron 5 ml de DMF para expandir la resina. Después de 10 minutos, se añadieron ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-undecanamido hexanoico (0,601 g, 1,120 mmol), hexafluorofosfato (V) de 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-il)-1,1,3,3-tetrametilisouronio 0,2 M en DMF (5,60 ml, 1,120 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina 0,4 M en DMF (5,60 ml, 2,240 mmol). El vial se agitó durante la noche en el miniagitador. La resina se aisló transfiriendo el contenido del vial a un tubo de reacción de polipropileno de 10 ml y filtrándolo mediante filtración al vacío. La resina se lavó con 50 ml de DMF, 50 ml de diclorometano y 10 ml de dietiléter. La resina resultante se secó al vacío y se usó como una carga de 0,56 mmol/g.

Preparación de resina Rink modificada B

- 25 La resina Rink modificada B se elaboró siguiendo el procedimiento idéntico al de la resina Rink modificada A.

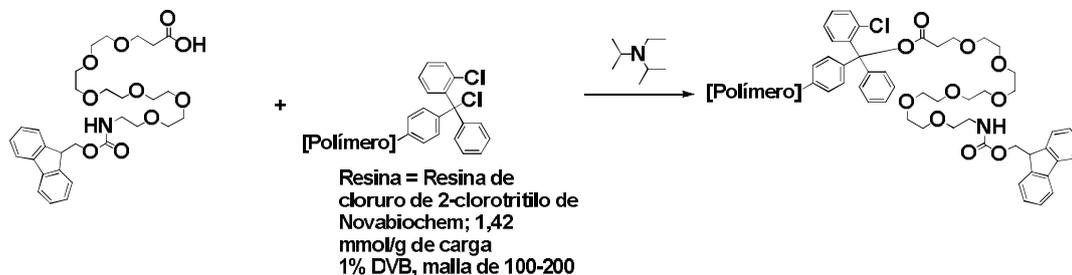
Preparación de resina Rink modificada C

- 30 La resina Rink modificada C se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina Rink modificada A con la única excepción de que N-Fmoc-N Palmitoil -L Lisina se obtuvo de Chem-Impex International.

Preparación de resina Rink modificada D

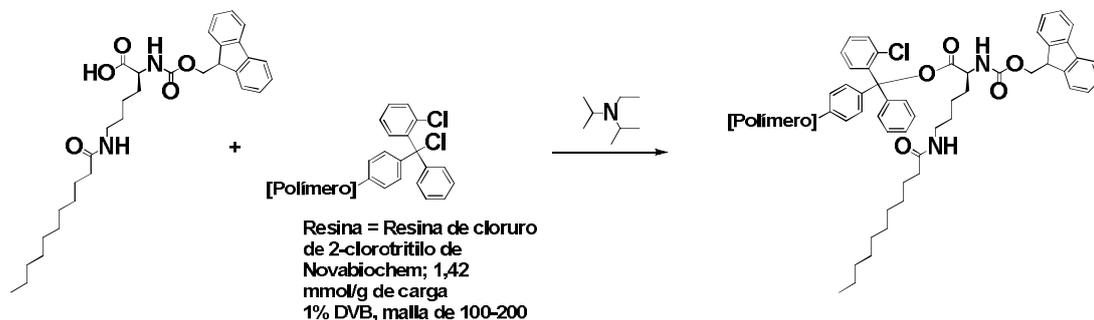
- 35 La resina Rink modificada D se elaboró siguiendo el procedimiento idéntico al de la resina Rink modificada A.

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada A



- 40 A un vial de 40 ml se le añadió resina de cloruro de 2-clorotritilo (1,42 mmol/g de carga) (1,985 g, 2,78 mmol). La resina se expandió en 15 ml de diclorometano durante 10 minutos. Se añadió una solución de (0,5 g, 0,869 mmol), ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaóxahenicossanoico en 2 ml de diclorometano y después N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,986 ml, 5,65 mmol), y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente en un miniagitador. Después de 20 h, la mezcla se diluyó con 2 ml de metanol y se agitó durante 2 h para inactivar cualquier resina de clorotritilo sin reaccionar. La resina se filtró al vacío en un tubo de reacción de polipropileno y se lavó con 100 ml de DMF, 100 ml de diclorometano y finalmente con 10 ml de dietiléter. La resina se secó al aire y se usó en el estado en el cual se encontraba asumiendo 0,44 mmol/g de carga.

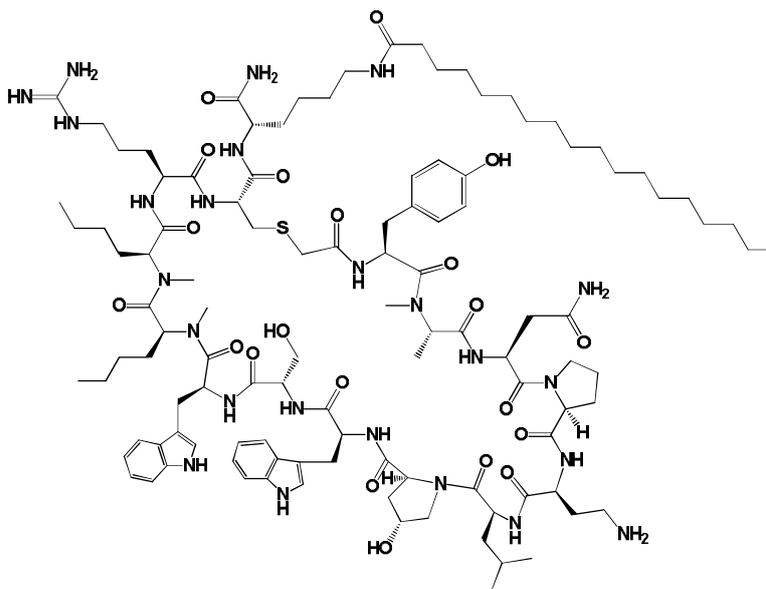
Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada B



5

A un vial de 40 ml se le añadió resina de cloruro de 2-clorotritilo (1,42 mmol/g de carga) (2,129 g, 2,98 mmol). La resina se expandió en 15 ml de diclorometano durante 10 minutos. Se añadió una solución de ácido S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-undecanamidoheptanoico (0,5 g, 0,932 mmol) en 2 ml de diclorometano, y después N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (1,06 ml, 6,06 mmol), y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente en un miniagitador. Después de 20 h, la mezcla se diluyó con 2 ml de metanol y se agitó durante 2 h para inactivar cualquier resina de clorotritilo sin reaccionar. La resina se filtró al vacío en un tubo de reacción de polipropileno y se lavó con 100 ml de DMF, 100 ml de diclorometano y finalmente con 10 ml de dietiléter. La resina se secó al aire y se usó en el estado en el cual se encontraba asumiendo 0,44 mmol/g de carga.

15 Preparación del Ejemplo 11001



El Ejemplo 11001 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento de acoplamiento de ácido de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada D en esta síntesis.

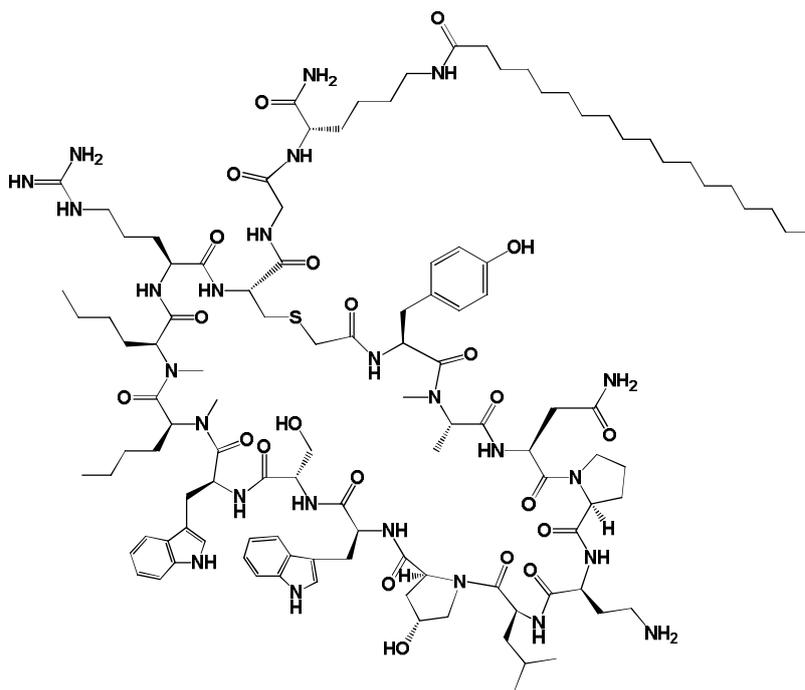
25

El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.

30

Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 7,34 min; IEN-EM(+) m/z 1105,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1105,6498 (M+2H) Encontrado: 1105,6494 (M+2H).

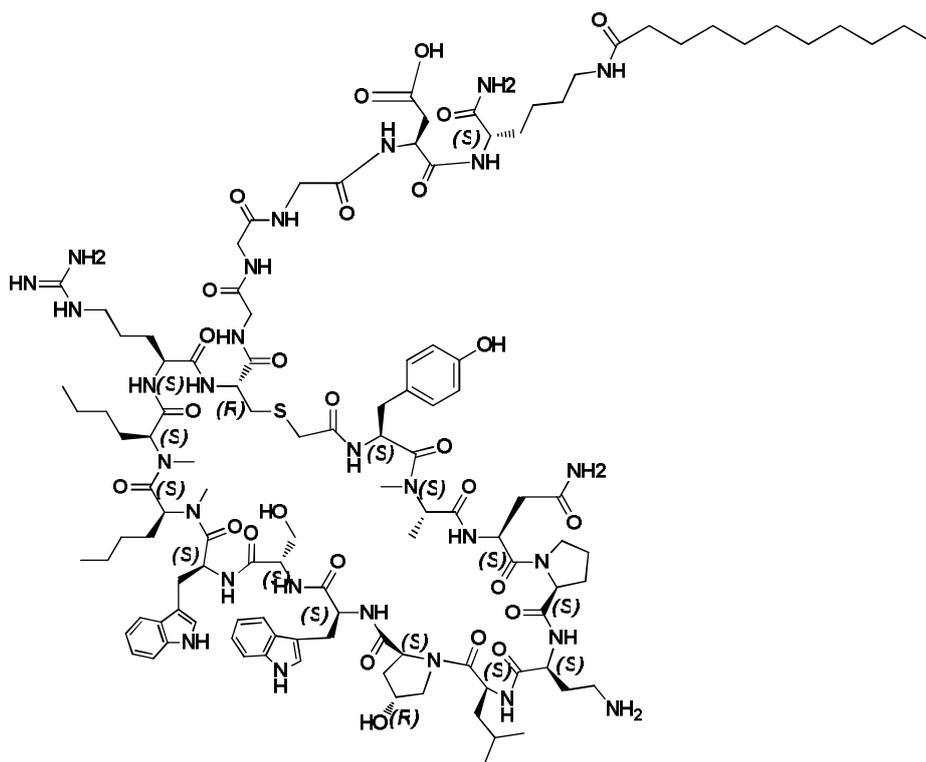
35 Preparación del Ejemplo 11002



5 El Ejemplo 11002 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.

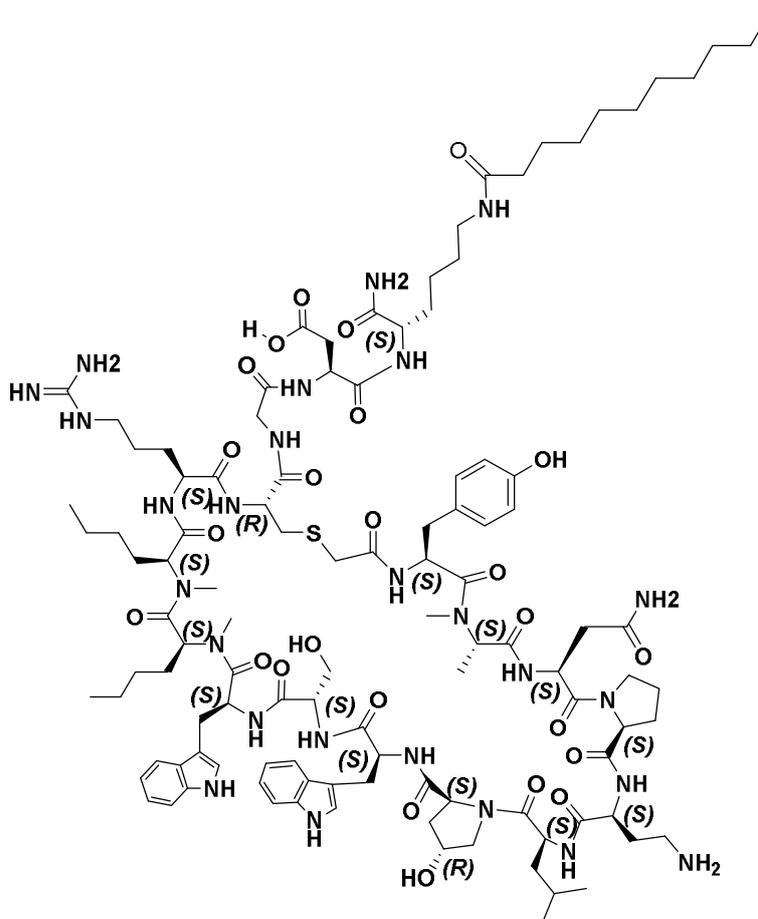
15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 7,10 min; IEN-EM(+) m/z 1133,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1133,1543 (M+2H) Encontrado: 1133,1496 (M+2H).

20 *Preparación del Ejemplo 11003*



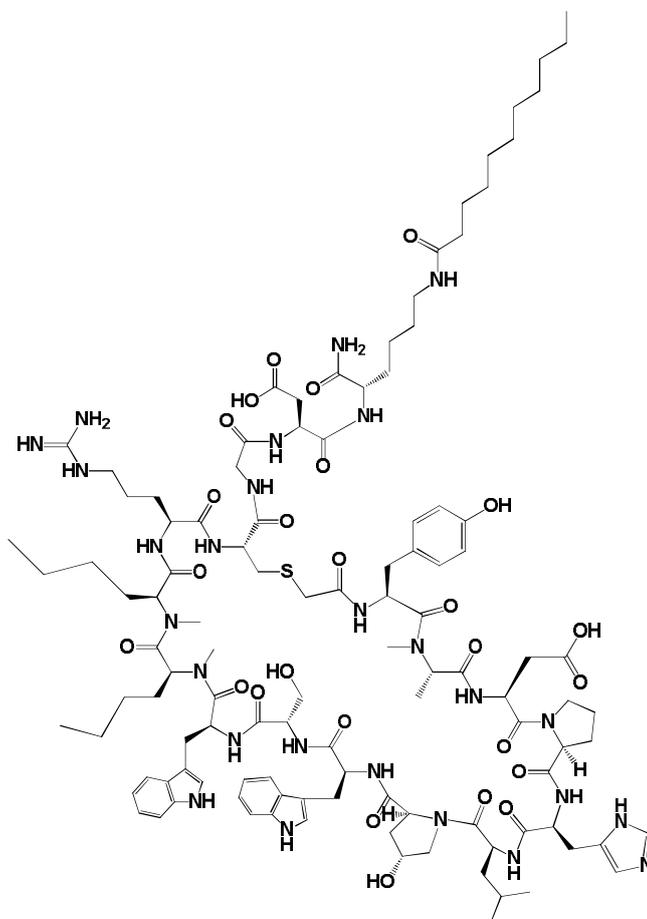
- El Ejemplo 11003 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,66 min; IEN-EM(+) m/z 1200,4 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11004



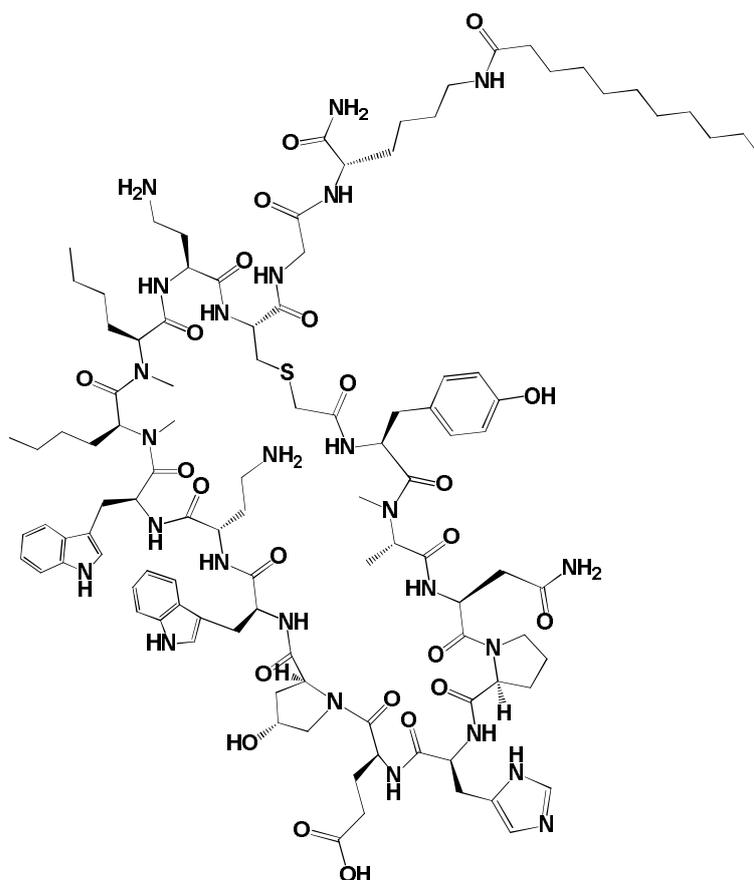
- El Ejemplo 11004 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 10,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,73 min; IEN-EM(+) m/z 1171,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1171,1299 (M+2H) Encontrado: 1171,1302 (M+2H)

Preparación del Ejemplo 11005



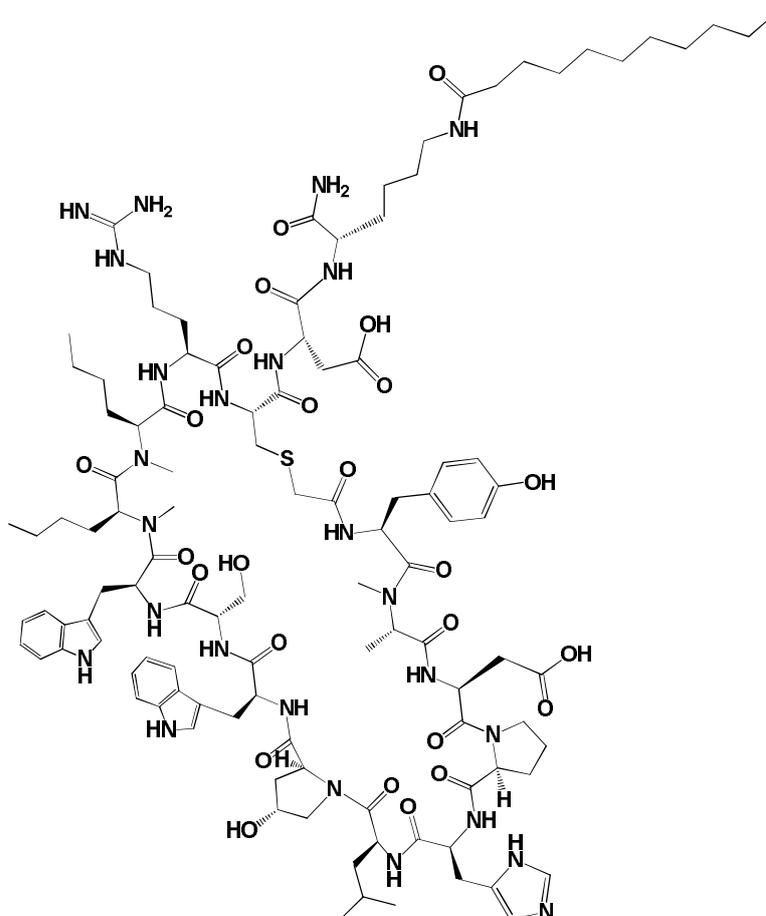
- El Ejemplo 11006 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,66 min; IEN-EM(+) m/z 1161,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1161,6088 (M+2H) Encontrado: 1161,6075 (M+2H)

Preparación del Ejemplo 11007



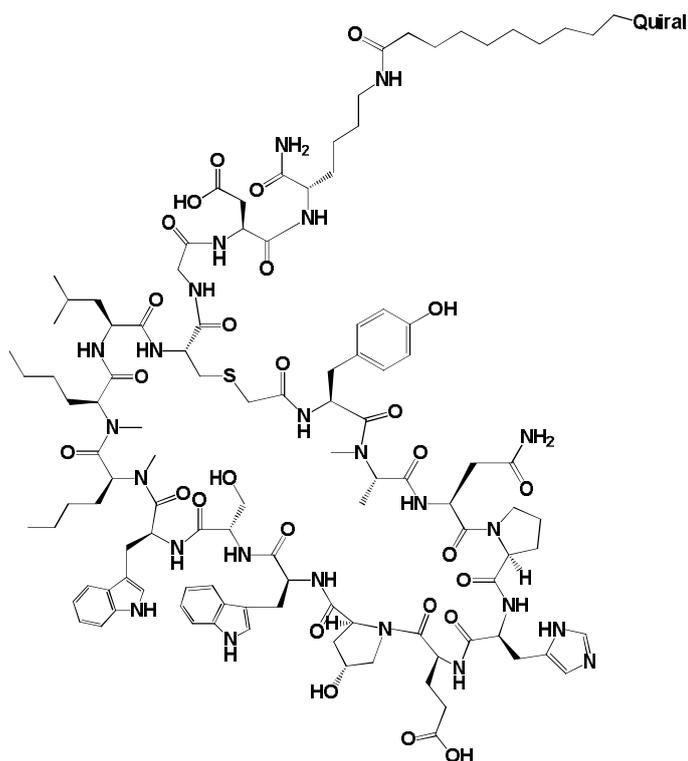
- El Ejemplo 11007 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,64 min; IEN-EM(+) m/z 1191,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1090,0797 (M+2H) Encontrado: 1090,0779 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11008



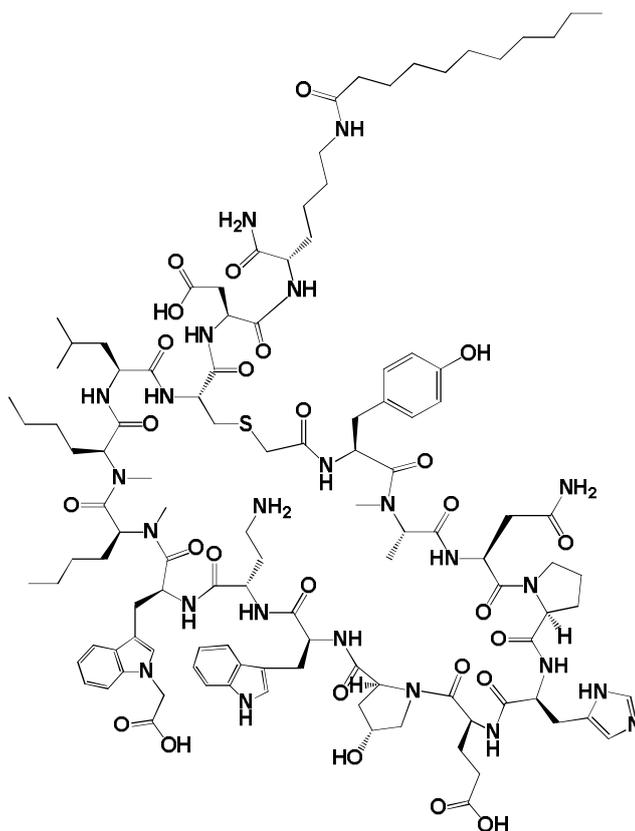
- El Ejemplo 11008 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 5
- 10
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,55 min; IEN-EM(+) m/z 1133,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1133,0981 (M+2H) Encontrado: 1133,0950 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11009



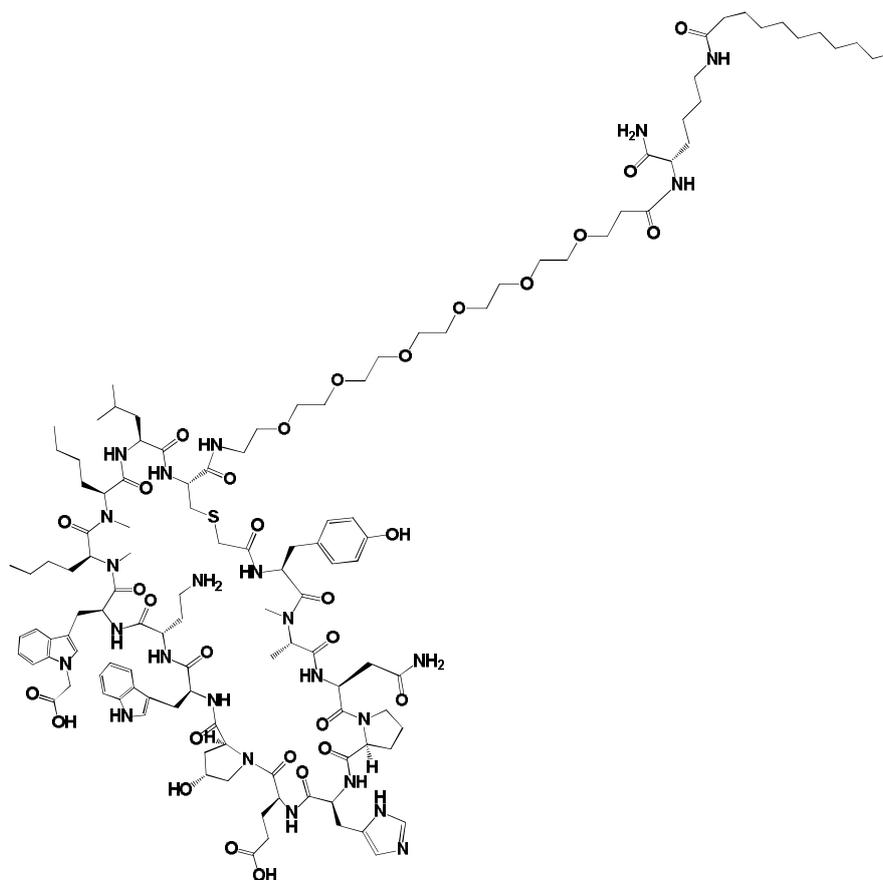
- El Ejemplo 11009 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 19,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,81 min; IEN-EM(+) m/z 1147,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1147,5875 (M+2H) Encontrado: 1147,5867 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11010



- El Ejemplo 11011 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,37 min; IEN-EM(+) m/z 1154,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1154,5954 (M+2H) Encontrado: 1154,5941 (M+2H).

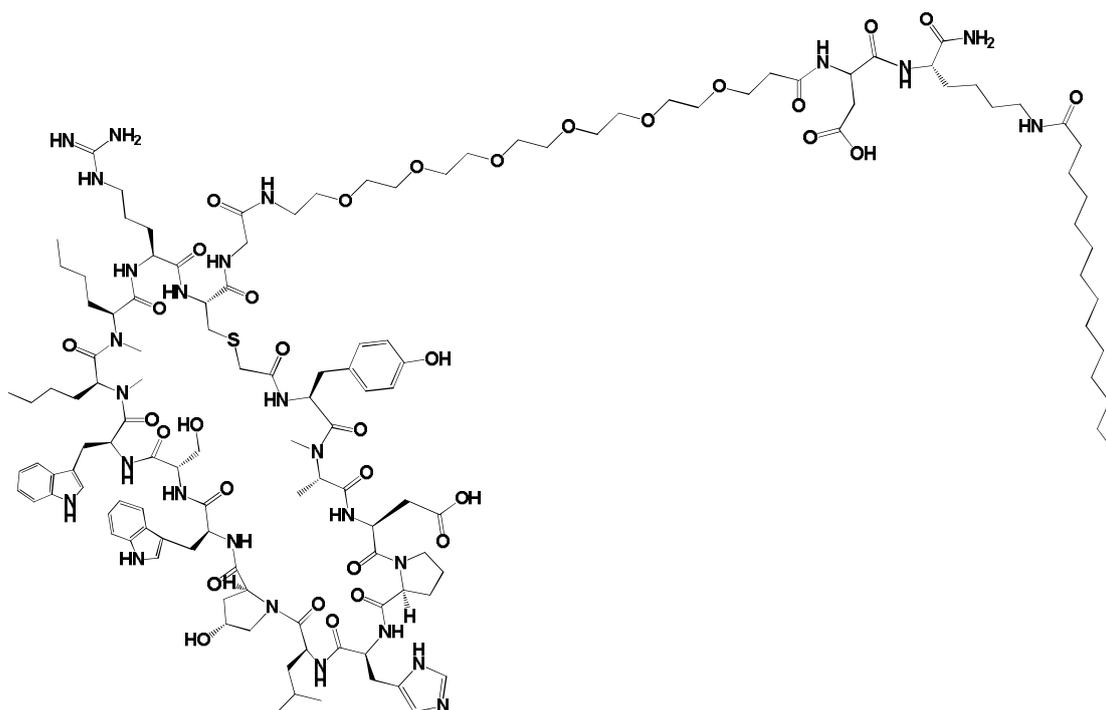
Preparación del Ejemplo 11012



El Ejemplo 11012 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,68 min; IEN-EM(+) m/z 1265,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1264,6791 (M+2H) Encontrado: 1264,6764 (M+2H).

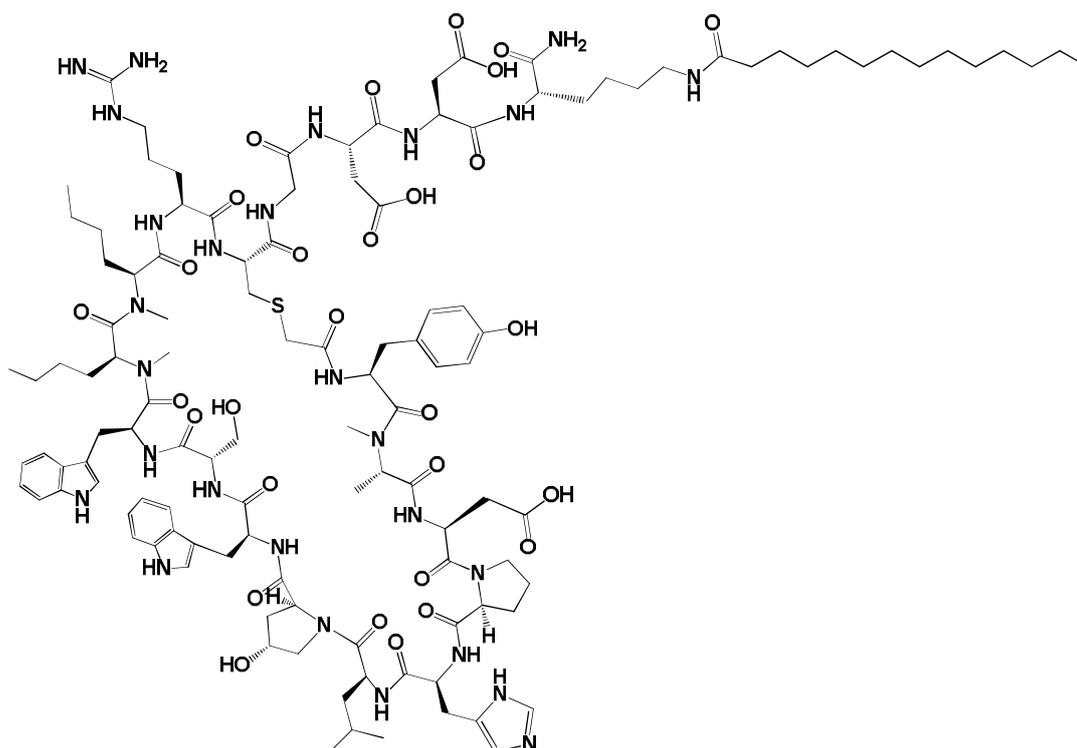
Preparación del Ejemplo 11013

20



El Ejemplo 11013 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada B en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) m/z 1351,2 (M+2H).

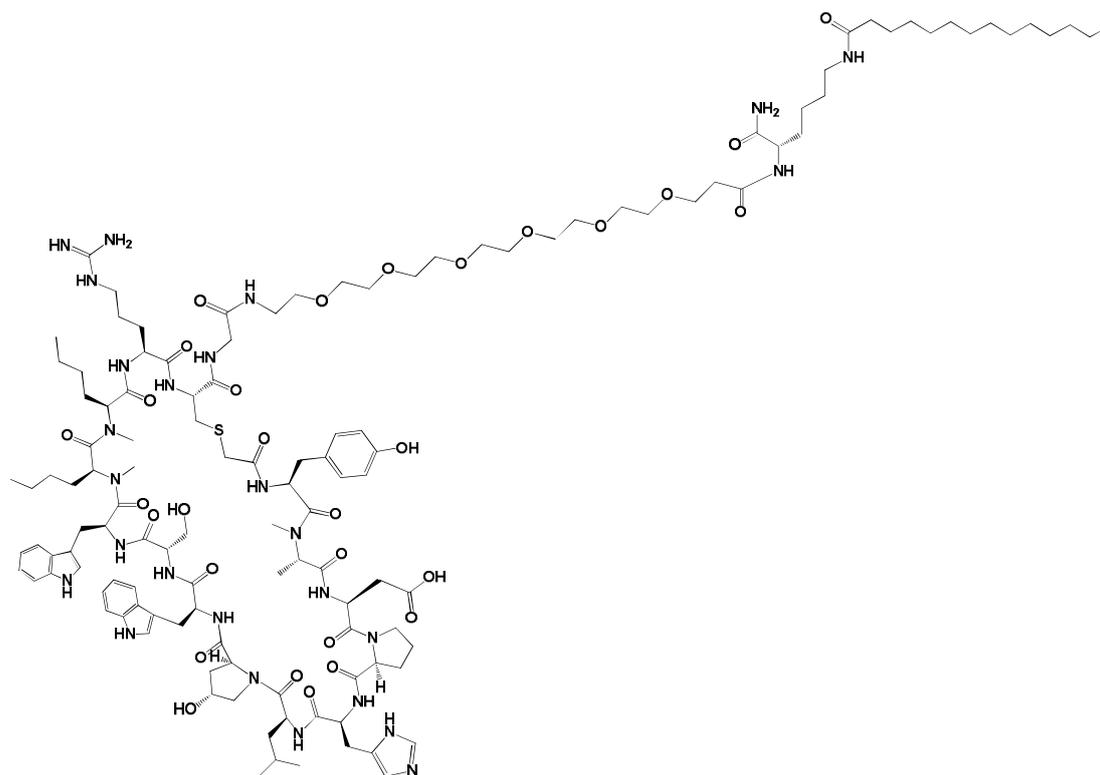
Preparación del Ejemplo 11014



El Ejemplo 11014 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,97 min; IEN-EM(+) m/z 1241,1 (M+2H).

15

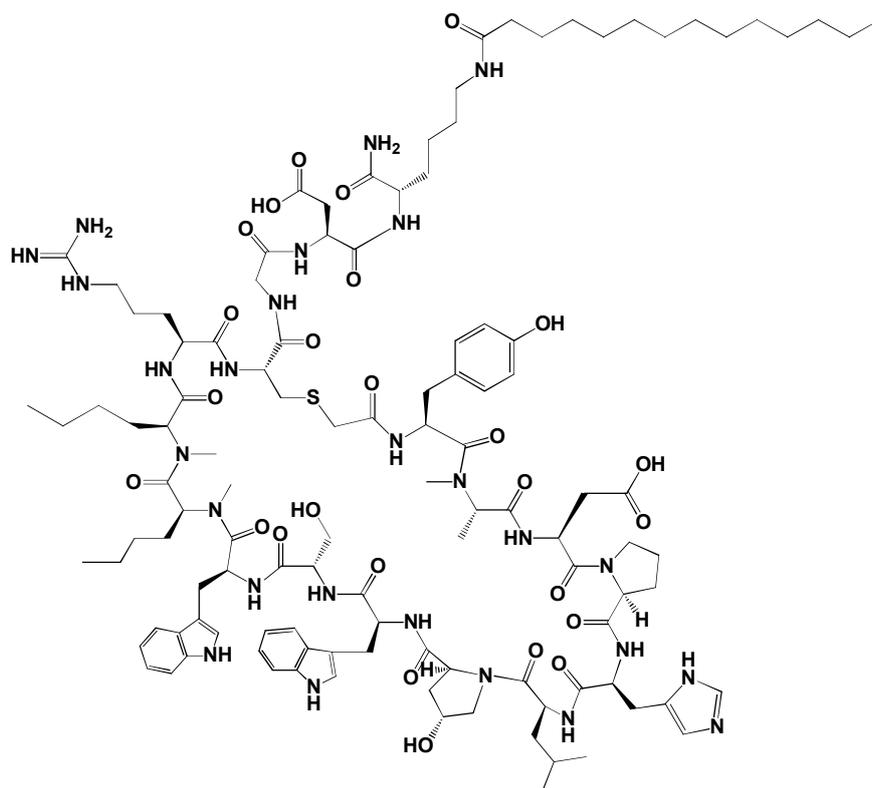
Preparación del Ejemplo 11015



El Ejemplo 11015 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada B en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,44 min; IEN-EM(+) m/z 1292,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1292,7160 (M+2H). Encontrado: 1292,7148 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11016

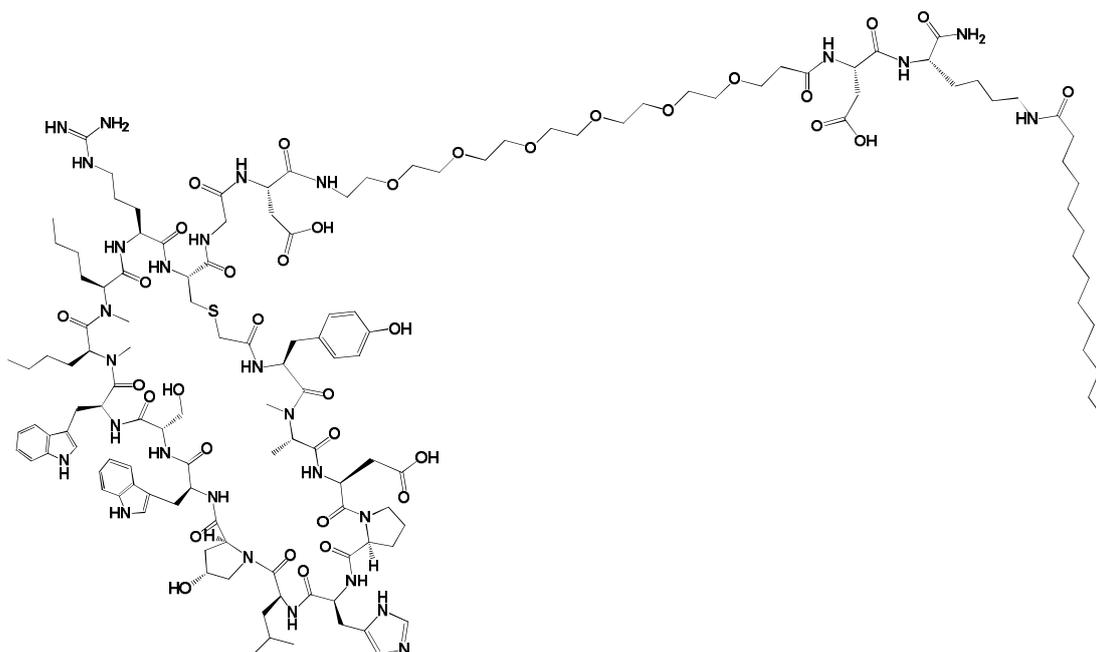
20



El Ejemplo 11016 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %; Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,27 min; IEN-EM(+) m/z 1182,7 (M+2H)

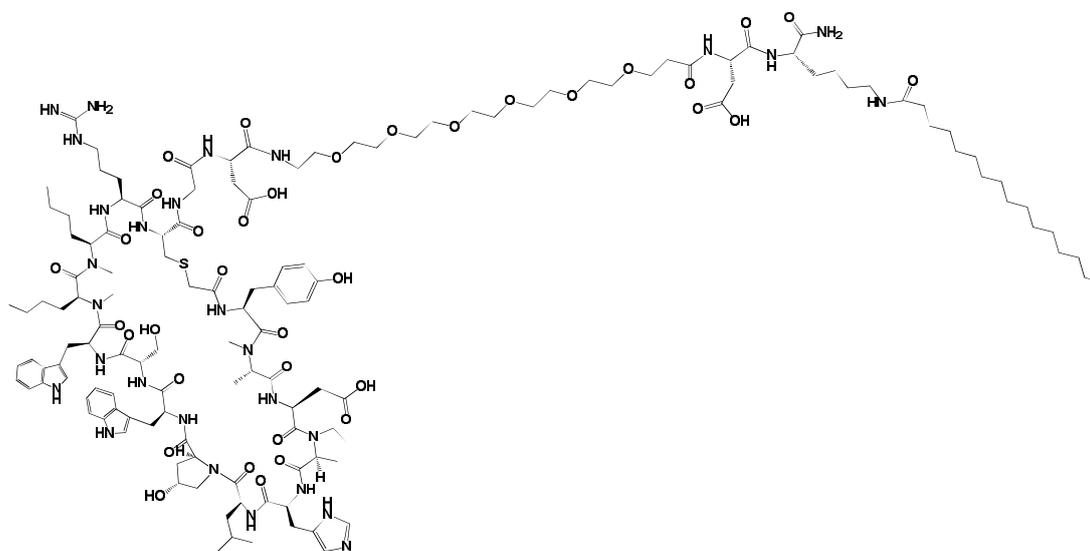
15

Preparación del Ejemplo 11017



El Ejemplo 11017 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada B en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaóxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,81 min; IEN-EM(+) m/z 1408,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1407,7431 (M+2H) Encontrado: 1407,7430 (M+2H).

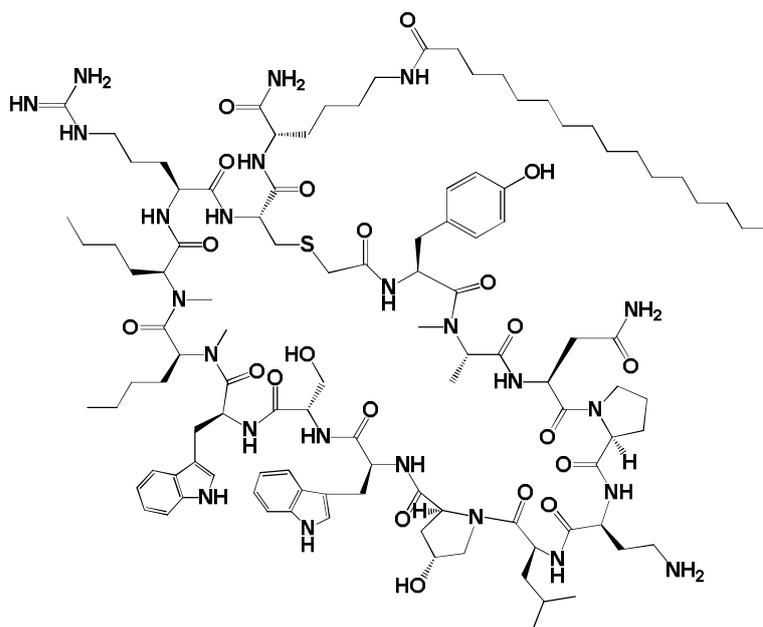
Preparación del Ejemplo 11018



El Ejemplo 11018 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión

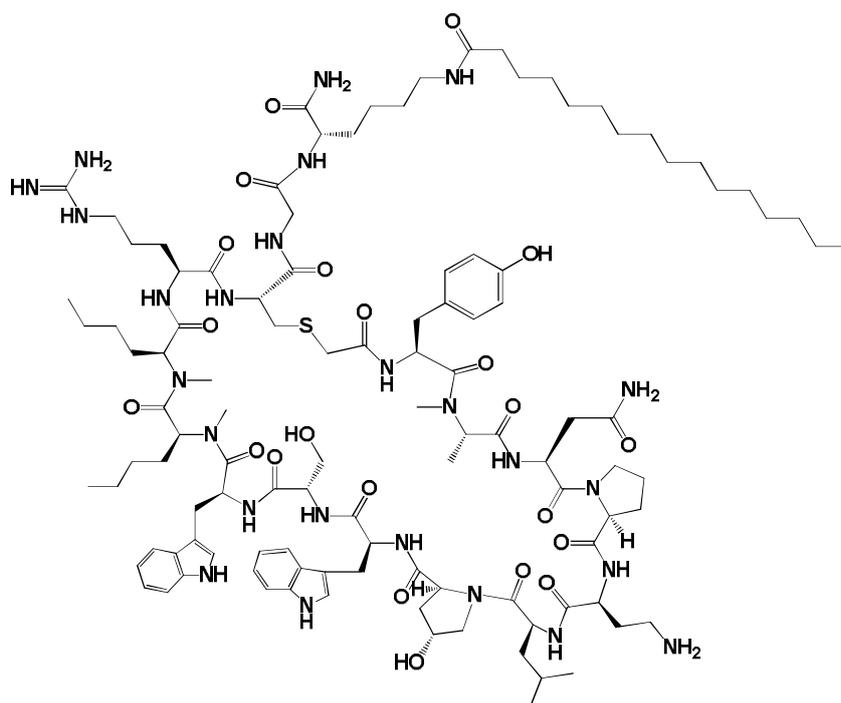
de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaóxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,16 min; IEN-EM(+) m/z 1421,8 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11019



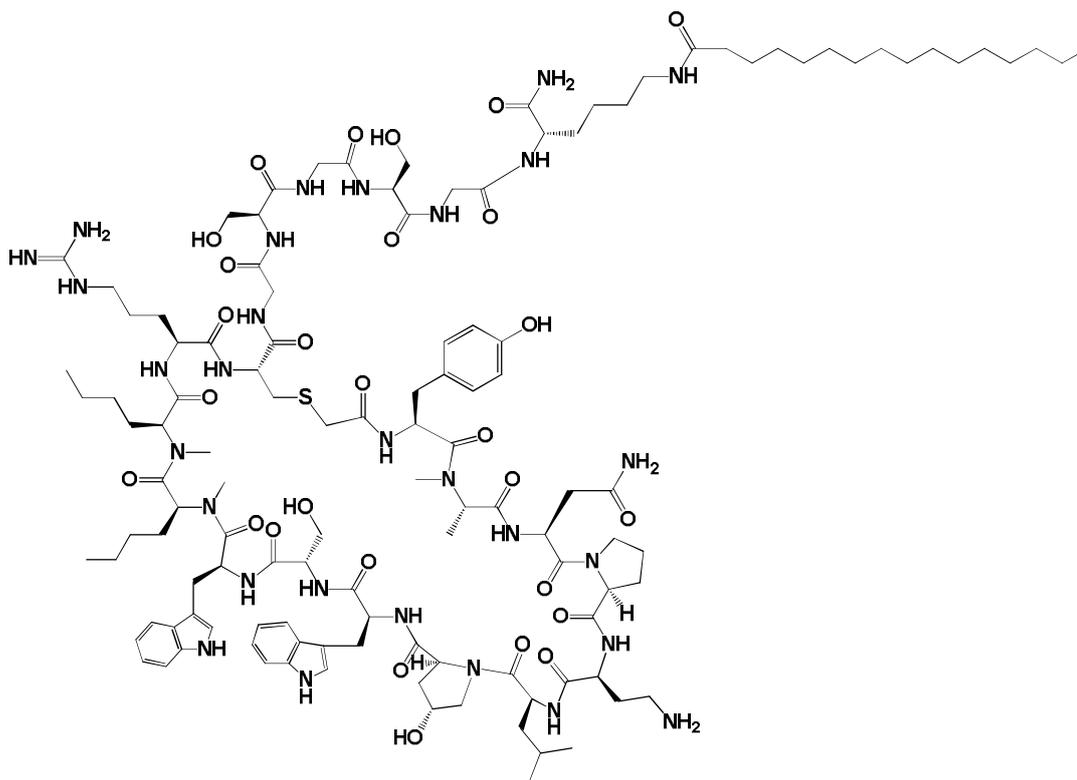
El Ejemplo 11019 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 40,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,11 min; IEN-EM(+) m/z 1091,45 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11020



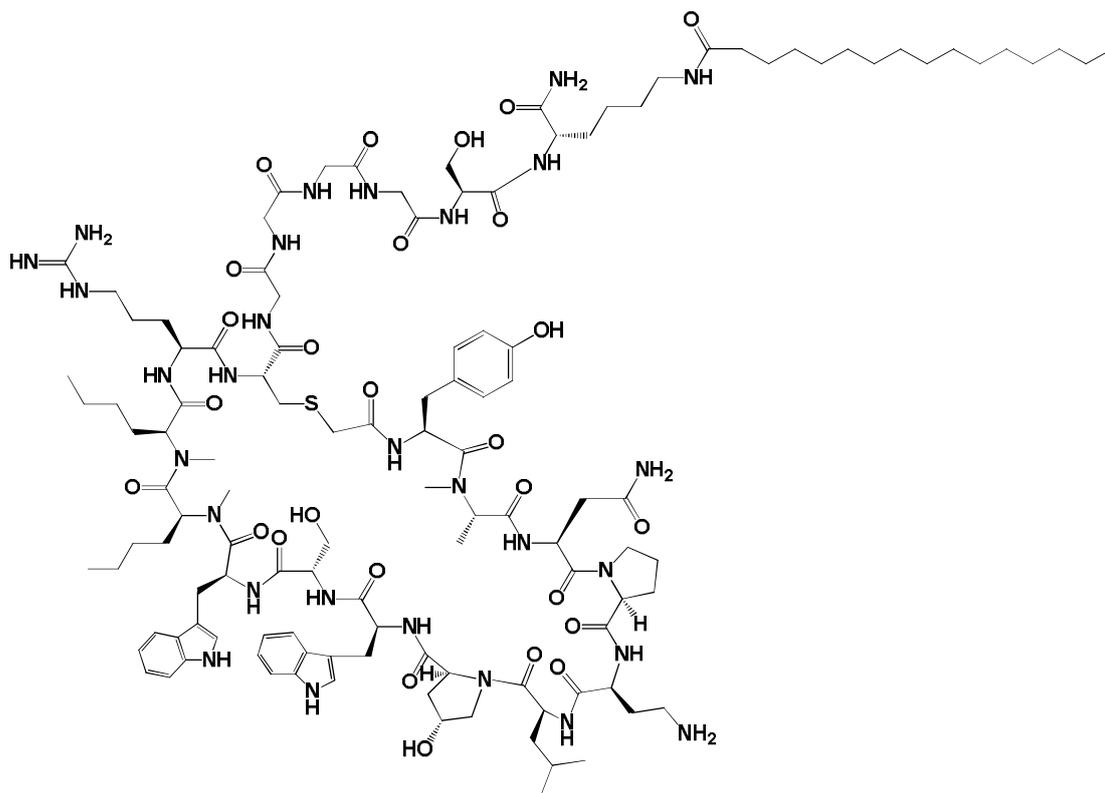
- El Ejemplo 11020 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 41,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,93 min; IEN-EM(+) m/z 1119,83 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11021



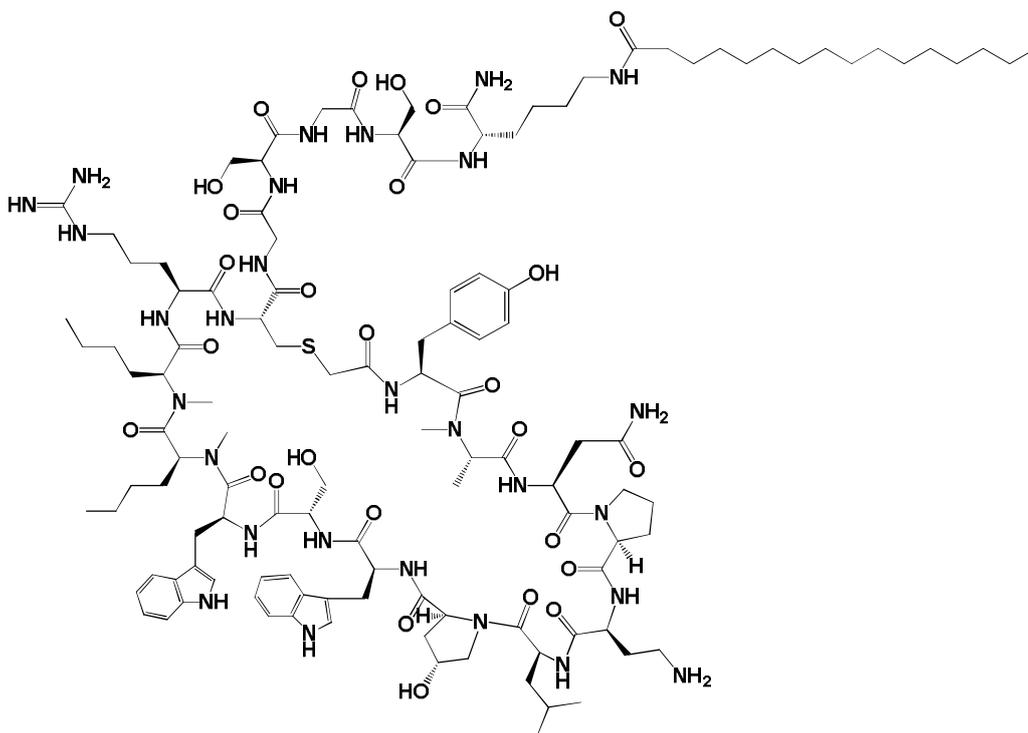
- El Ejemplo 11021 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- 5
- 10
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,36 min; IEN-EM(+) m/z 1265,9 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11022



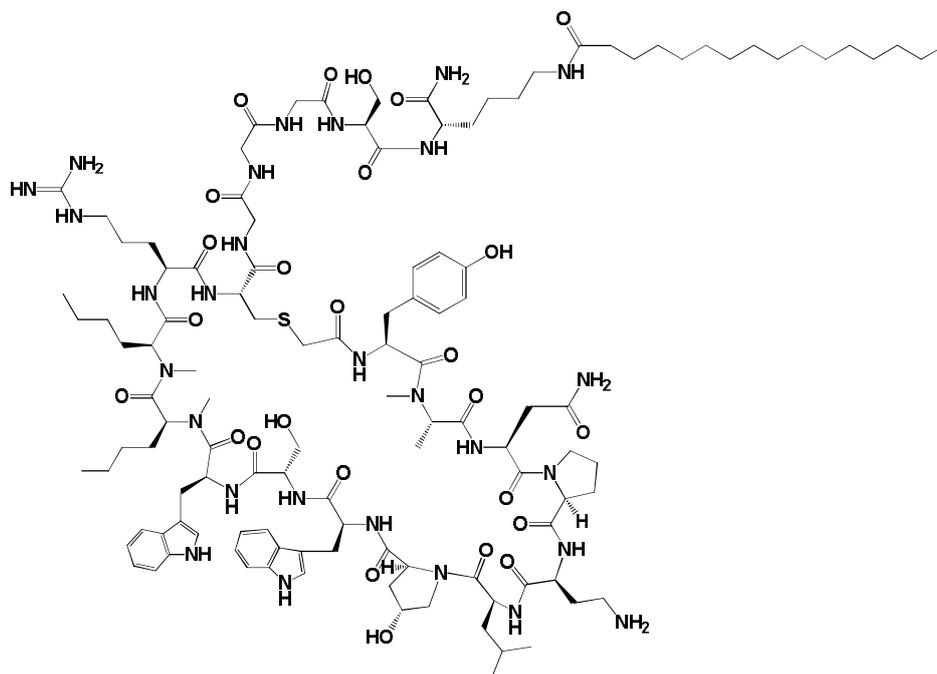
- El Ejemplo 11022 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,13 min; IEN-EM(+) m/z 1250,51 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1249,1930 (M+2H) Encontrado: 1249,1934 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11023



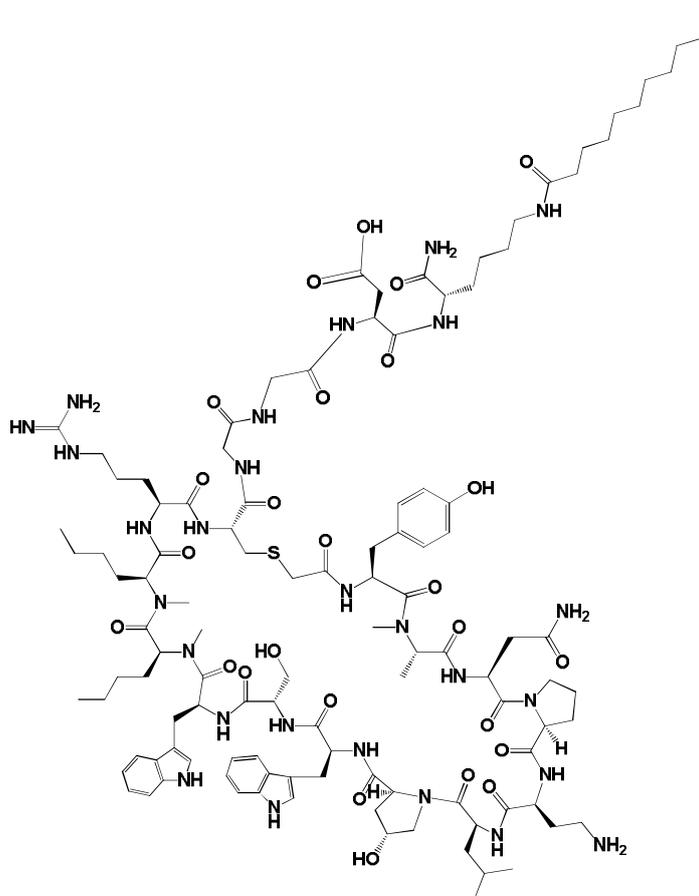
- El Ejemplo 11023 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,41 min; IEN-EM(+) m/z 1235,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1235,6878 (M+2H) Encontrado: 1235,6832 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11024



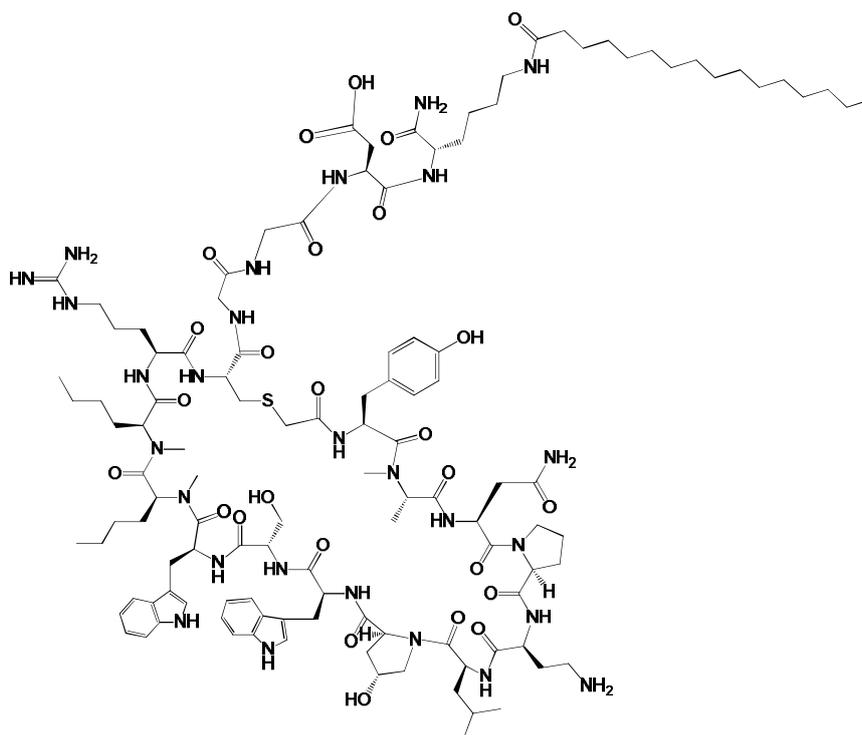
- El Ejemplo 11024 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,68 min; IEN-EM(+) m/z 1220,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1220,6823 (M+2H) Encontrado: 1220,6810 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11025



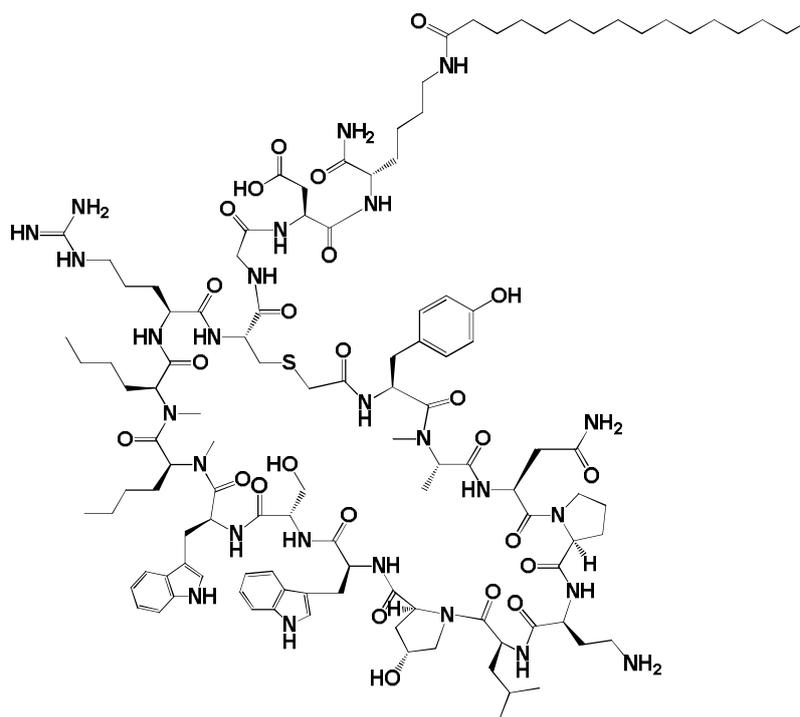
- El Ejemplo 11025 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %.
- 5
- 10
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,74 min; IEN-EM(+) m/z 1234,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1234,6798 (M+2H) Encontrado: 1234,6796.

Preparación del Ejemplo 11026



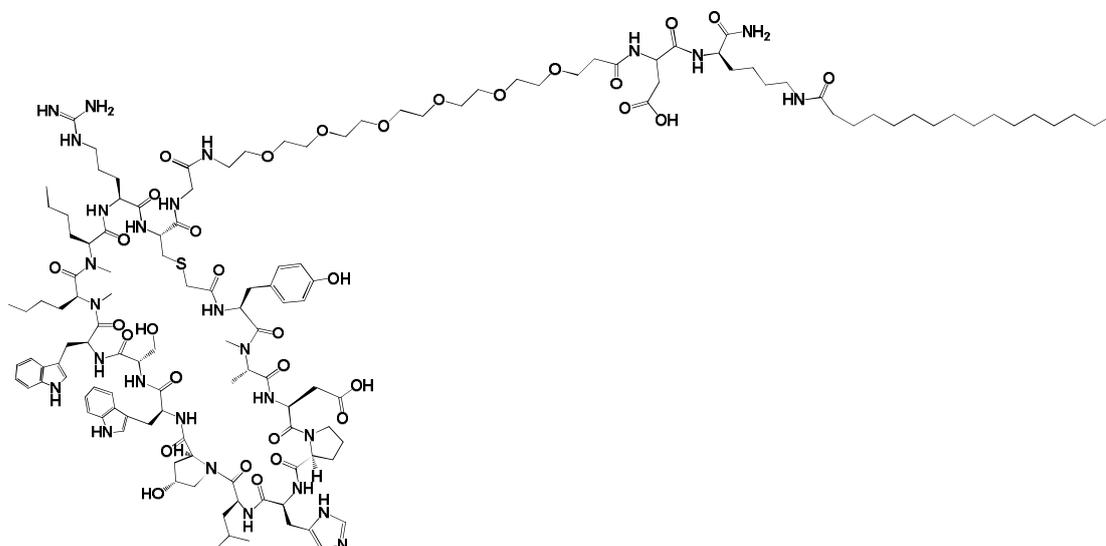
- El Ejemplo 11026 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 5
- 10
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,81 min; IEN-EM(+) m/z 1206,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1206,1690 (M+2H) Encontrado: 1206,1690 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11027



- El Ejemplo 11027 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,92 min; IEN-EM(+) m/z 1177,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1177,6583 (M+2H) Encontrado: 1177,6585 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11028

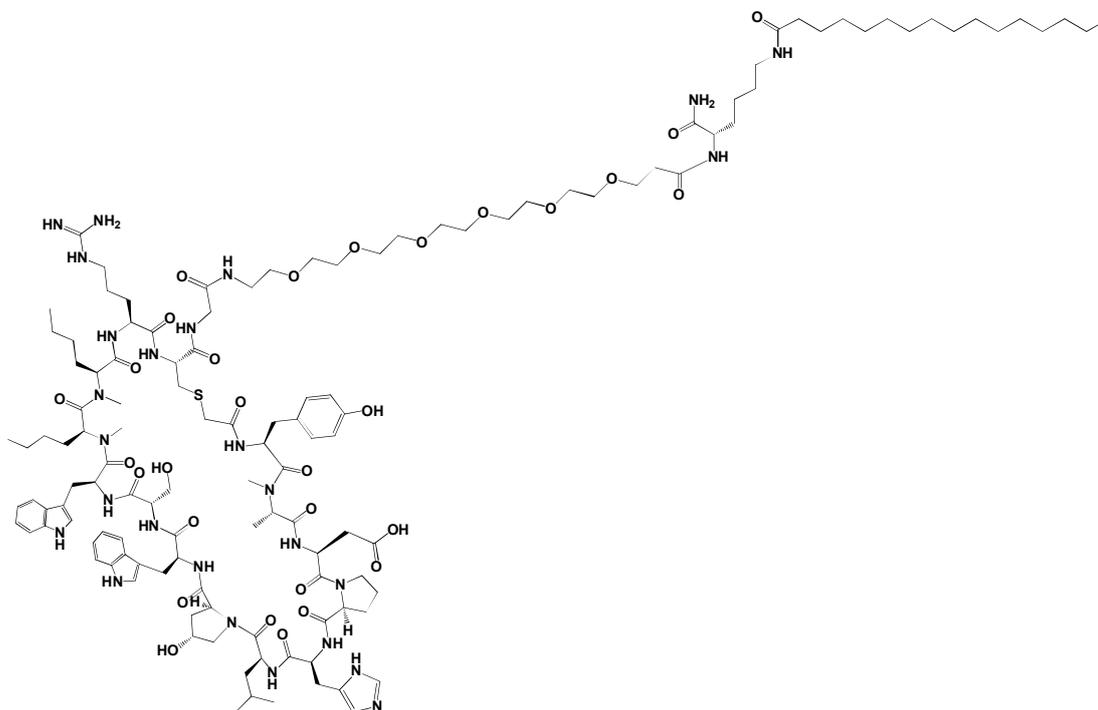


20

El Ejemplo 11028 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo

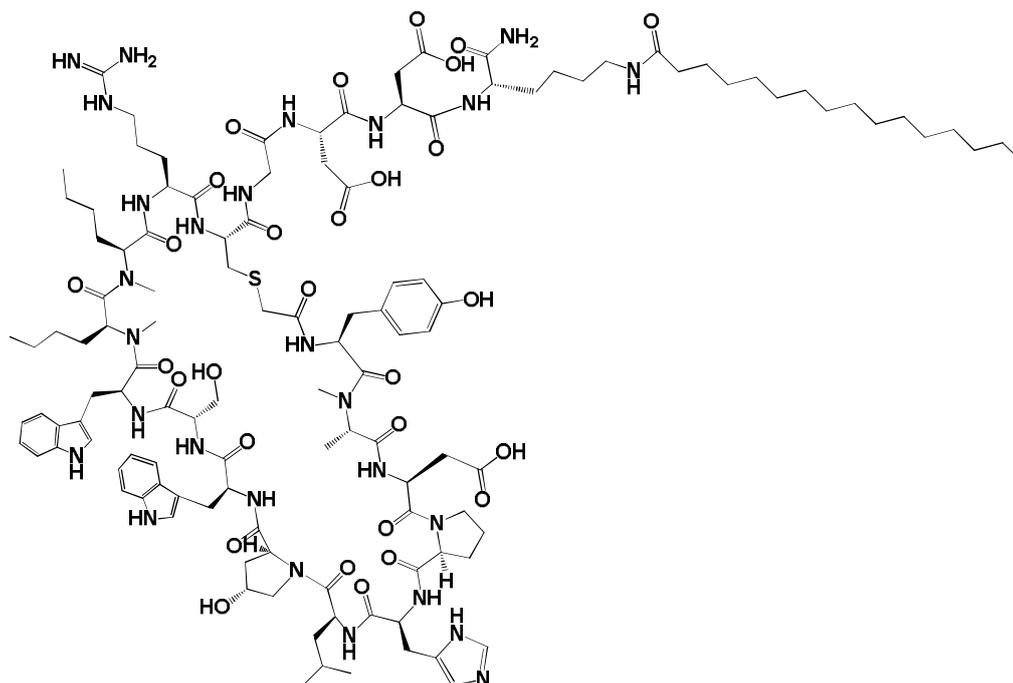
0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaóxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,57 min; IEN-EM(+) m/z 1363,2 (M+2H).

15 Preparación del Ejemplo 11029



El Ejemplo 11029 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaóxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,01 min; IEN-EM(+) m/z 1306,8 (M+2H).

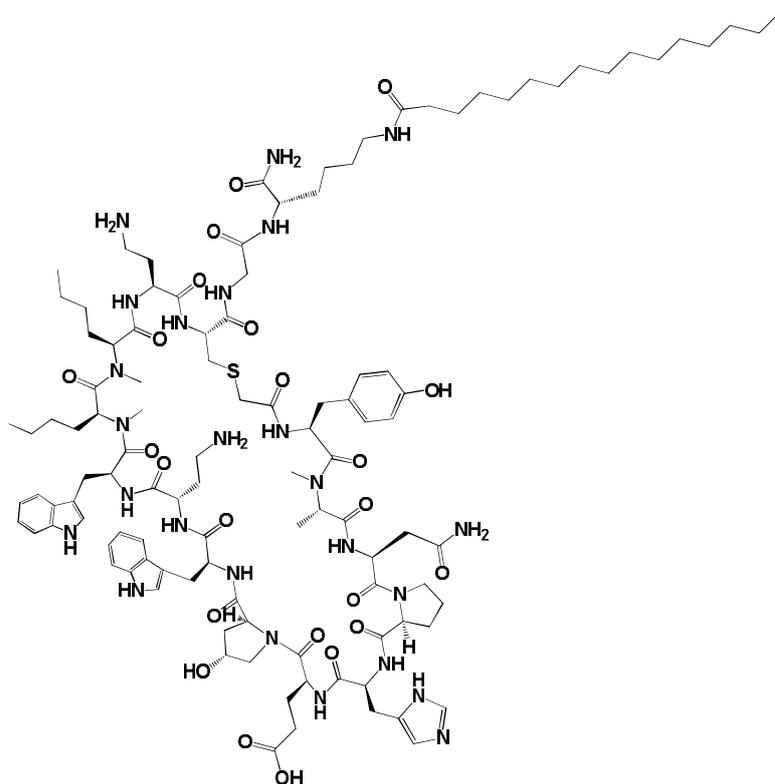
35 Preparación del Ejemplo 11030



El Ejemplo 11030 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,40 min; IEN-EM(+) m/z 1153,4 (M+2H).

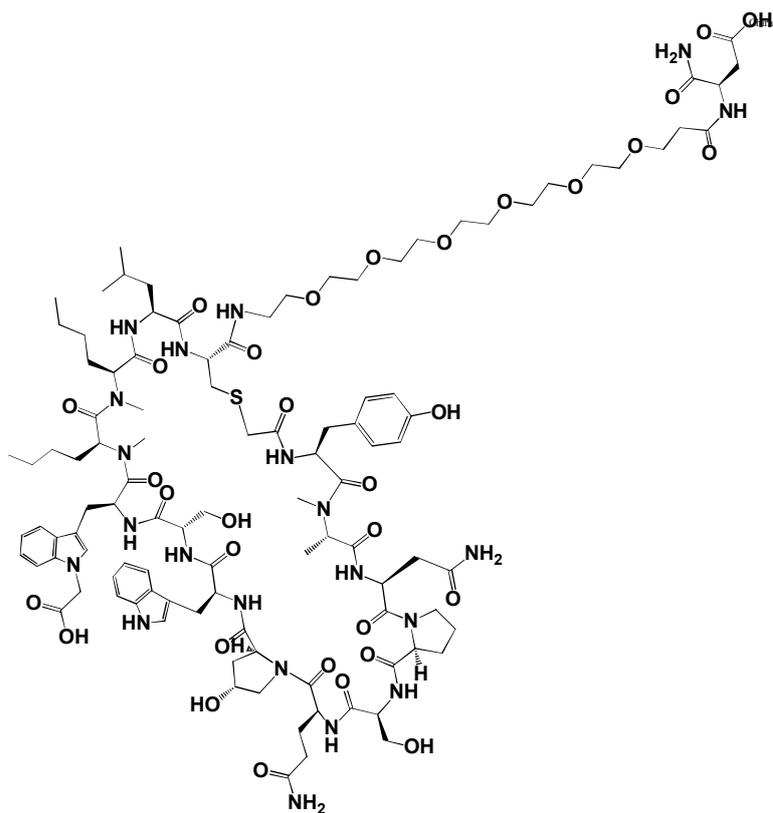
15

Preparación del Ejemplo 11031



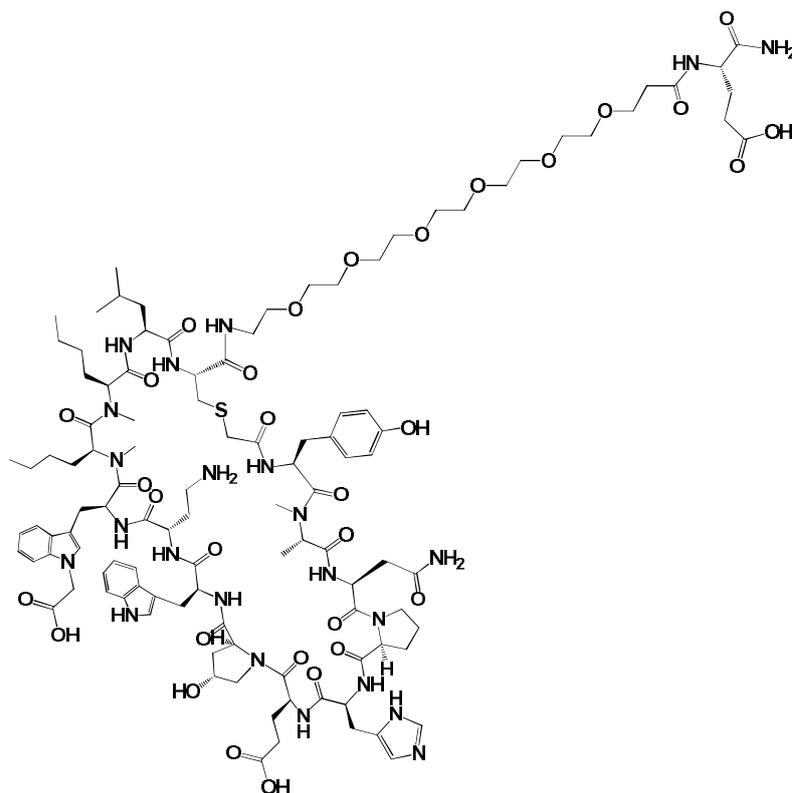
- El Ejemplo 11031 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 13,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,88 min; IEN-EM(+) m/z 1125,1 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11032



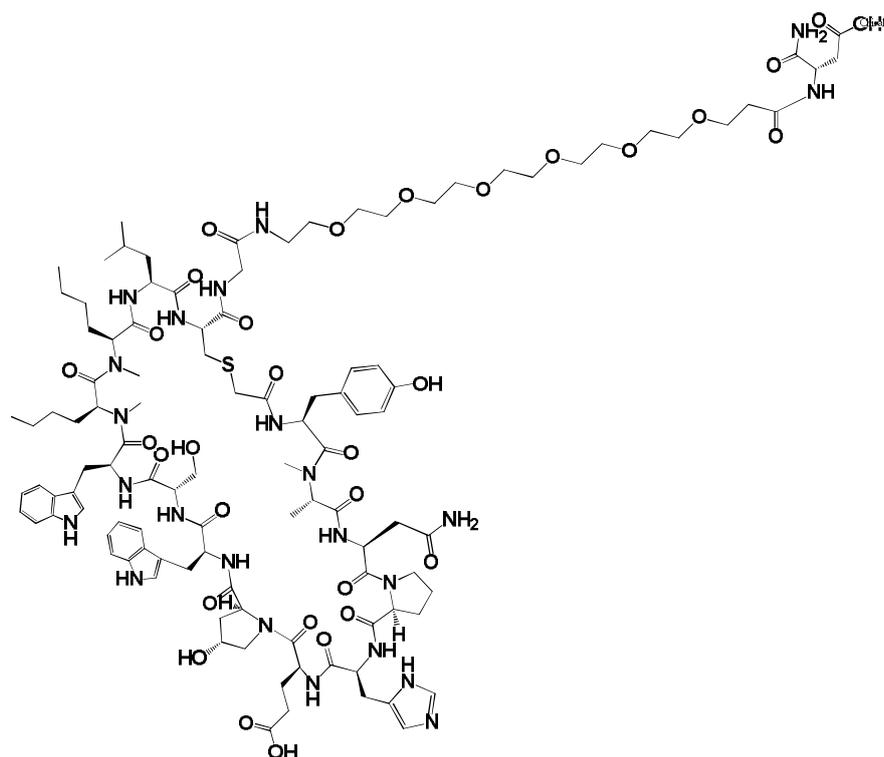
El Ejemplo 11032 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,99 min; IEN-EM(+) m/z 1442,3 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11033



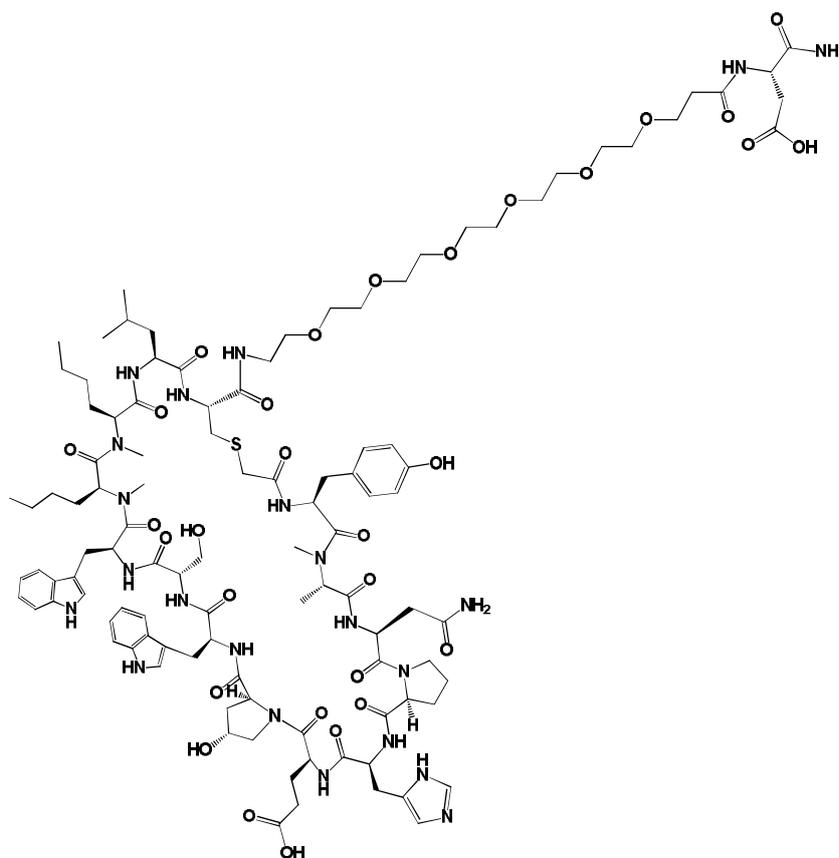
- El Ejemplo 11034 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento B de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método C de desprotección global" y "Método X de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 20,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,26 min; IEN-EM(+) m/z 1181,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1181,0772 (M+2H) Encontrado: 1181,0757 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11034



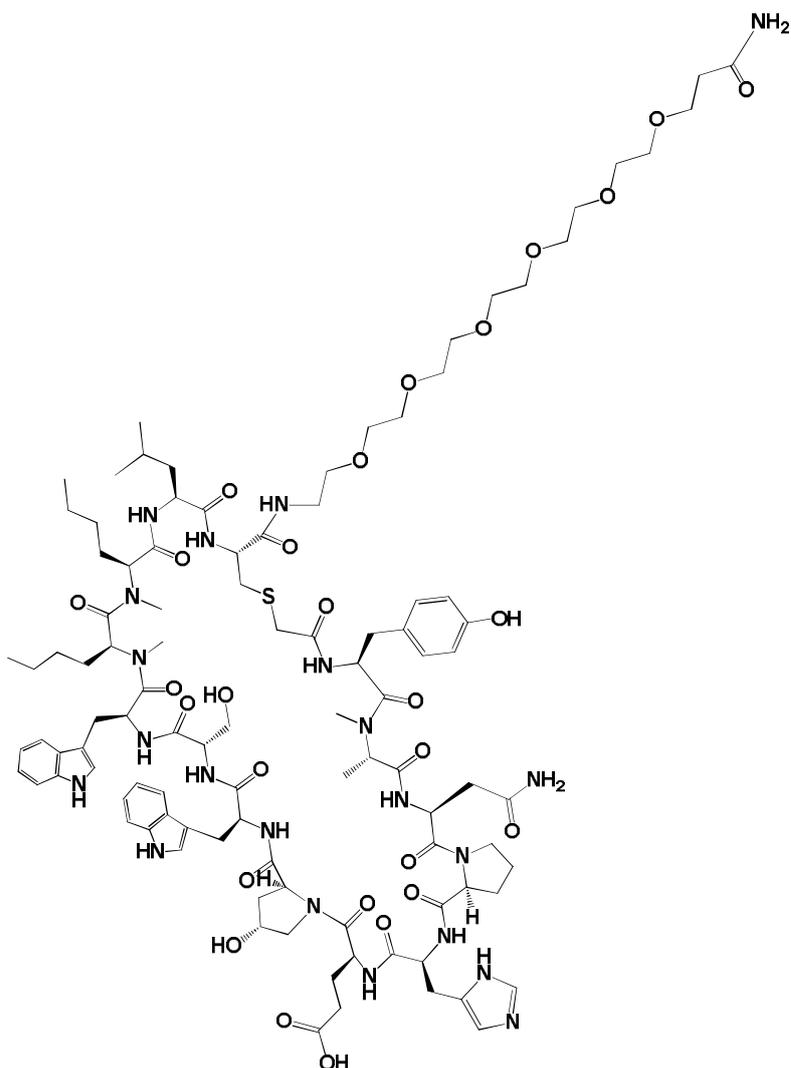
- El Ejemplo 11034 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 20,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,63 min; IEN-EM(+) m/z 1168,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1167,0616 (M+2H). Encontrado: 1167,0624 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11035



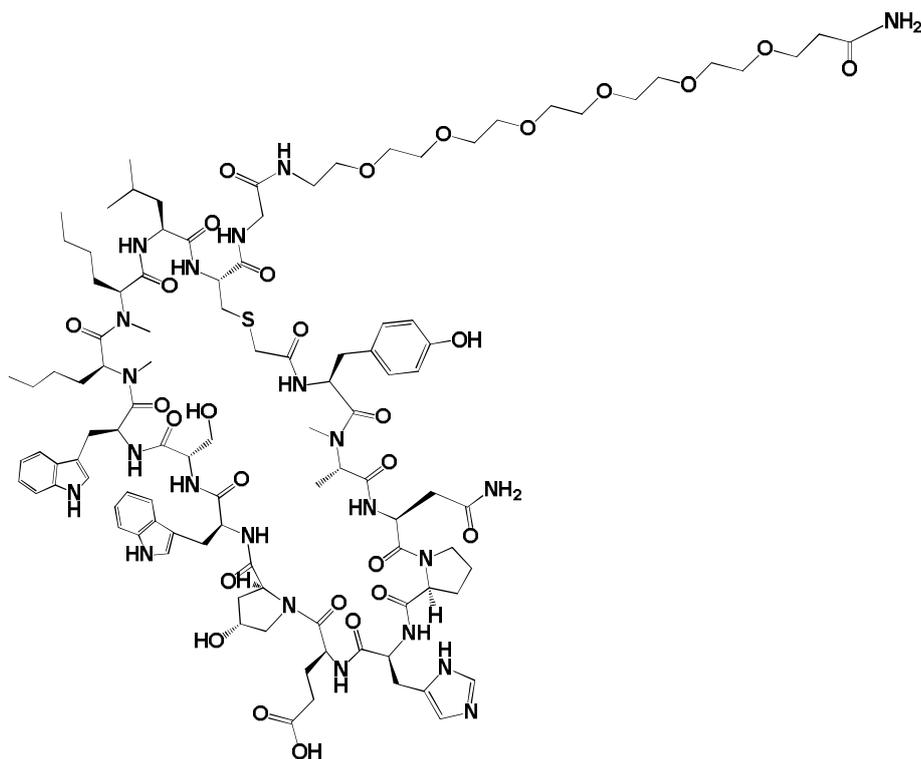
- El Ejemplo 11035 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 33,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,63 min; IEN-EM(+) m/z 1138,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1138,5517 (M+2H). Encontrado: 1138,5508 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11036



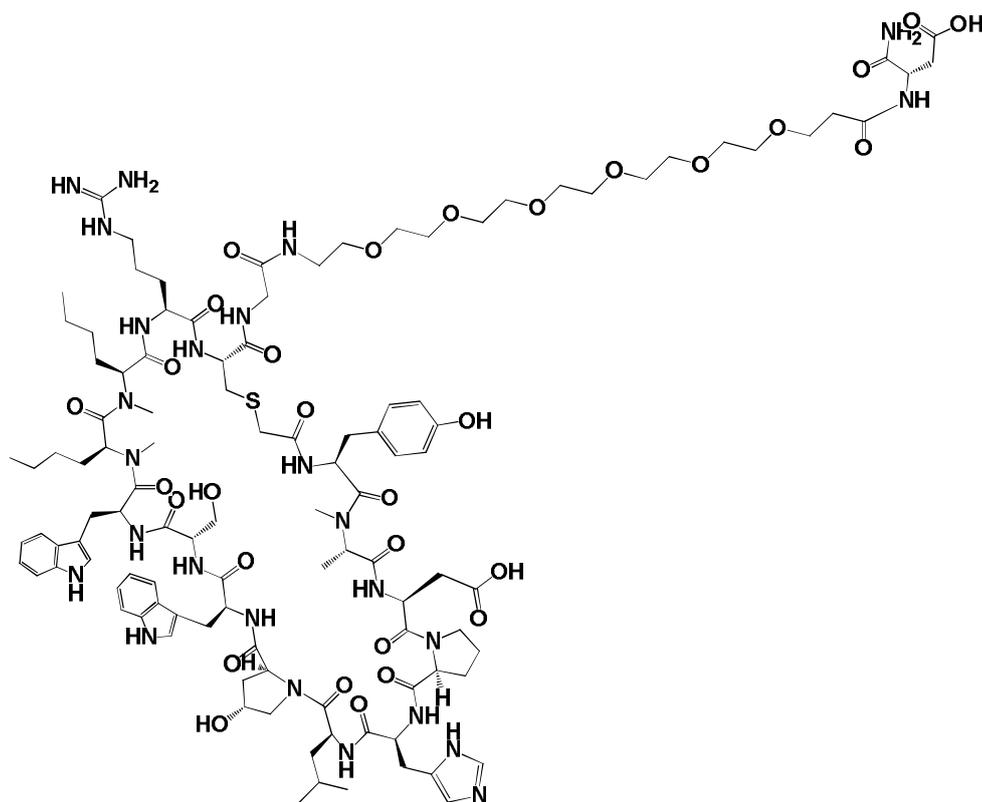
El Ejemplo 11036 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,88 min; IEN-EM(+) m/z 1081,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1081,0374 (M+2H) Encontrado: 1081,0358 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11037



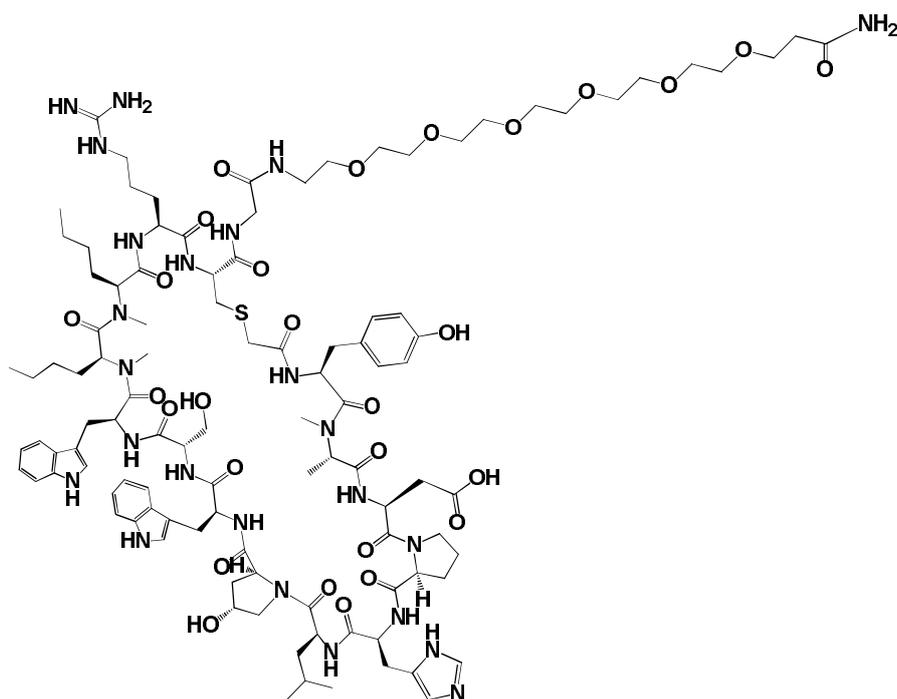
- El Ejemplo 11037 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,91 min; IEN-EM(+) m/z 1109,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1109,5481 (M+2H) Encontrado: 1109,5472 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11038



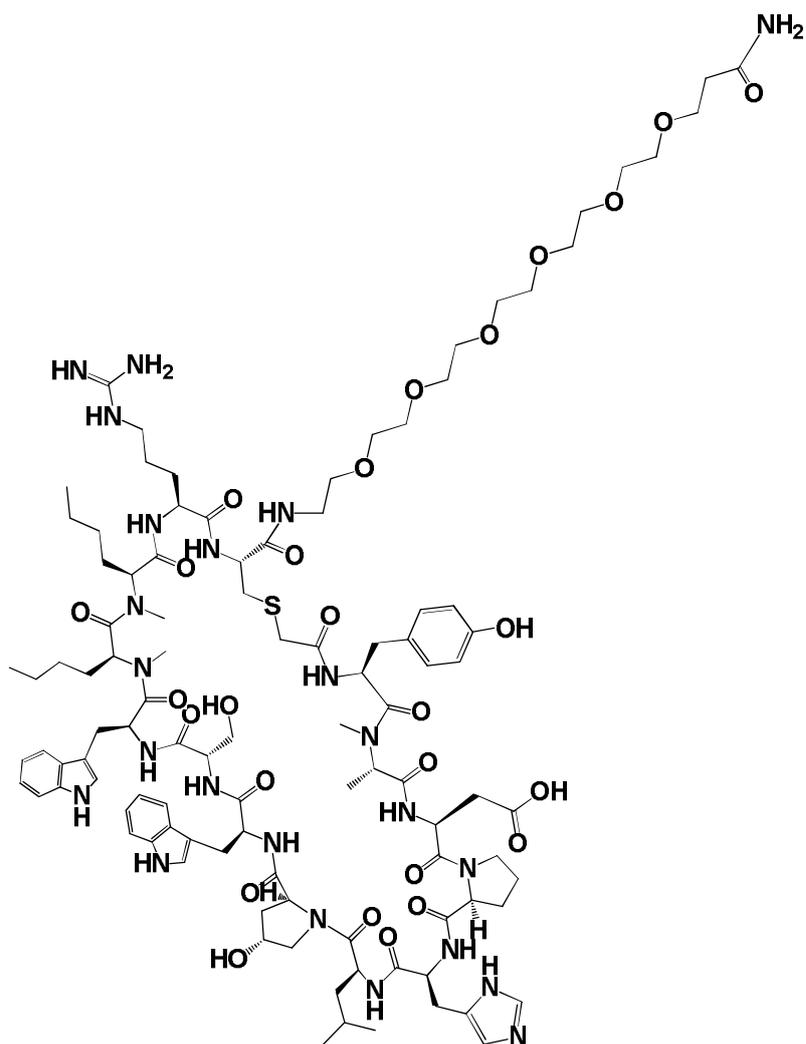
- El Ejemplo 11038 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,55 min; IEN-EM(+) m/z 1182,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1181,0828 (M+2H) Encontrado: 1181,0816 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11039



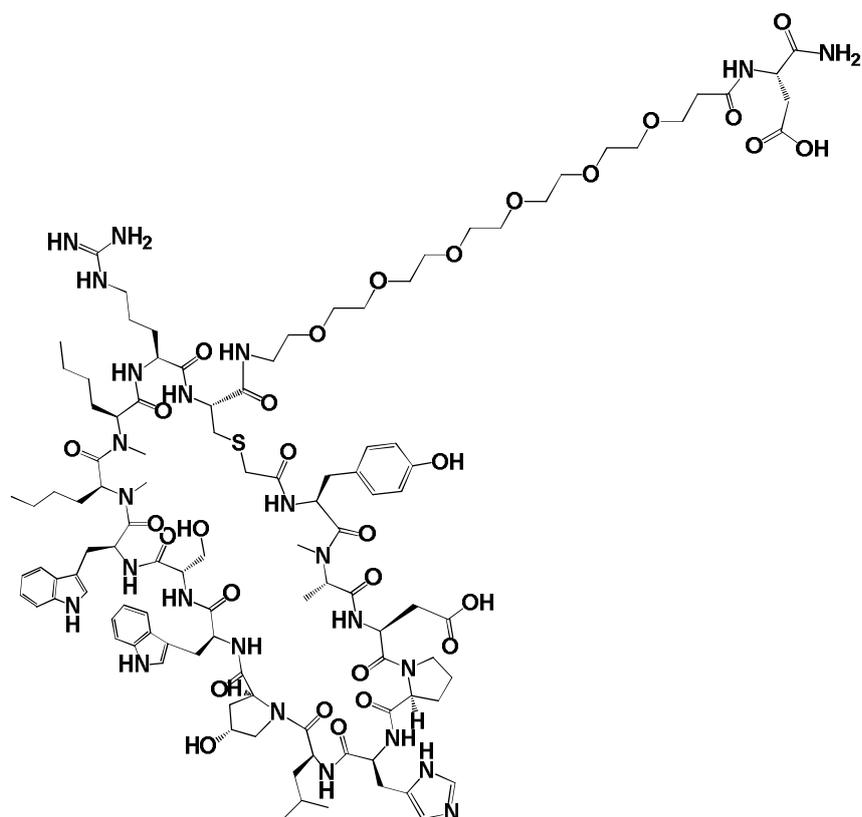
- El Ejemplo 11039 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrifuga. El rendimiento del producto fue de 13,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,69 min; IEN-EM(+) m/z 1123,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1123,5677 (M+2H) Encontrado: 1123,5694 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11040



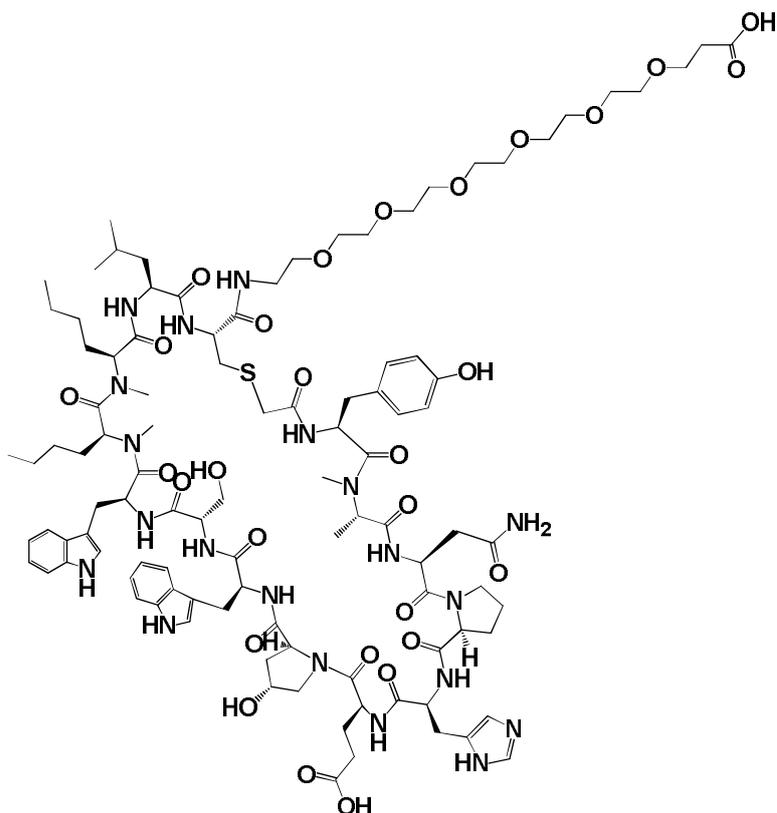
- El Ejemplo 11040 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 19,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,69 min; IEN-EM(+) m/z 1096,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1095,0586 (M+2H) Encontrado: 1095,0567 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11041



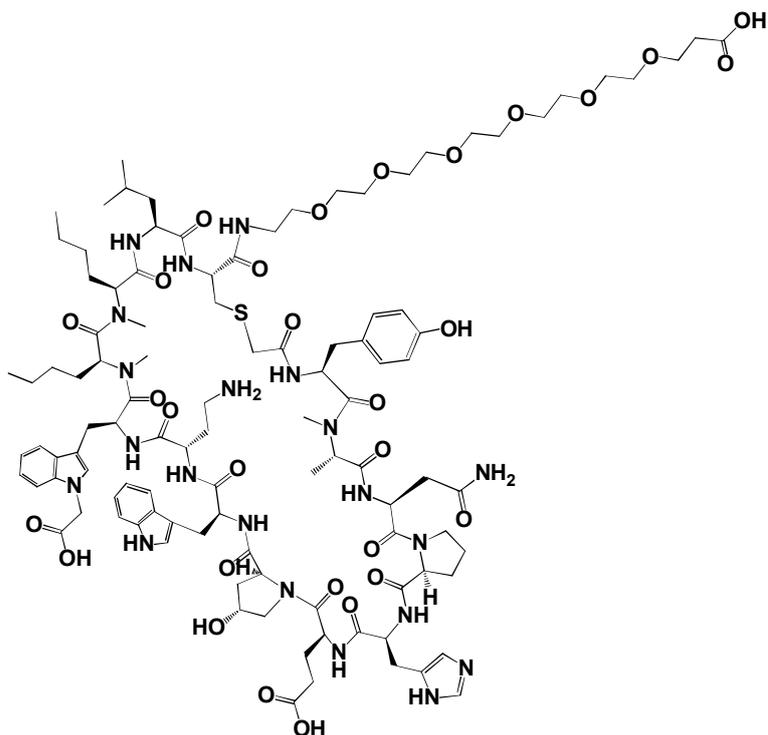
- El Ejemplo 11041 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,50 min; IEN-EM(+) m/z 1153,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1152,5721 (M+2H) Encontrado: 1153,5719 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11042



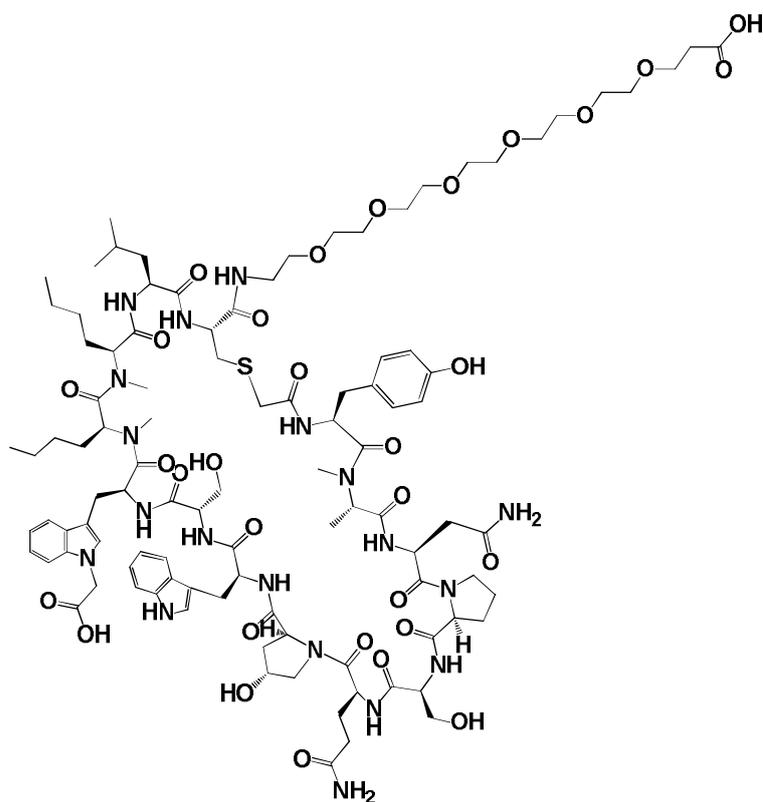
- El Ejemplo 11042 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,66 min; IEN-EM(+) m/z 1081,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1081,5294 (M+2H) Encontrado: 1081,5288 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11043



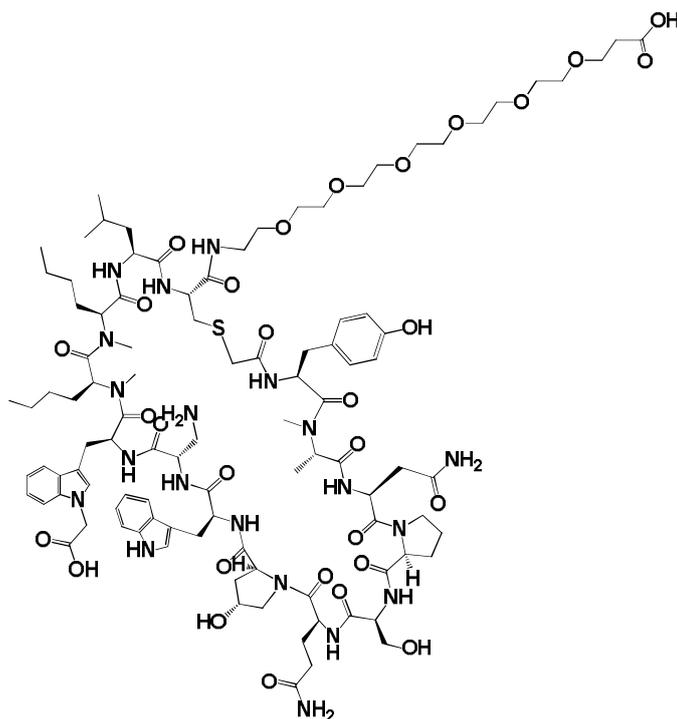
- El Ejemplo 11044 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 10,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,66 min; IEN-EM(+) m/z 1117,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1117,0479 (M+2H) Encontrado: 1117,0452 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11045



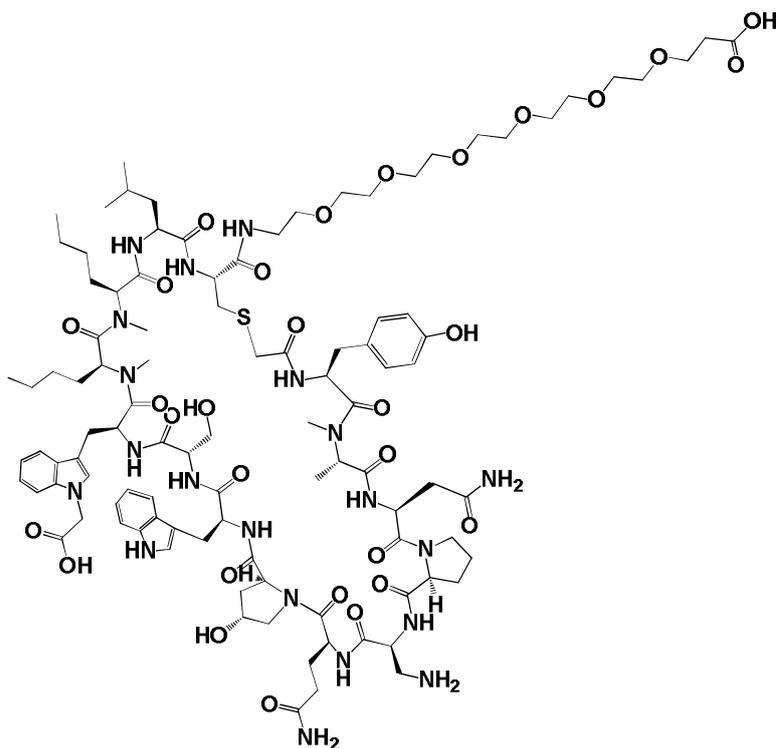
- Ejemplo 11045 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,66 min; IEN-EM(+) m/z 1085,1 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11046



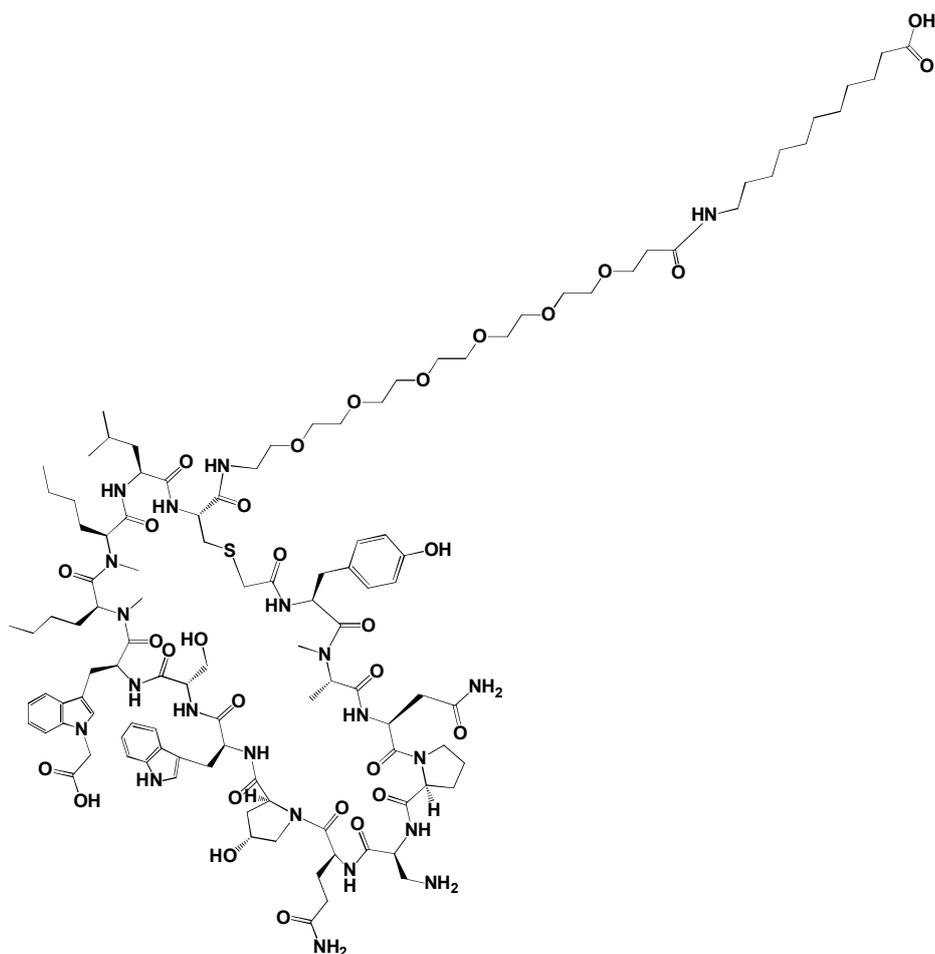
- El Ejemplo 11046 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,48 min; IEN-EM(+) m/z 1084,5 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11047



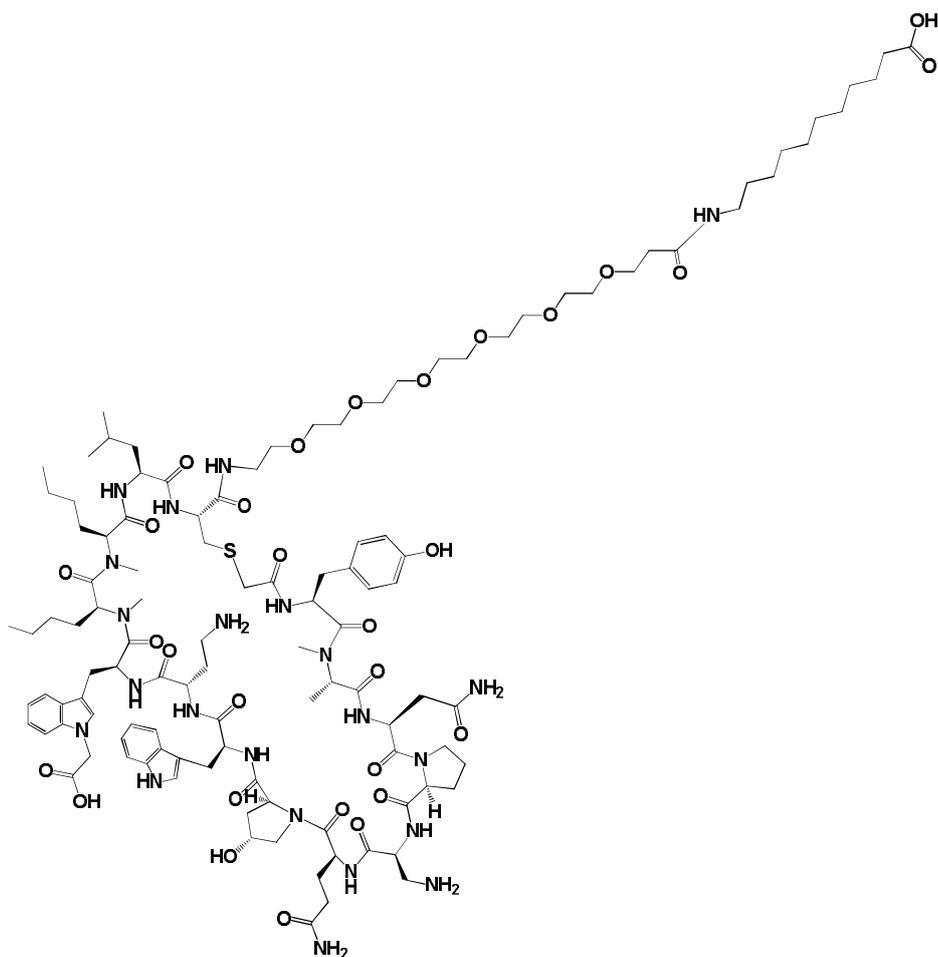
- El Ejemplo 11047 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 20,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,44 min; IEN-EM(+) m/z 1084,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1084,5346 (M+2H) Encontrado: 1084,5362 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11060



- El Ejemplo 11060 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,83 min; IEN-EM(+) m/z 1177,0 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11061

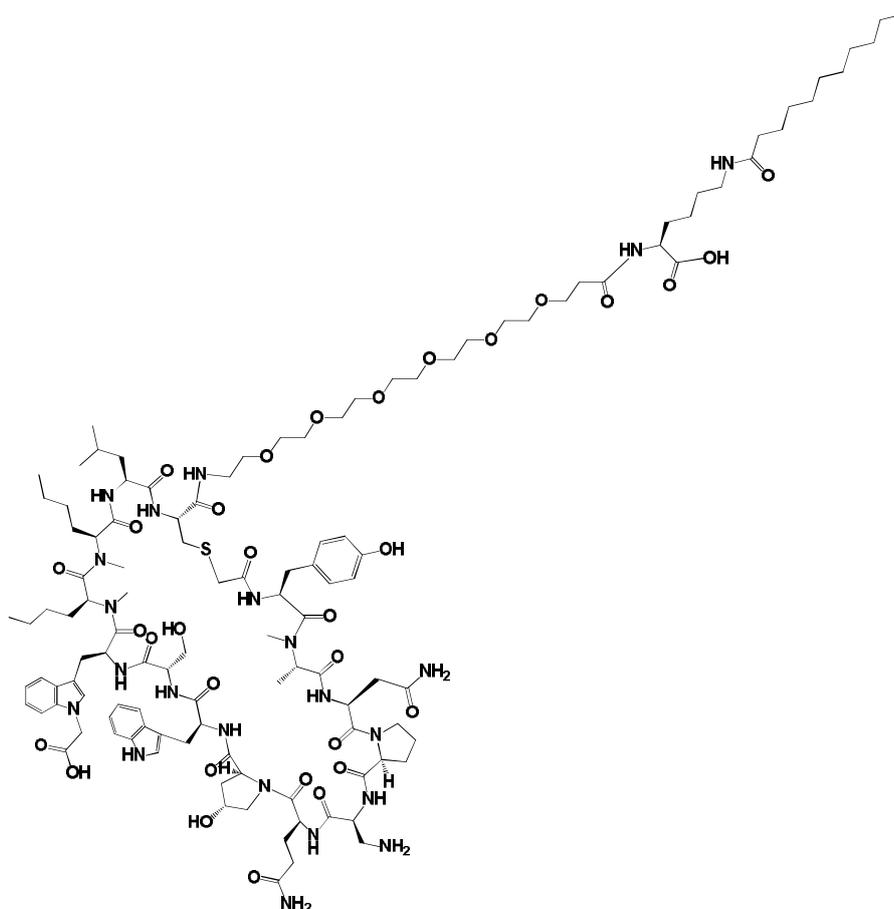


El Ejemplo 11061 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada en esta síntesis. Se usó ácido Fmoc-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaóxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 28,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.

Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,97 min; IEN-EM(+) m/z 1182,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1182,6316 (M+2H) Encontrado: 1182,6275 (M+2H).

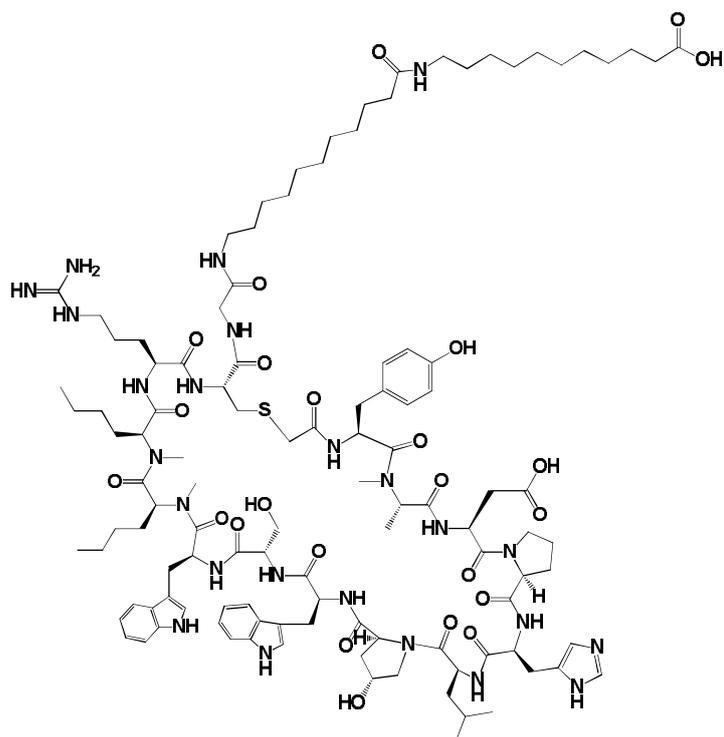
Preparación del Ejemplo 11062

20



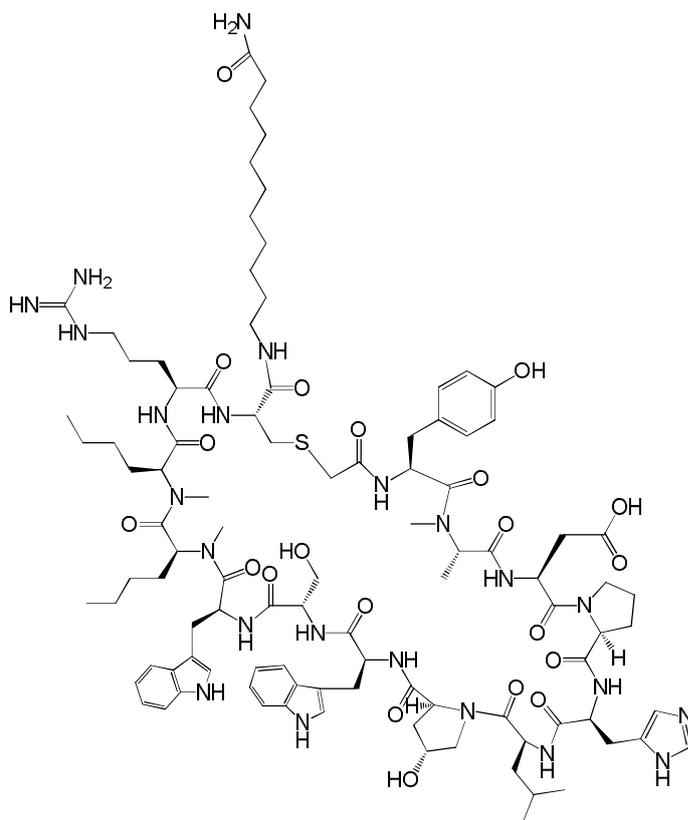
El Ejemplo 11062 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada B en esta síntesis. Se usó ácido FMOC-21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosanoico con el "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,36 min; IEN-EM(+) m/z 1232,5 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11063



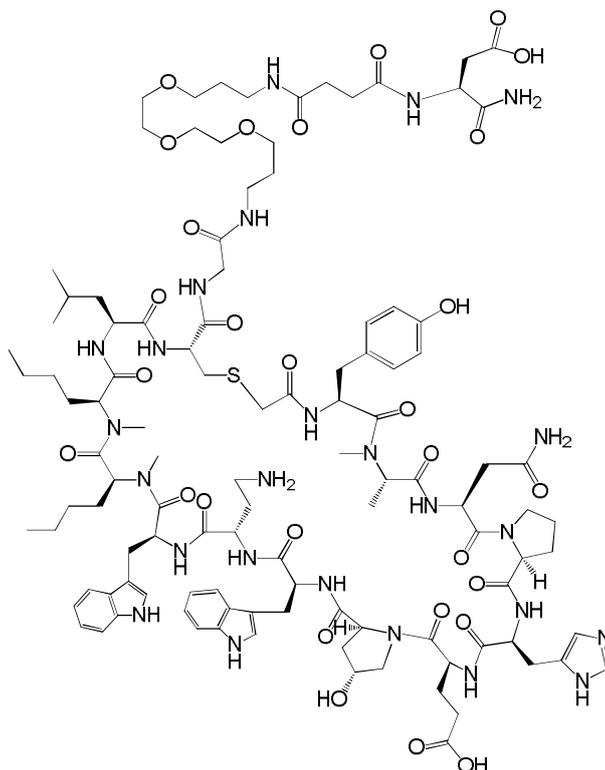
El Ejemplo 11063 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,11 min; IEN-EM(+) m/z 1139,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1139,6265 (M+2H) Encontrado: 1139,6252 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11064



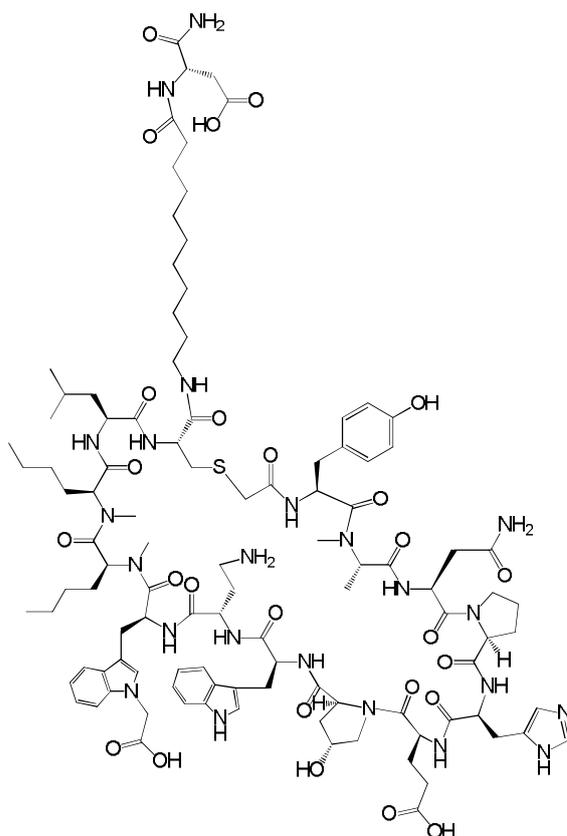
- El Ejemplo 11064 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 26 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,7 %; Condición A de análisis: Tiempo de retención = 3.90 min; IEN-EM(+) m/z 1019,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1019,0426 (M+2H) Encontrado: 1019,0407 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11065



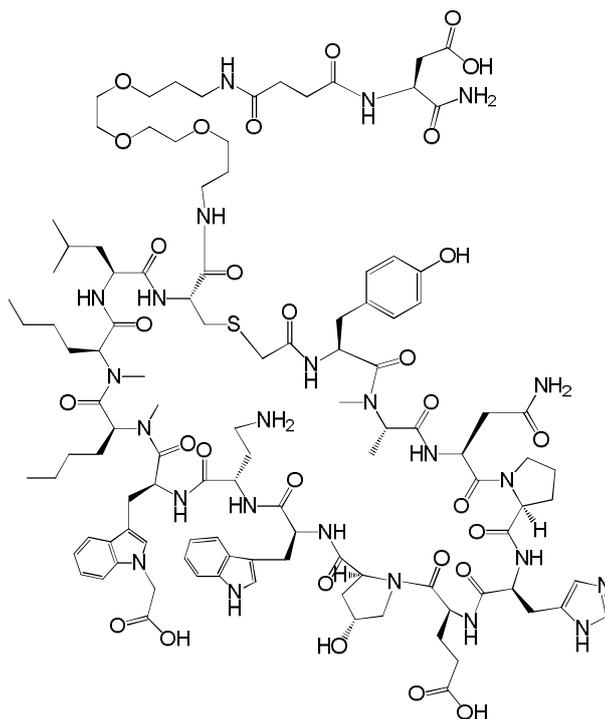
El Ejemplo 11065 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 37 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,706 min; IEN-EM(+) m/z 1158,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1157,0723 (M+2H) Encontrado: 1157,0697 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11066



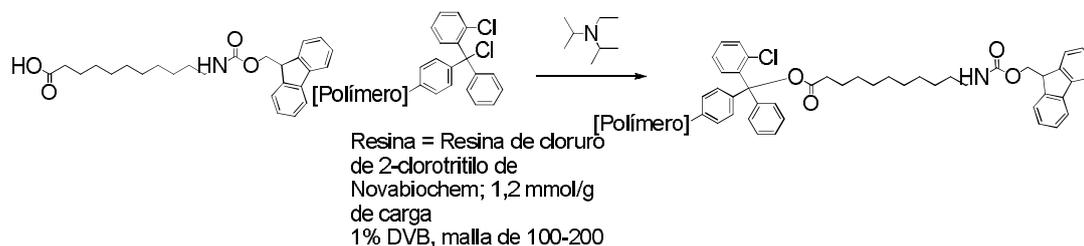
El Ejemplo 11066 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 48 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,578 min; IEN-EM(+) m/z 1098,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1098,0533 (M+2H) Encontrado: 1098,0513 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11067



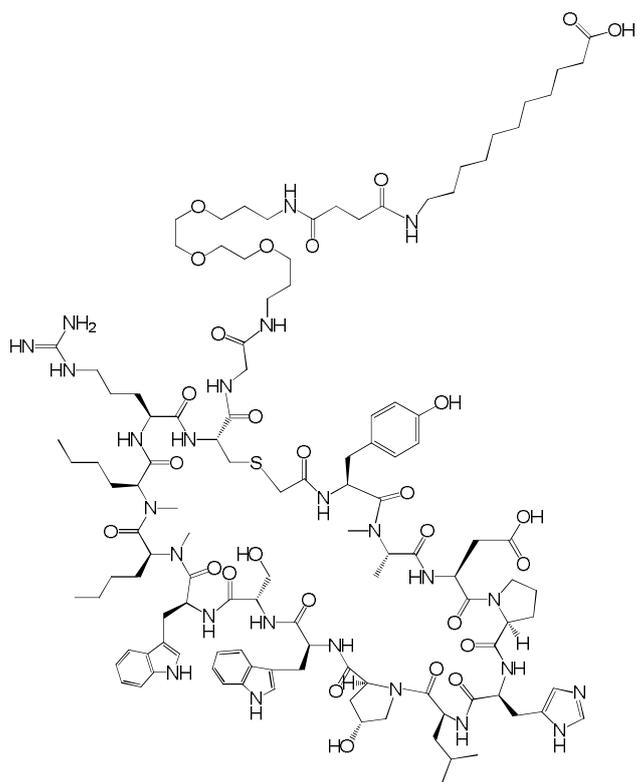
El Ejemplo 11067 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 36,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,225 min; IEN-EM(+) m/z 1158,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1157,5643 (M+2H) Encontrado: 1157,5622 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada C



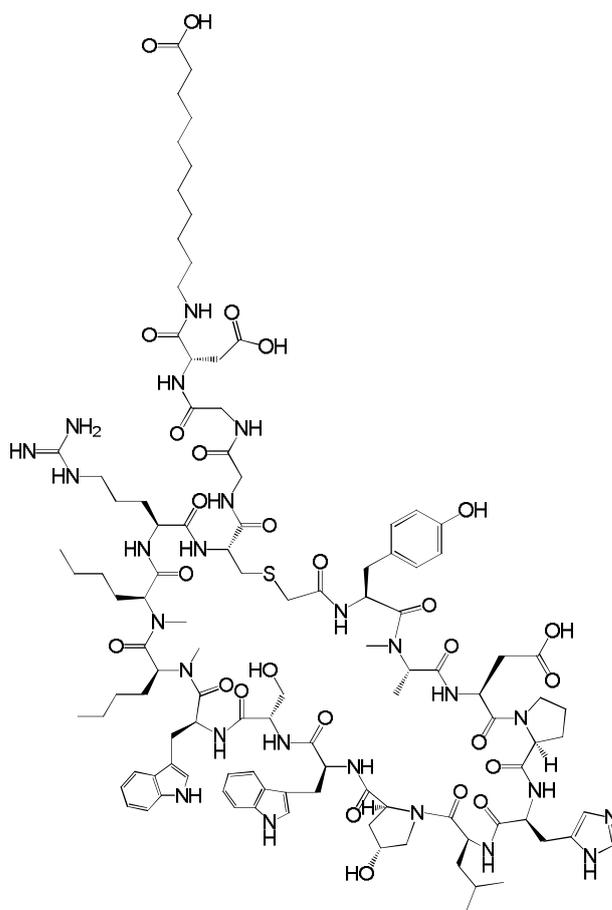
A un vial de 40 ml se le añadió resina de cloruro de 2-clorotritilo (1,2 mmol/g de carga) (6,37 g, 7,65 mmol). La resina se expandió en 15 ml de diclorometano durante 10 minutos. Se añadió una solución de (1,2 g, 2,83 mmol), FMOC-añadido, ácido 11-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)undecanoico en 5 ml de diclorometano y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (3,45 ml, 19,83 mmol), y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente en un miniagitador. Después de 20 h, la mezcla se diluyó con 3 ml de metanol y se agitó durante 2 h para inactivar cualquier resina de clorotritilo sin reaccionar. La resina se filtró al vacío en un tubo de reacción de polipropileno y se lavó con 100 ml de DMF, 100 ml de diclorometano y finalmente con 10 ml de dietiléter. La resina se secó al aire y se usó en el estado en el cual se encontraba asumiendo 0,44 mmol/g de carga.

Preparación del Ejemplo 11068



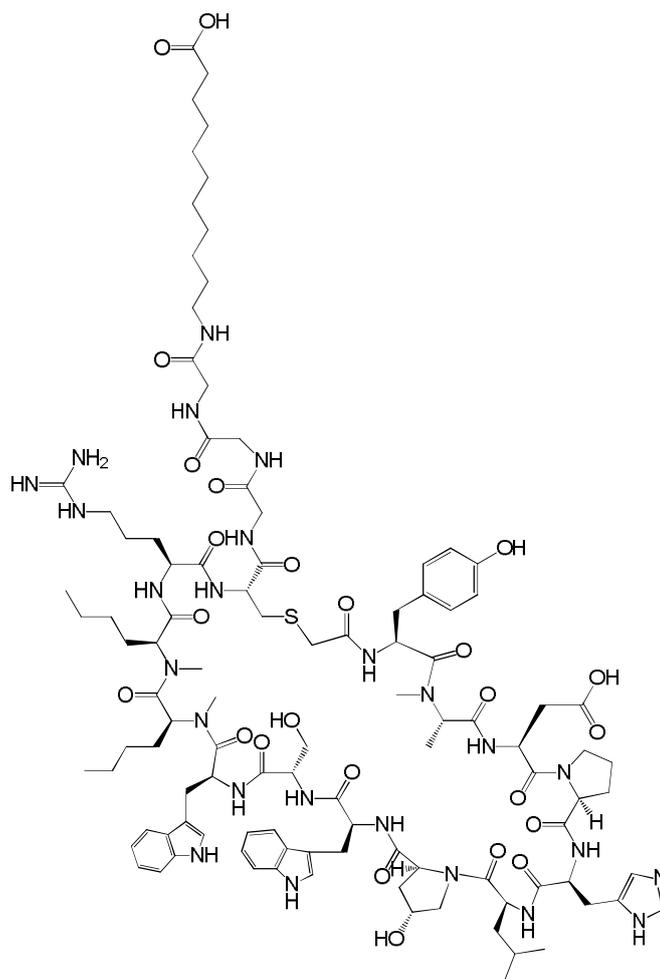
- El Ejemplo 11068 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 32 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,2 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,781 min; IEN-EM(+) m/z 1200,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1199,1374 (M+2H) Encontrado: 1199,1379 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11069



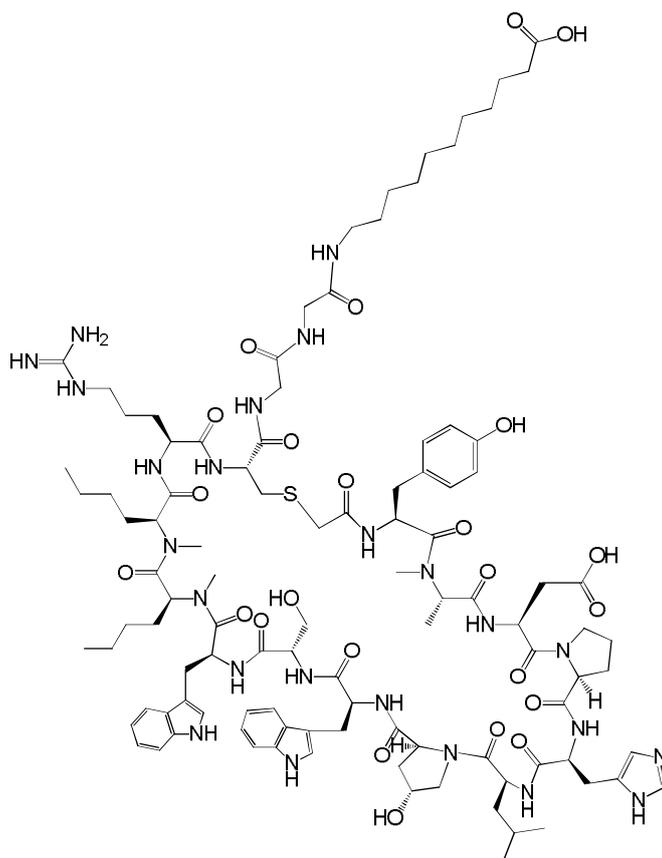
- El Ejemplo 11069 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,598 min; IEN-EM(+) m/z 1135,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1134,0695 (M+2H) Encontrado: 1134,0691 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11070



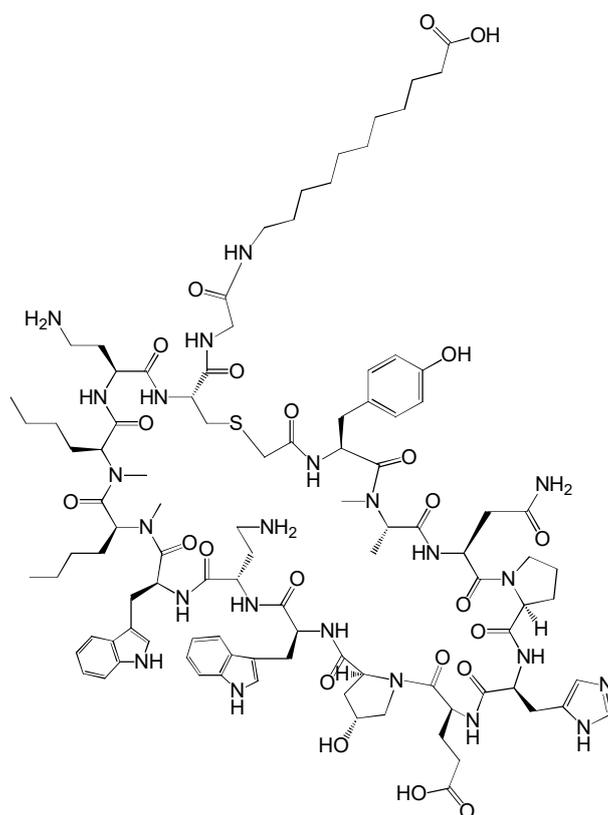
- El Ejemplo 11070 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 31 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,4 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,715 min; IEN-EM(+) m/z 1106,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1105,0668 (M+2H) Encontrado: 1105,0663 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11071



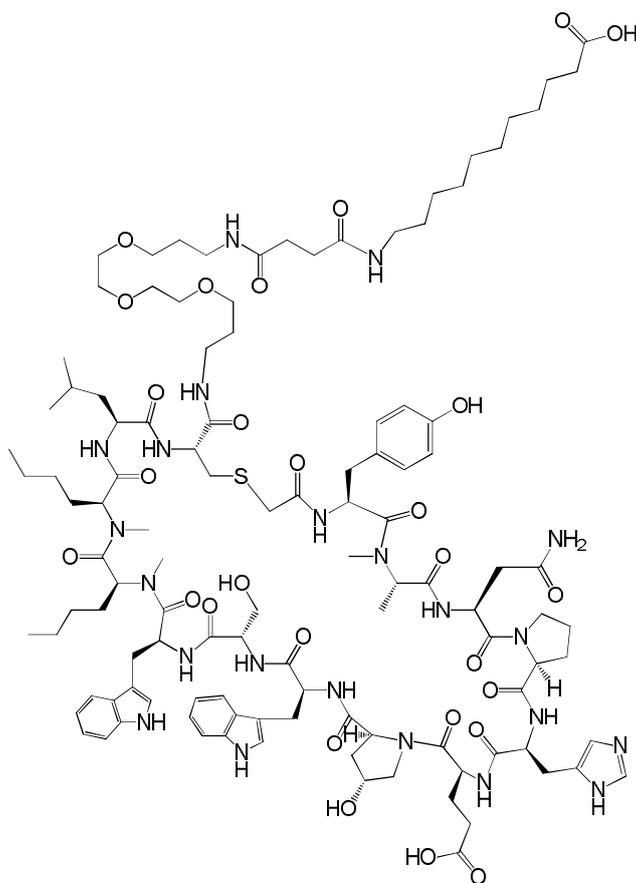
- El Ejemplo 11071 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 32 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,2 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,733 min; IEN-EM(+) m/z 1077,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1076,5561 (M+2H) Encontrado: 1076,5547 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11072



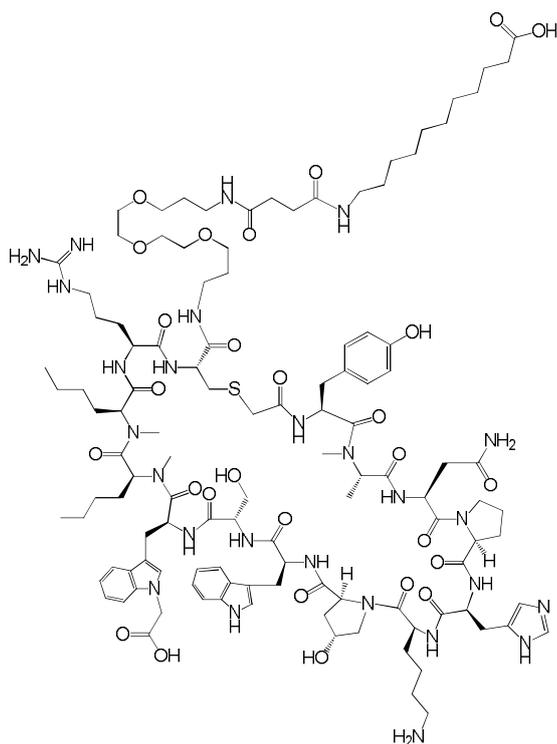
- El Ejemplo 11072 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 51 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,655 min; IEN-EM(+) m/z 1035,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1034,0297 (M+2H) Encontrado: 1034,0269 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11073



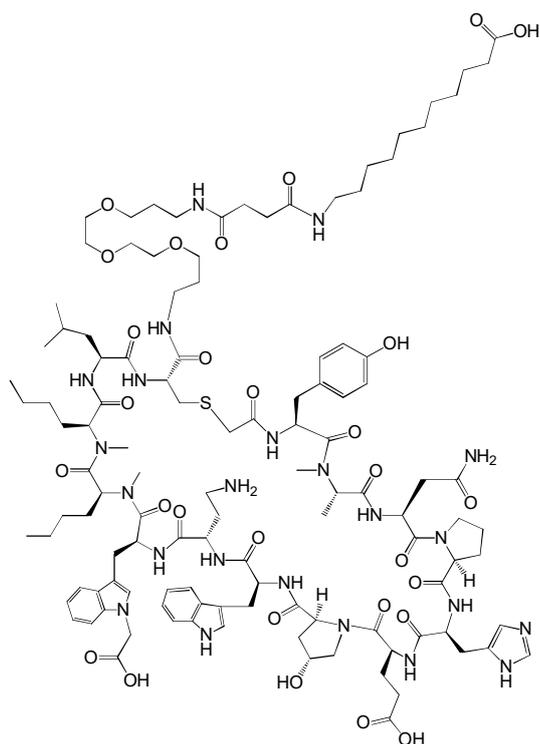
- El Ejemplo 11073 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,7 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,038 min; IEN-EM(+) m/z 1157,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1156,6054 (M+2H) Encontrado: 1156,6029 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11074



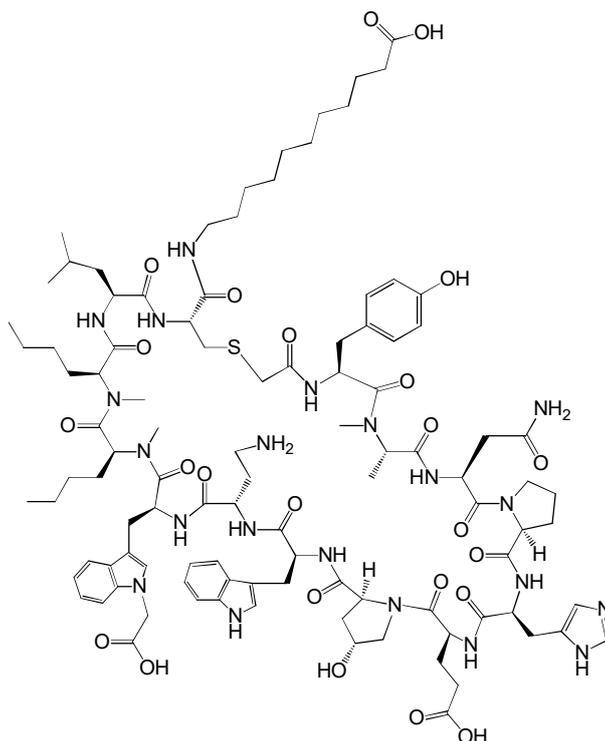
- El Ejemplo 11074 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil
- 5
- 10 A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,7 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,038 min; IEN-EM(+) m/z 1157,6 (M+2H);
- 15 IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1156,6054 (M+2H) Encontrado: 1156,6029 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11075



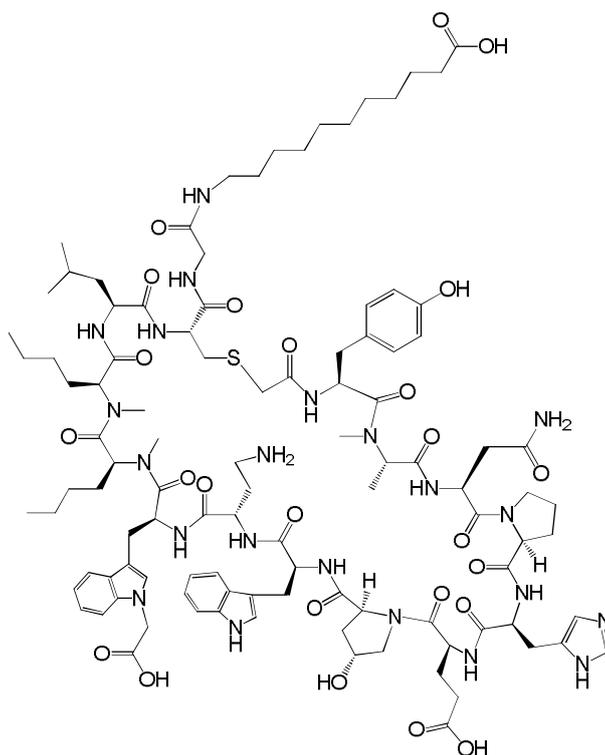
- El Ejemplo 11075 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 40 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,1 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,878 min; IEN-EM(+) m/z 1193,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1192,1240 (M+2H) Encontrado: 1192,1227 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11076



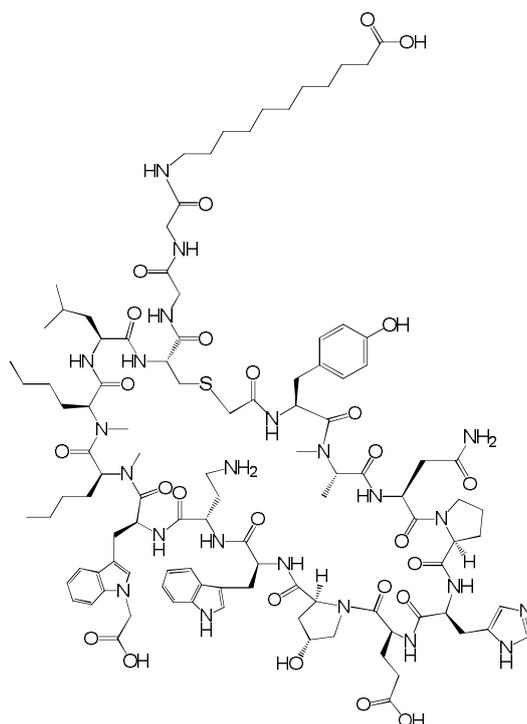
- El Ejemplo 11076 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 42 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,088 min; IEN-EM(+) m/z 1042,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1041,0319 (M+2H) Encontrado: 1041,0309 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11077



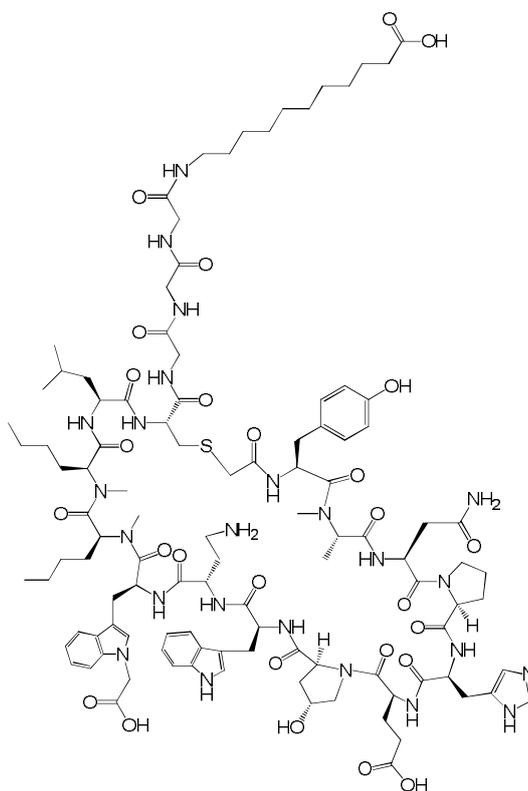
- El Ejemplo 11077 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 38 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,050 min; IEN-EM(+) m/z 1070,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1069,5426 (M+2H) Encontrado: 1069,5405 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11078



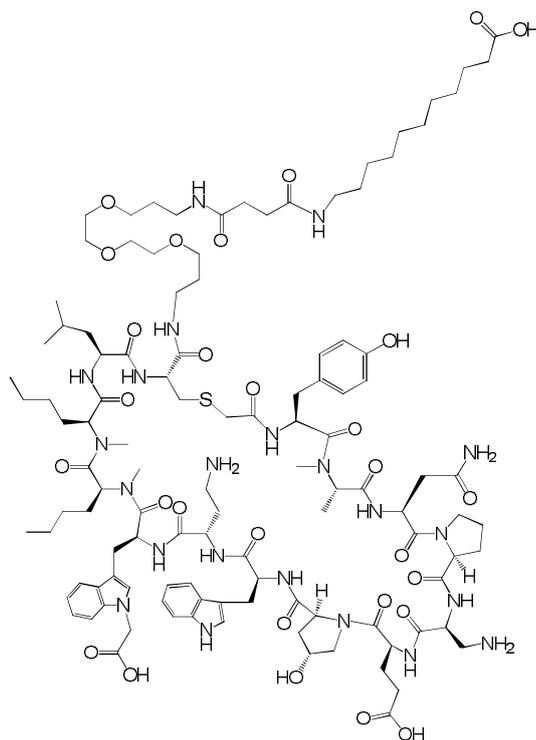
- El Ejemplo 11078 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 40 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,903 min; IEN-EM(+) m/z 1098,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1098,0533 (M+2H) Encontrado: 1098,0508 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11079



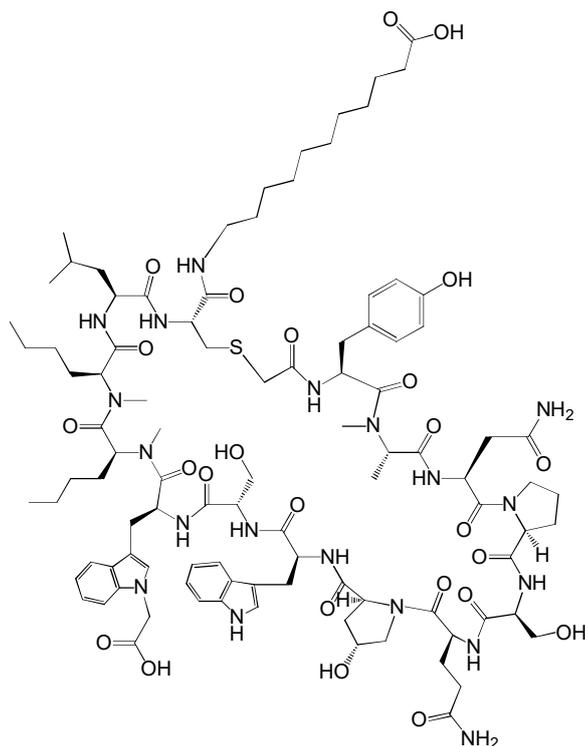
- El Ejemplo 11079 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 46 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,533 min; IEN-EM(+) m/z 1127,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1126,5641 (M+2H) Encontrado: 1126,5608 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11080



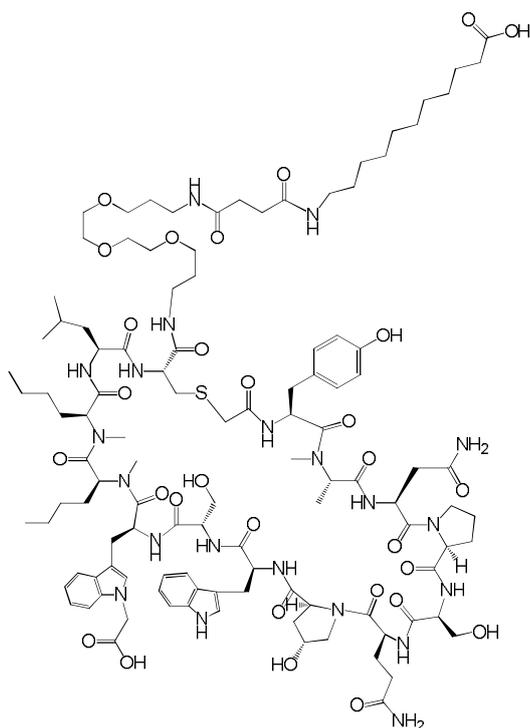
- El Ejemplo 11081 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 38 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,743 min; IEN-EM(+) m/z 1167,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1166,6185 (M+2H) Encontrado: 1166,6167 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11082



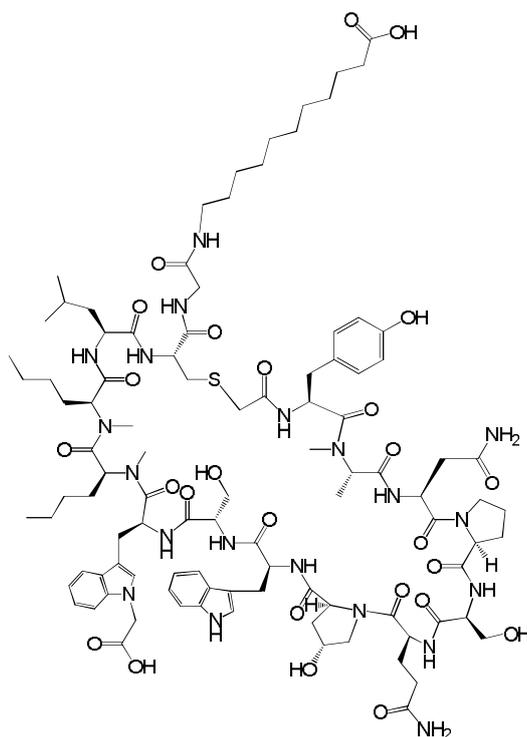
- El Ejemplo 11082 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 28 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,688 min; IEN-EM(+) m/z 1010,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1009,0106 (M+2H) Encontrado: 1009,0103 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11083



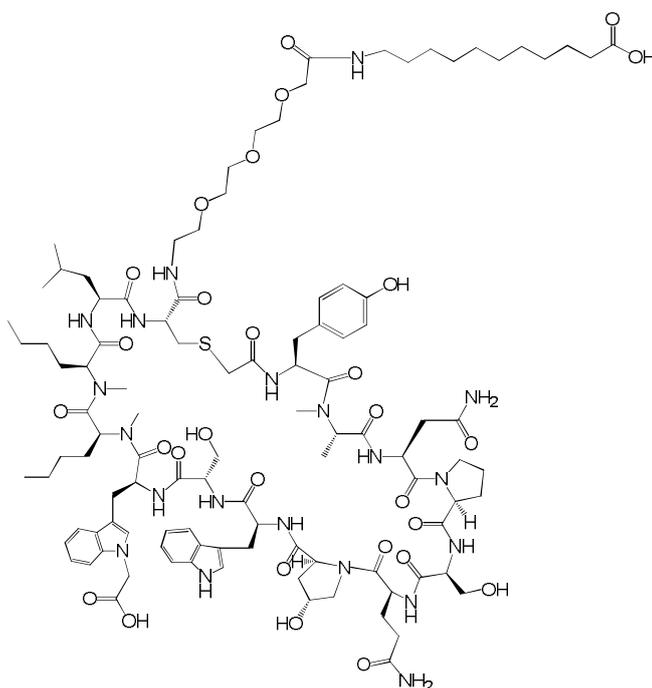
- El Ejemplo 11083 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 31 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,576 min; IEN-EM(+) m/z 1161,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1160,1027 (M+2H) Encontrado: 1160,1039 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11084



- El Ejemplo 11084 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,2 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,625 min; IEN-EM(+) m/z 1038,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1037,5213 (M+2H) Encontrado: 1037,5221 (M+2H).

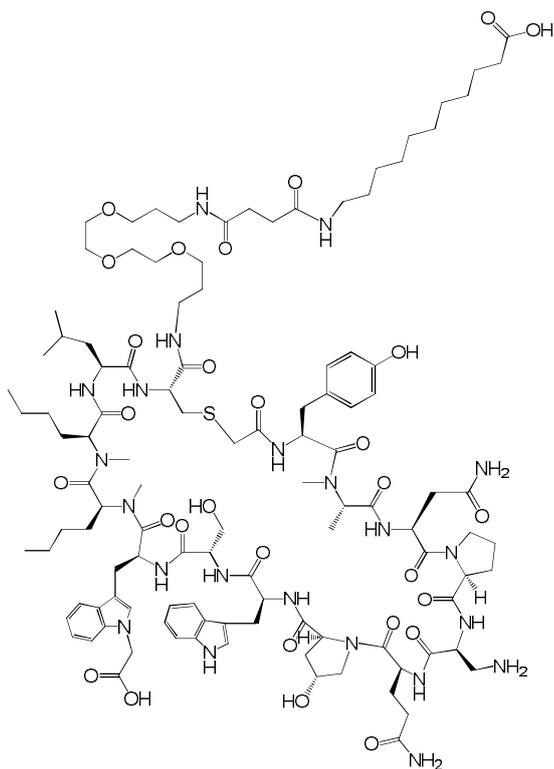
Preparación del Ejemplo 11085



El Ejemplo 11085 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,7 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,951 min; IEN-EM(+) m/z 1104,7 (M+2H).

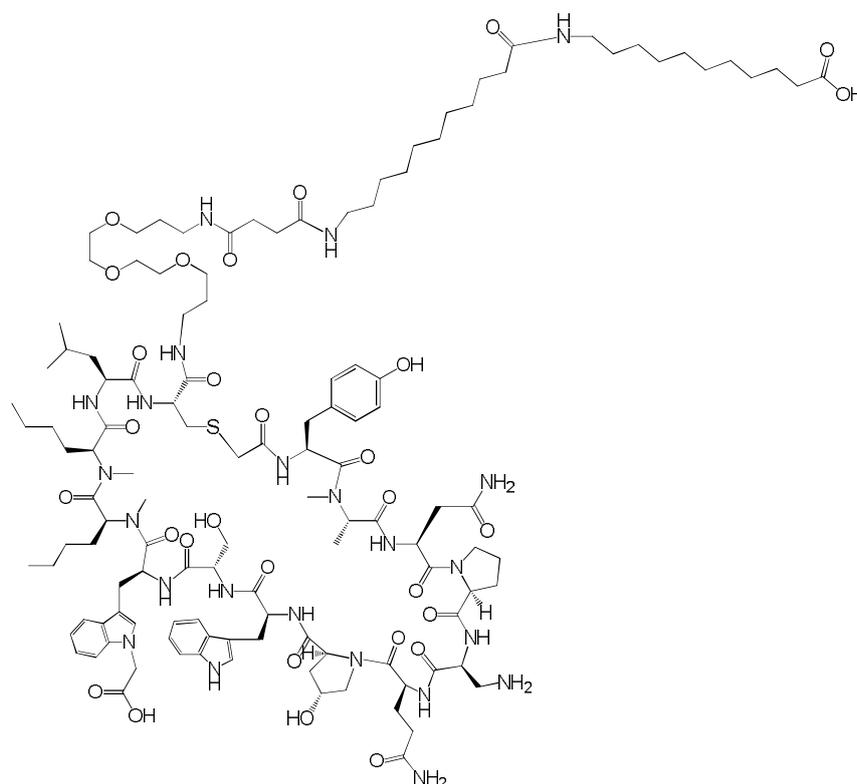
15

Preparación del Ejemplo 11086



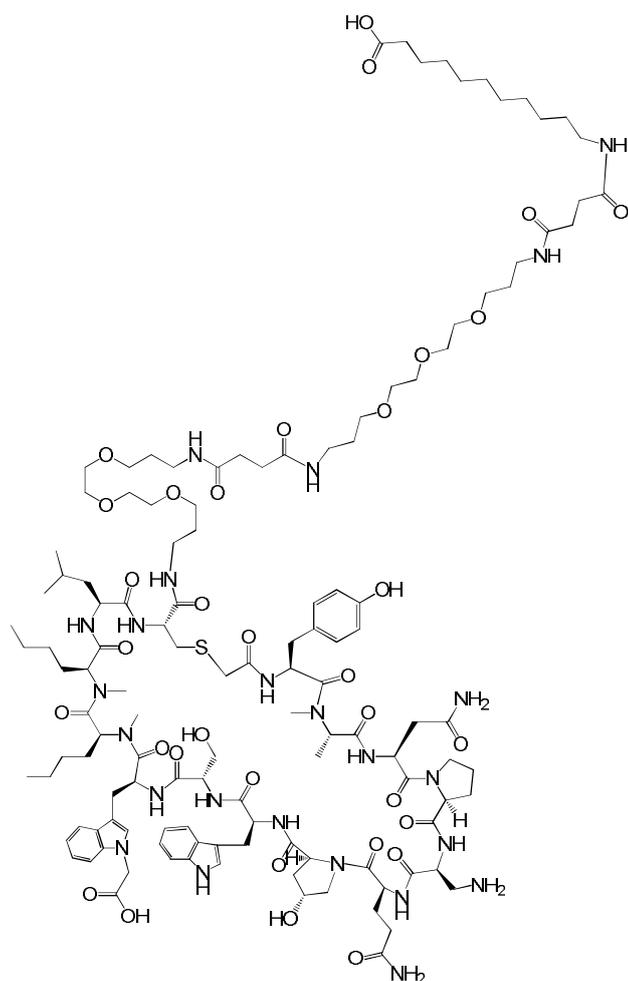
- El Ejemplo 11086 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 32 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,088 min; IEN-EM(+) m/z 1160,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1159,6107 (M+2H) Encontrado: 1159,6104 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11087



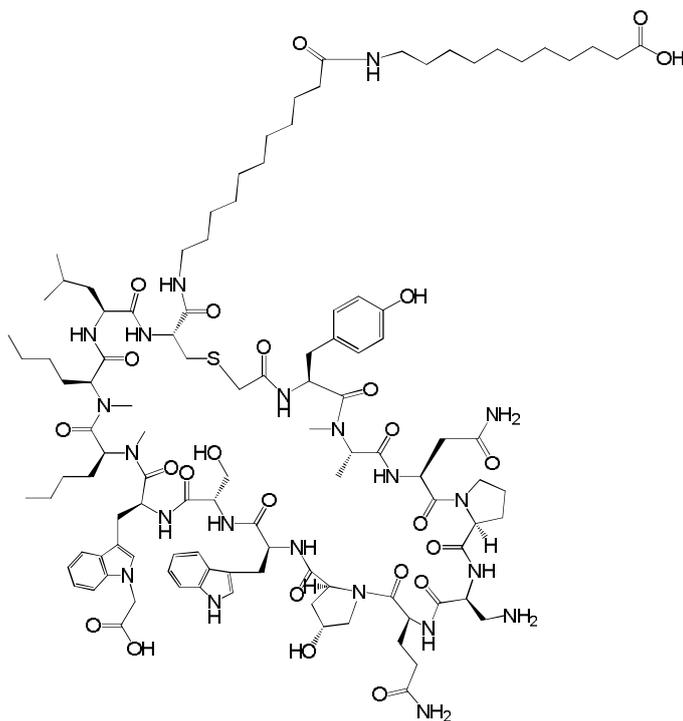
- El Ejemplo 11087 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,595 min; IEN-EM(+) m/z 1252,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1251,1918 (M+2H) Encontrado: 1251,1919 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11088



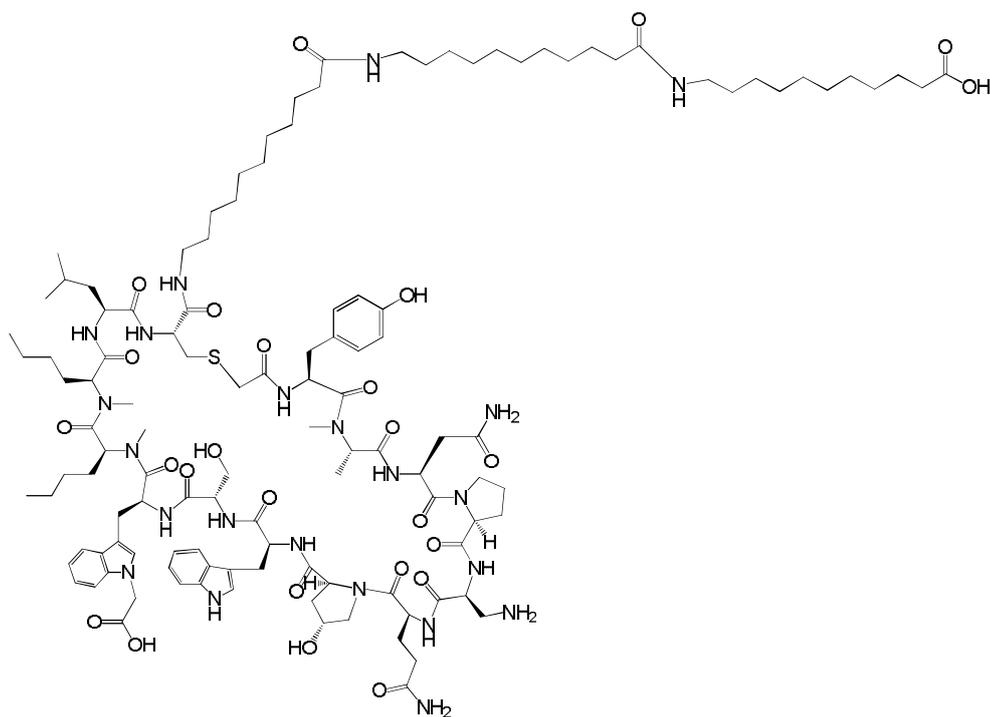
- El Ejemplo 11088 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94,1 %. Condición A del análisis de CLEM: Gradiente de 4 min; mantenimiento de 1 min: Tiempo de retención = 2,300 min; IEN-EM(+) m/z 1311,5 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11089



El Ejemplo 11089 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 87,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,923 min; IEN-EM(+) m/z 1100,9 (M+2H).

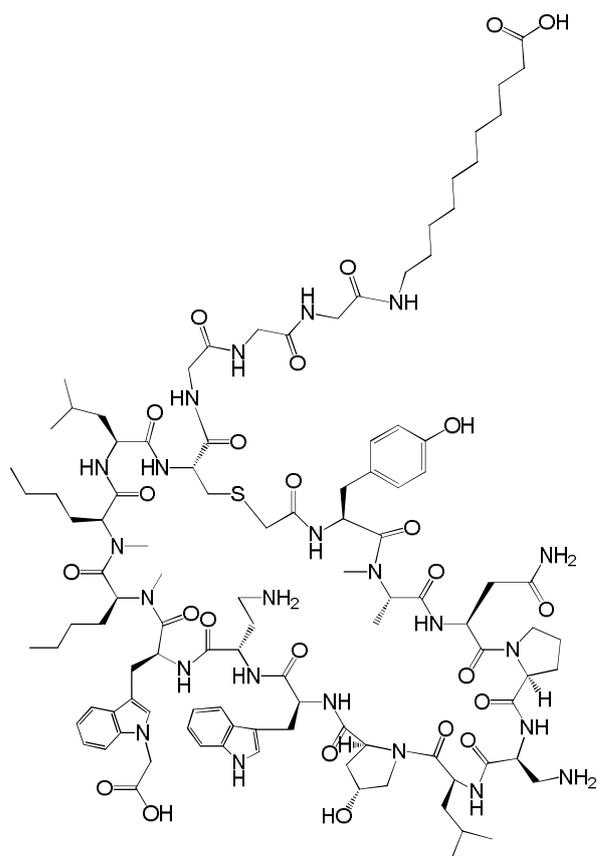
15 *Preparación del Ejemplo 11090*



El Ejemplo 11090 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,5 %; Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,395 min; IEN-EM(+) m/z 1192,7 (M+2H).

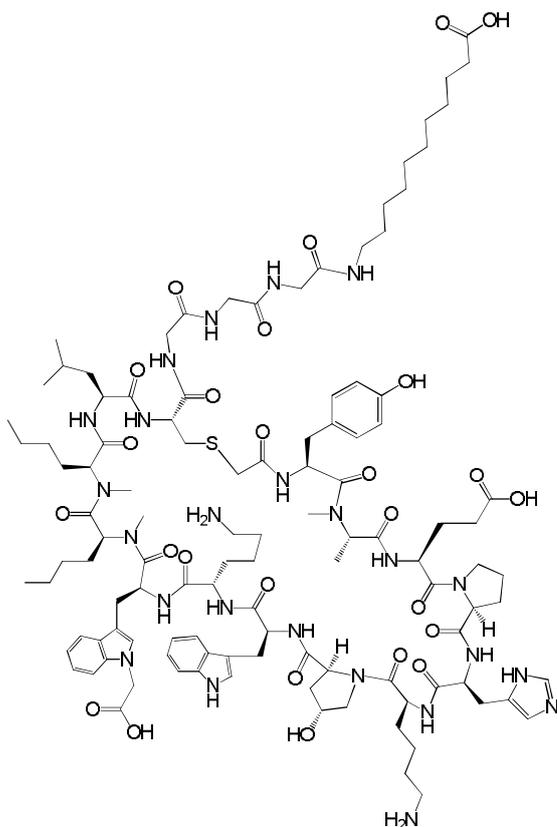
15

Preparación del Ejemplo 11091



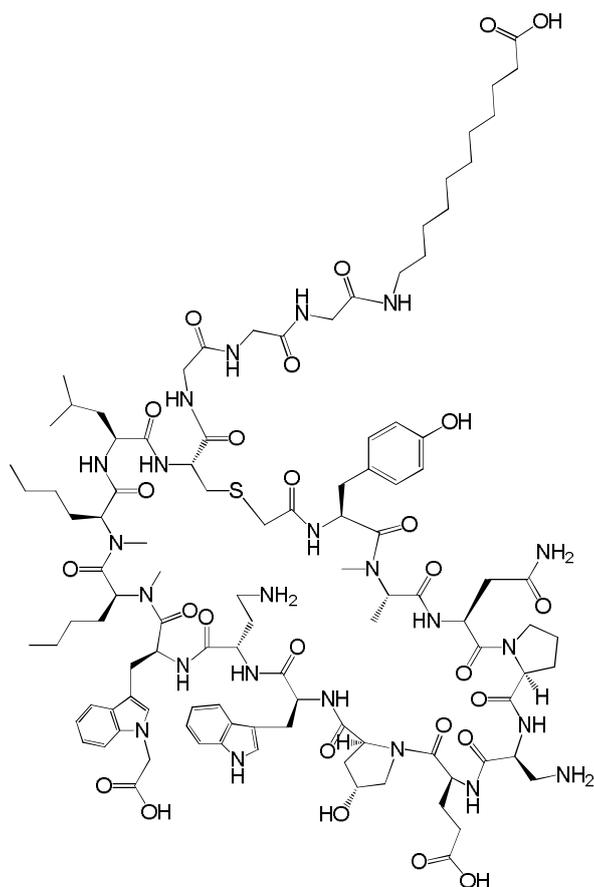
- El Ejemplo 11091 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,256 min; IEN-EM(+) m/z 1093,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1093,0794 (M+2H) Encontrado: 1093,0779 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11092



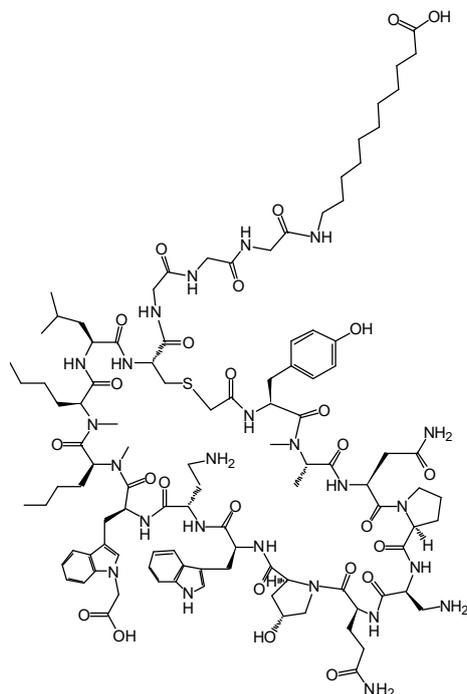
- El Ejemplo 11092 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 31 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,031 min; IEN-EM(+) m/z 1148,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1159,6107 (M+2H) Encontrado: 1159,6104 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11093



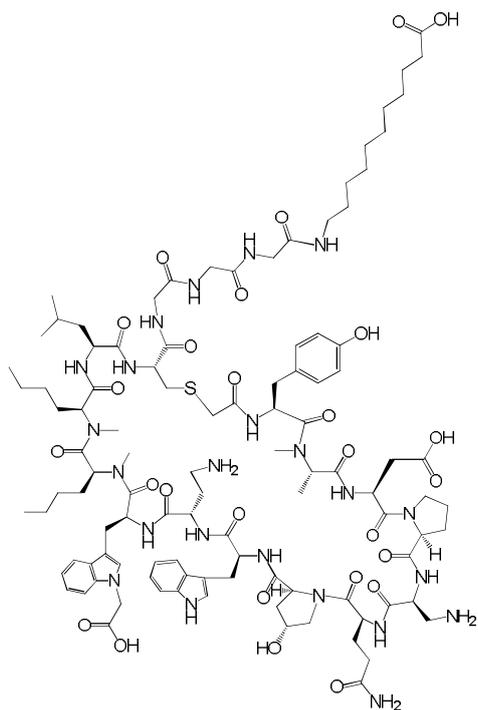
- El Ejemplo 11093 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Gradiente de 9 min; mantenimiento de 1 min; Tiempo de retención = 3,920 min; IEN-EM(+) m/z 1101,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1101,0586 (M+2H) Encontrado: 1101,0578 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11094



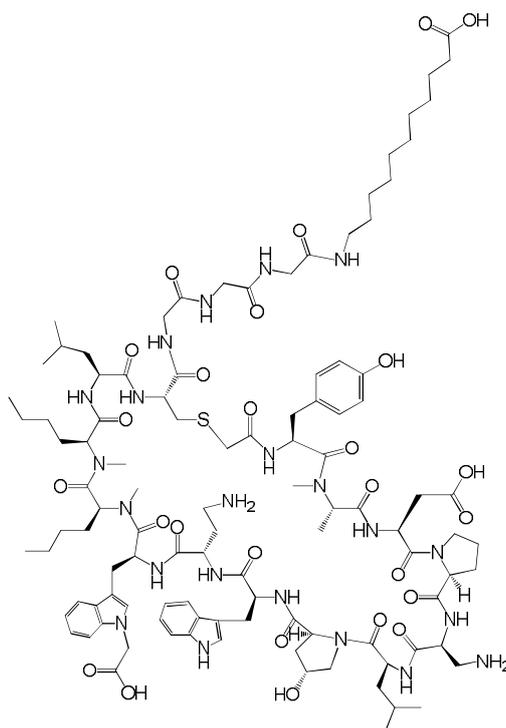
- El Ejemplo 11094 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Gradiente de 9 min; mantenimiento de 1 min: Tiempo de retención = 4,023 min; IEN-EM(+) m/z 1101,5 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11095



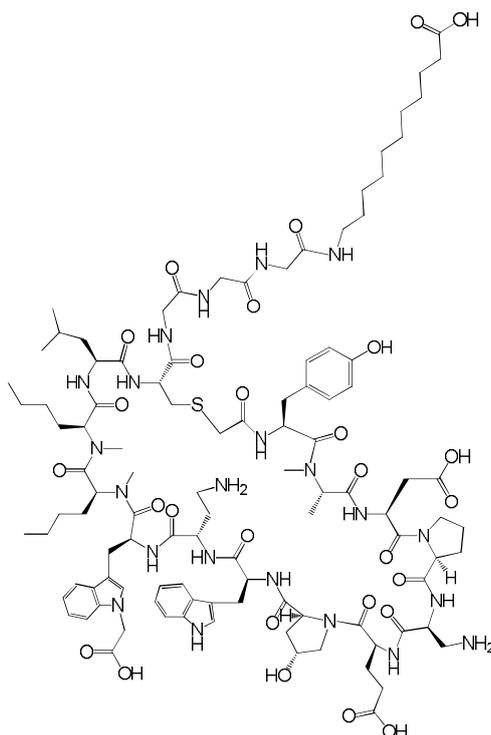
- El Ejemplo 11095 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,4 %. Condición A del análisis de CLEM: Gradiente de 4 min; mantenimiento de 1 min: Tiempo de retención = 2,288 min; IEN-EM(+) m/z 1101,9 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11096



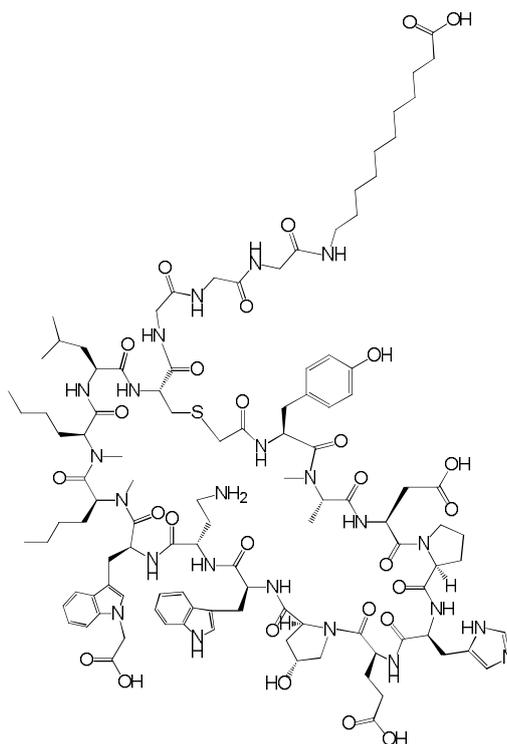
- El Ejemplo 11096 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 13 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,056 min; IEN-EM(+) m/z 1094,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1093,5714 (M+2H) Encontrado: 1093,5685 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11097



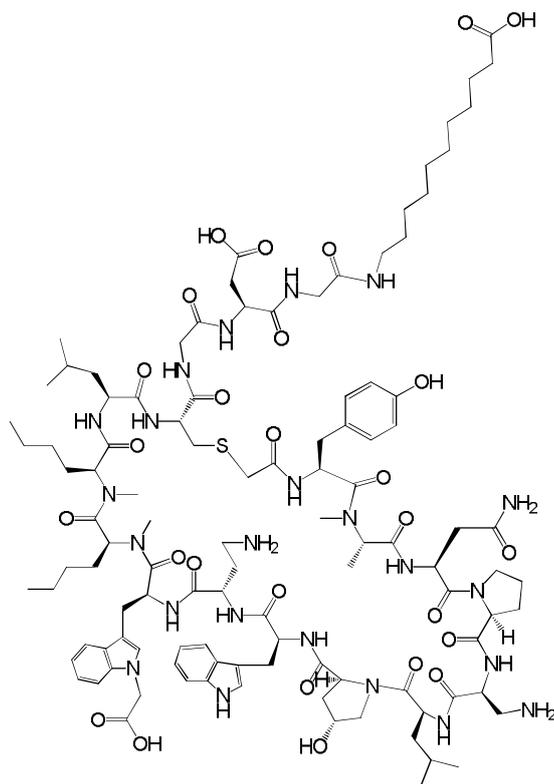
- El Ejemplo 11097 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 39 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94,4 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,953 min; IEN-EM(+) m/z 1102,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1101,5506 (M+2H) Encontrado: 1101,5499 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11098



El Ejemplo 11098 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,878 min; IEN-EM(+) m/z 1127,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1127,0561 (M+2H) Encontrado: 1127,0564 (M+2H)

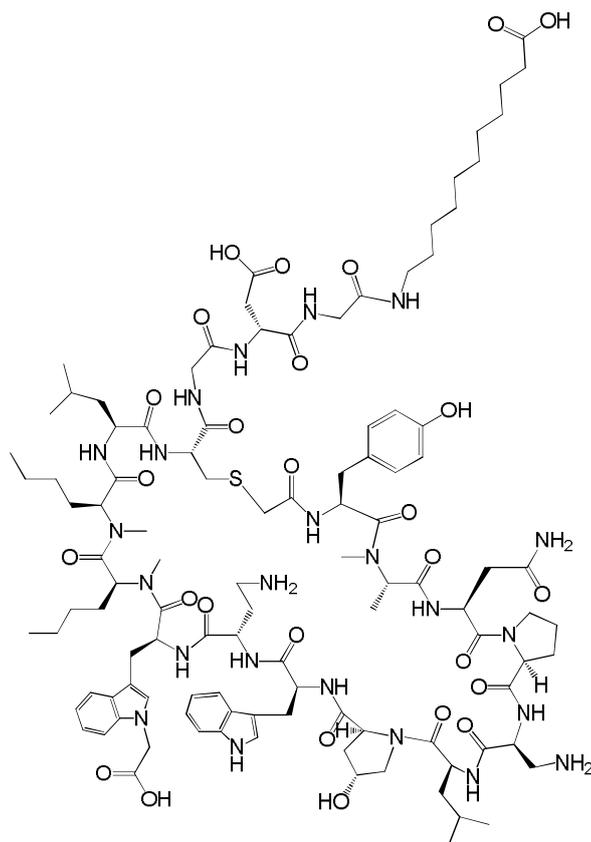
Preparación del Ejemplo 11099



El Ejemplo 11099 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 33 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,035 min; IEN-EM(+) m/z 1122,8 (M+2H).

15

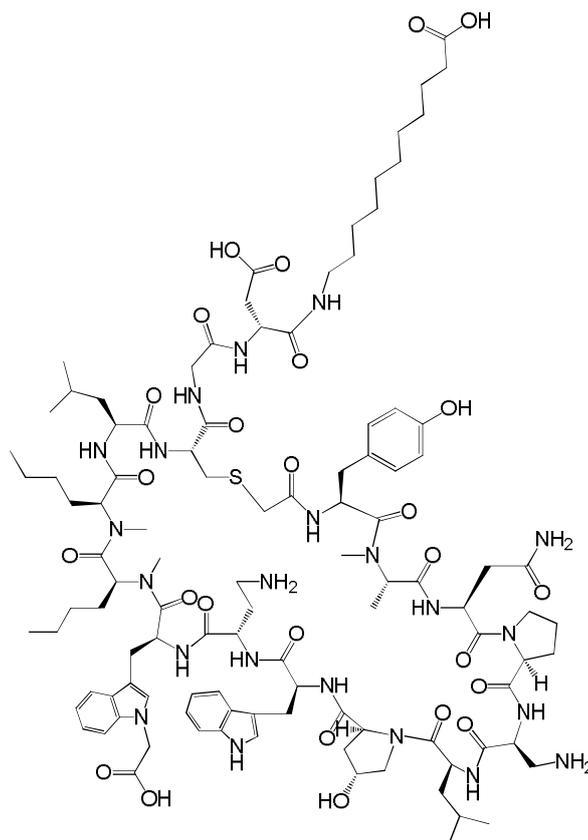
Preparación del Ejemplo 11100



El Ejemplo 11100 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 31 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,08 min; IEN-EM(+) m/z 1122,8 (M+2H).

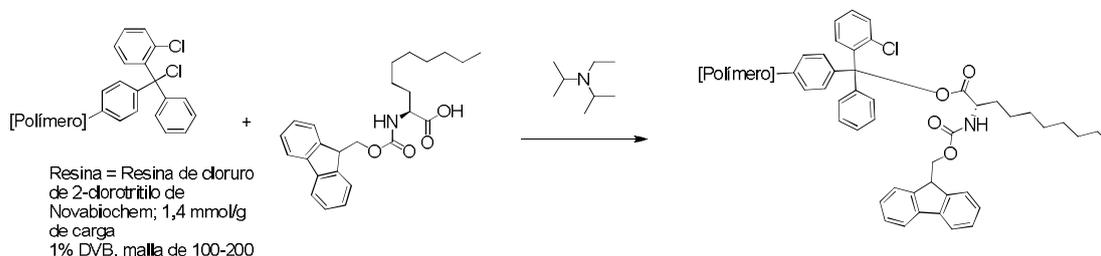
15

Preparación del Ejemplo 11101



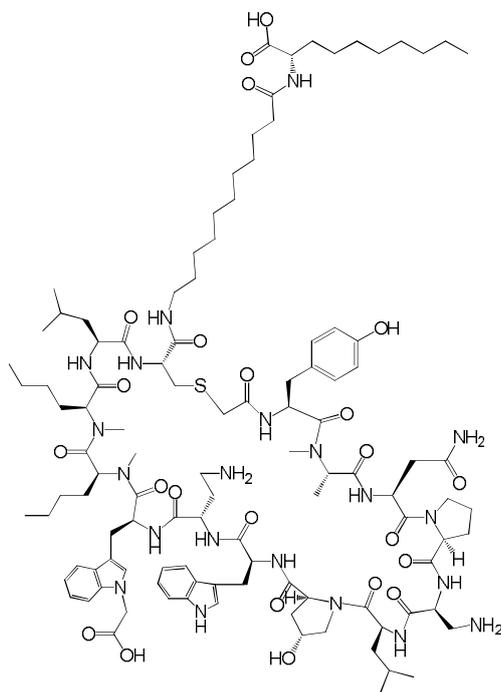
El Ejemplo 11101 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 43 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,16 min; IEN-EM(+) m/z 1094,3 (M+2H)

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada D



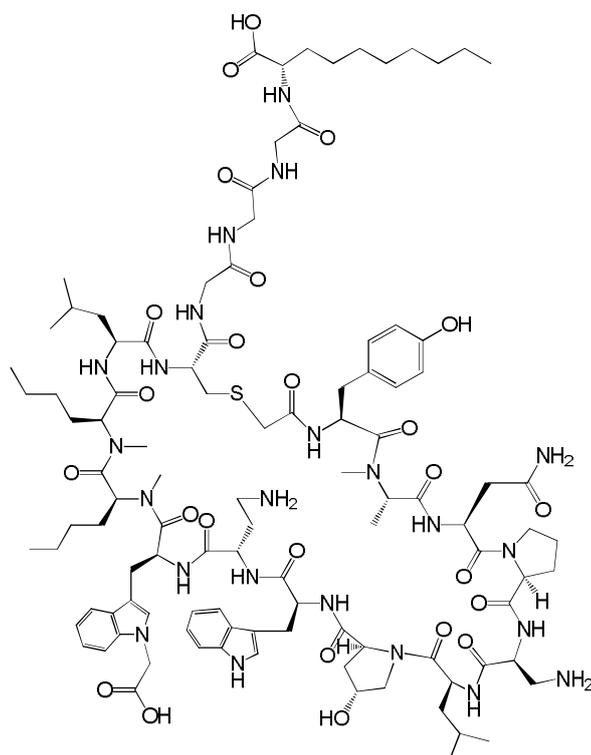
A un vial de centelleo de 20 ml se le añadieron (S)-N-FMOC-OCTILGLICINA (180 mg, 0,440 mmol), cloruro de 2-clorotritilo (1000 mg, 1,400 mmol), CH₂Cl₂ (10 ml) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (398 mg, 3,08 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante la noche. El día siguiente, la reacción finalizó mediante la adición de 2 ml de metanol y agitando el matraz durante 2 h más. La resina después se filtró y se lavó con CH₂Cl₂, DMF 3x, CH₂Cl₂ 3x, y finalmente dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba para la síntesis de péptidos. La resina se usó para la síntesis de péptidos con una carga asumida de 0,44 meq/g.

Preparación del Ejemplo 11102



- El Ejemplo 11102 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 30 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,4 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,223 min; IEN-EM(+) m/z 1093,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1092,1205 (M+2H) Encontrado: 1092,1202 (M+2H)

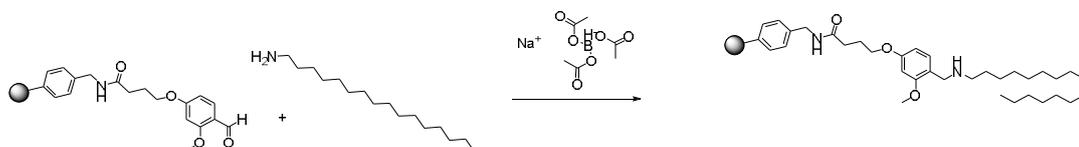
Preparación del Ejemplo 11103



El Ejemplo 11103 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,445 min; IEN-EM(+) m/z 1086,9 (M+2H).

15

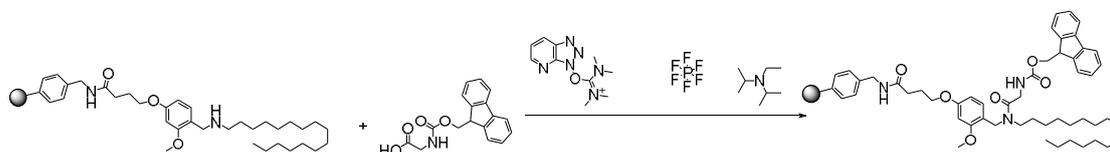
Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ A



A un vial de 20 ml se le añadieron resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo (0,94 mmol/g) (2 g, 1,880 mmol), hexadecan-1-amina (1,816 g, 7,52 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (1,594 g, 7,52 mmol), DMF (10 ml) y ácido acético (,1 ml). El vial se cerró herméticamente y se agitó durante 48 h en un agitador orbital. Después de 48 horas, la mezcla de reacción se filtró, y la resina en bruto se lavó 5X con DMF, 3X con metanol, 5X con CH₂Cl₂, y finalmente con dietiléter. La resina se secó durante la noche al vacío. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

25

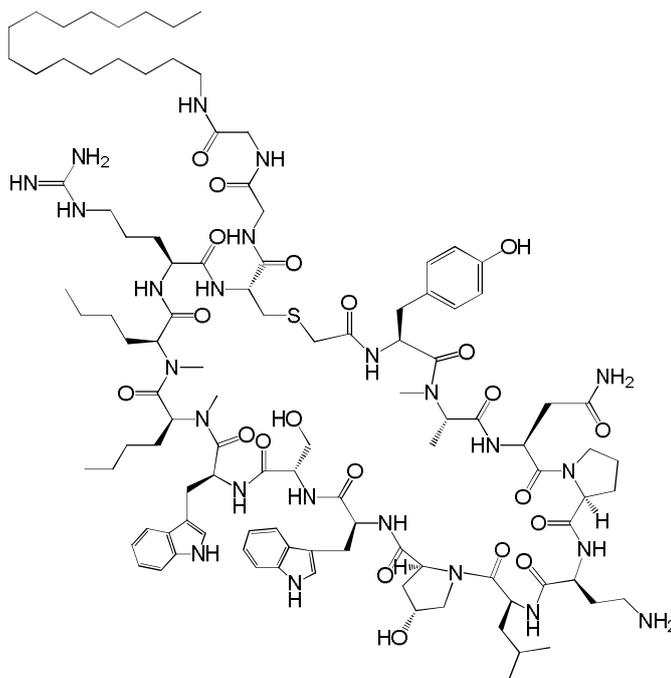
Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ B



30

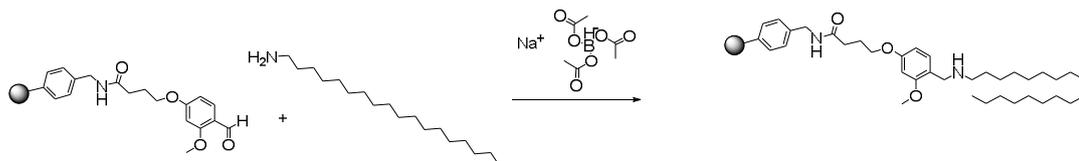
A un vial de 40 ml se le añadieron resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ A (1 g, 0,940 mmol), ácido 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)acético 0,2 M en DMF (9,40 ml, 1,880 mmol), HATU 0,2 M en DMF (9,40 ml, 1,880 mmol) y base de Hunig 0,2 M en DMF (9,40 ml, 3,76 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó en un agitador orbital durante la noche. El día siguiente, la mezcla de reacción se filtró, y la resina en bruto se lavó 5X con DMF, 5X con CH₂Cl₂ y, finalmente, 2X con dietiléter. La resina se secó durante la noche al vacío. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

Preparación del Ejemplo 11104



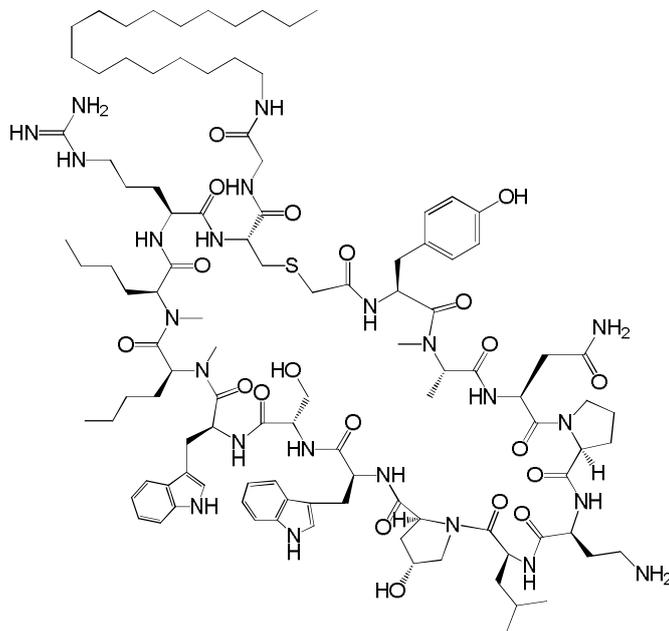
El Ejemplo 11104 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,025 min; IEN-EM(+) m/z 1078,25 (M+2H).

Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₈ A



A un vial de 20 ml se le añadió una carga de 0,94 mmol/g de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo (2 g, 1,880 mmol), octadecan-1-amina (2,53 g, 9,40 mmol), DMF (10 ml), ácido acético (,1 ml) y triacetoxiborohidruro de sodio (1,992 g, 9,40 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó durante 48 h en un agitador orbital. Después de 48 horas, la mezcla de reacción se filtró, y la resina en bruto se lavó 5X con DMF, 3X con metanol, 5X con CH₂Cl₂, y finalmente con dietiléter. La resina se secó durante la noche al vacío. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

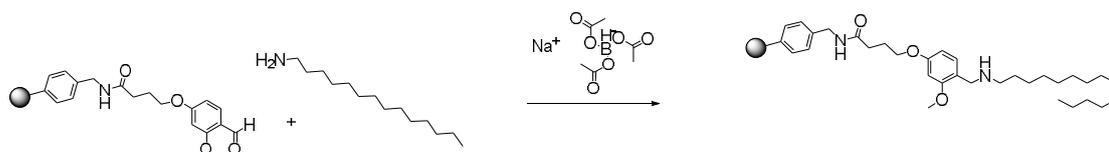
Preparación del Ejemplo 11105



- 5 El Ejemplo 11105 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación".
- 10 Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₈ A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo: agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente de 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; Flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,523 min; IEN-EM(+) m/z 1063,85 (M+2H).

Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₄ A

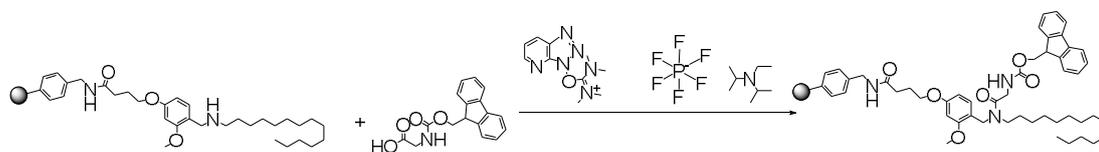
20



- A un vial de 20 ml se le añadió una carga de 0,94 mmol/g de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo (2 g, 1,880 mmol), DMF (15 ml), tetradecan-1-amina (1,204 g, 5,64 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (1,594 g, 7,52 mmol) y ácido acético (,1 ml). El vial se cerró herméticamente y se agitó durante la noche en un agitador orbital. El día siguiente, la resina se filtró y se lavó 3x con metanol, 3x con DMF, 3x con CH₂Cl₂ y finalmente 1x con Et₂O. La resina se secó al vacío y se usó en reacciones posteriores en el estado en el cual se encontraba. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₄ B

30



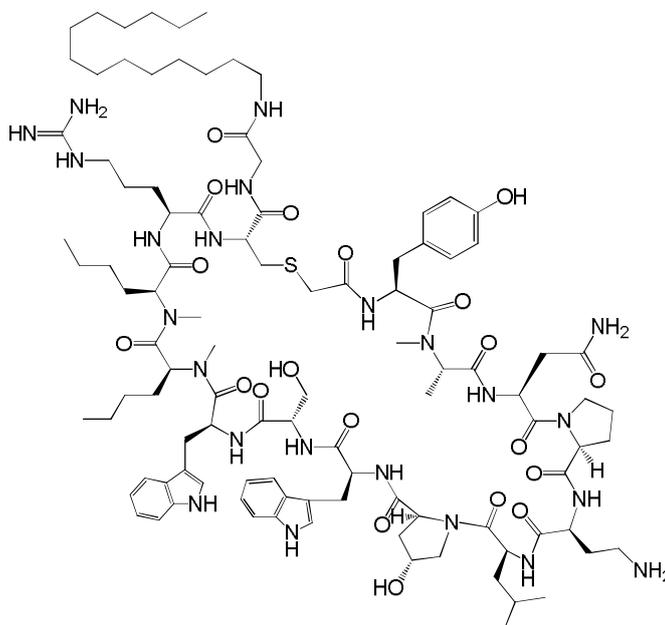
- A un vial de 40 ml, se le añadieron resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₄ A (1 g, 0,940 mmol), ácido 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)acético 0,2 M en DMF (9,40 ml, 1,880 mmol) (99026-

35

115), HATU 0,2 M (9,40 ml, 1,880 mmol) en DMF y base de Hunig 0,2 M en DMF (9,40 ml, 3,76 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó en un agitador orbital durante la noche. El día siguiente, la resina se filtró y se lavó 3x con DMF, 3x con CH₂Cl₂, 3x con DMF, 1x con CH₂Cl₂ y finalmente 1x con Et₂O. La resina en bruto se secó en alto vacío. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

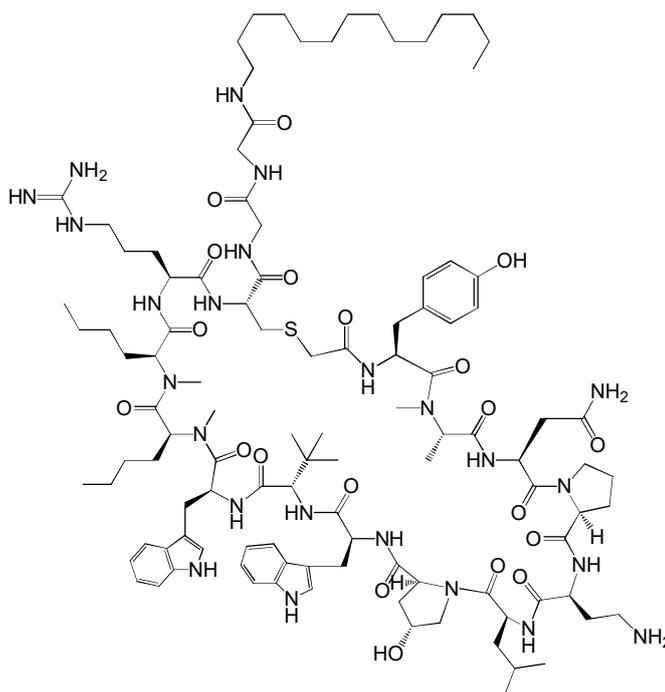
5

Preparación del Ejemplo 11106



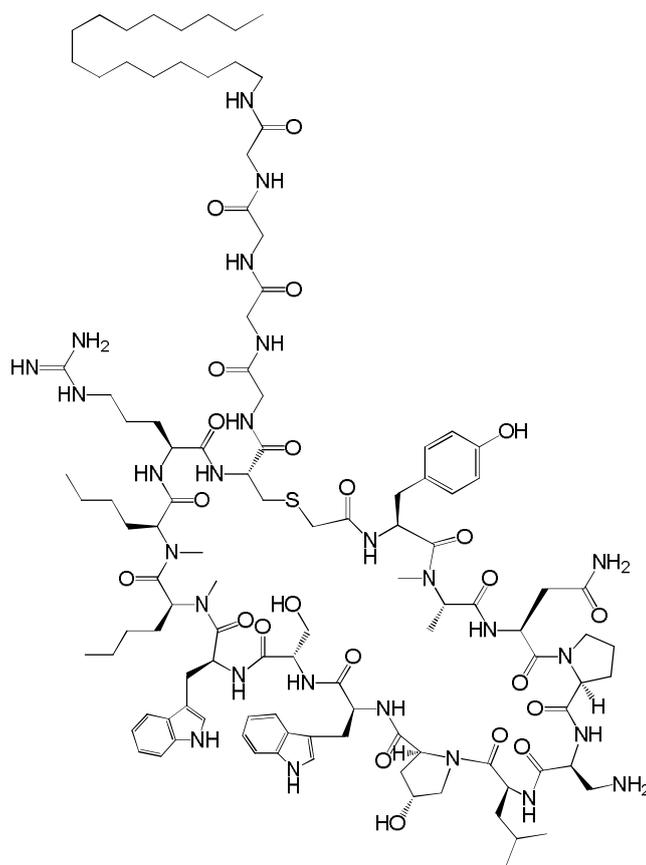
10 El Ejemplo 11106 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida",
 15 "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₄ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo: agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente de 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; Flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 13 mg, y
 20 la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,688 min; IEN-EM(+) m/z 1036,00 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1035,0921 (M+2H) Encontrado: 1035,0925 (M+2H).

25 *Preparación del Ejemplo 11107*



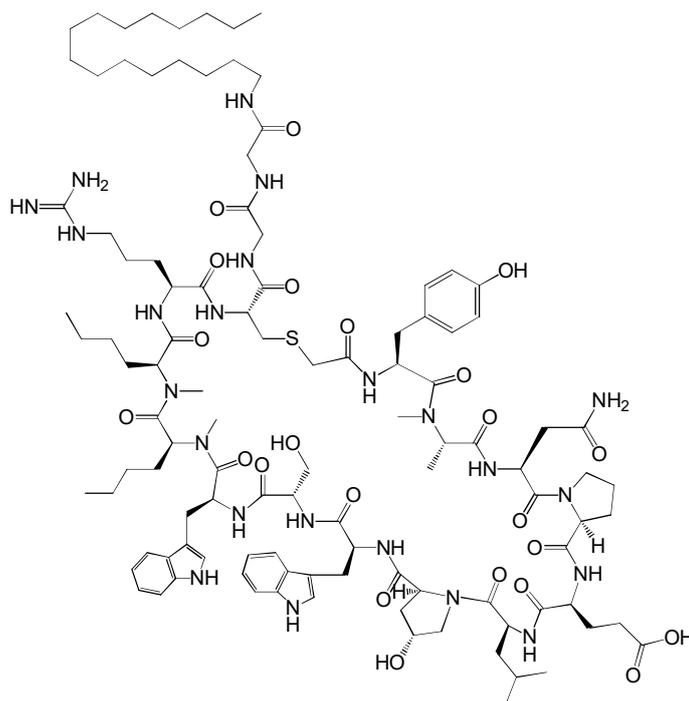
- El Ejemplo 11107 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₄ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,883 min; IEN-EM(+) m/z 1077,47 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1076,6288 (M+2H) Encontrado: 1076,6286 (M+2H),

Preparación del Ejemplo 11108



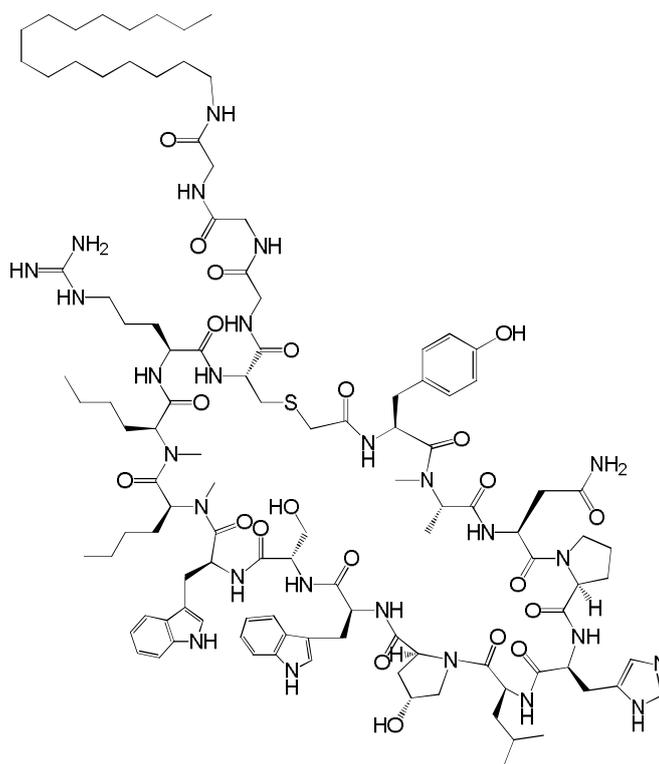
El Ejemplo 11108 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 92 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,185 min; IEN-EM(+) m/z 1127,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1127,6321 (M+2H) Encontrado: 1127,6329 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11109



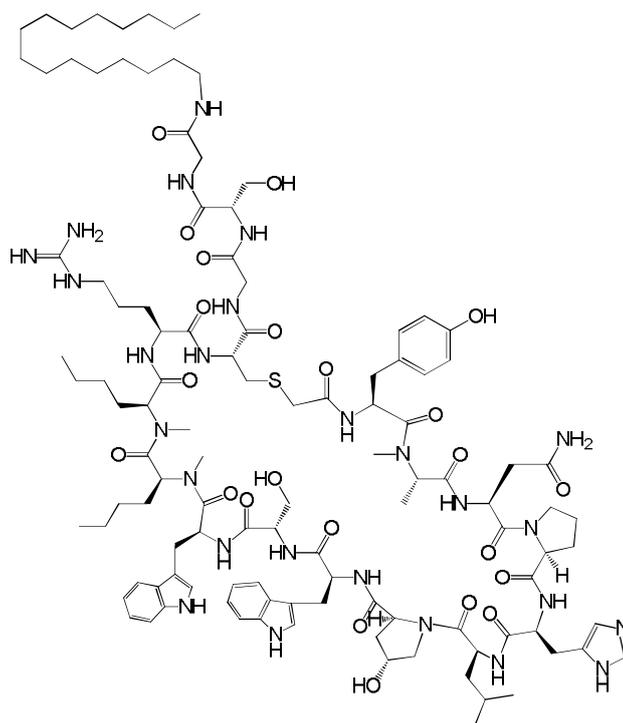
El Ejemplo 11109 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 91 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,091 min; IEN-EM(+) m/z 1092,87 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1092,1079 (M+2H) Encontrado: 1092,1081 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11110



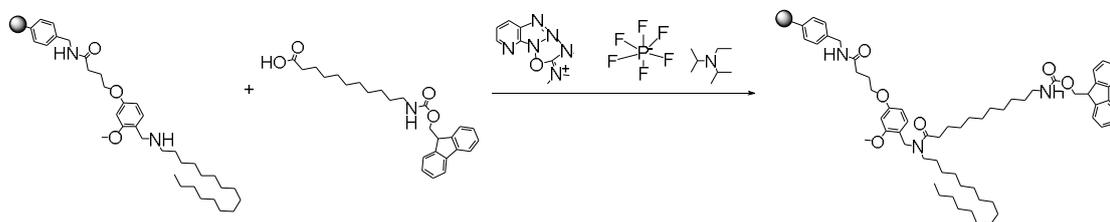
El Ejemplo 11100 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 28 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,488 min; IEN-EM(+) m/z 1125,34 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1124,6268 (M+2H) Encontrado: 1124,6228 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11111



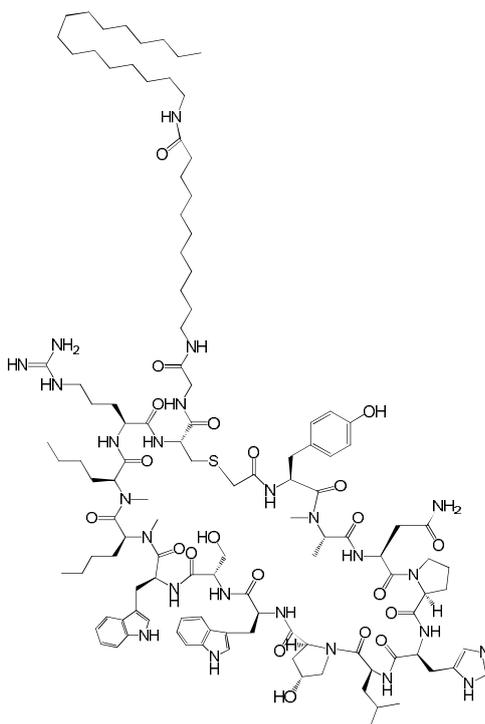
El Ejemplo 11111 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,473 min; IEN-EM(+) m/z 1140,55 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1139,6321 (M+2H) Encontrado: 1139,6274 (M+2H).

Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ C



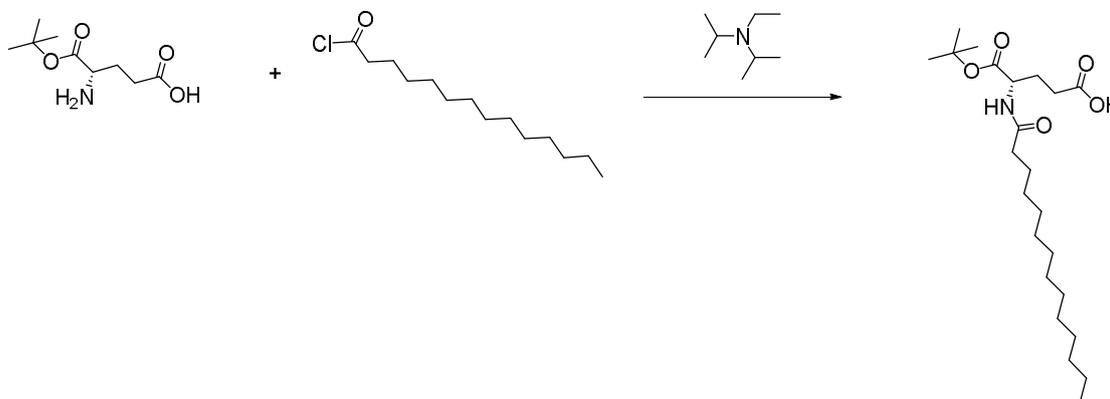
A un vial de 20 ml se le añadieron resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ A (600 mg, 0,540 mmol), ácido 11-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)undecanoico (457 mg, 1,080 mmol), DMF (5 ml), HATU 0,2 M en DMF (5,40 ml, 1,080 mmol) y base de Hunig 0,2 M en DMF (5,40 ml, 2,160 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó durante 24 h en un agitador orbital. Después de 24 horas, la mezcla de reacción se filtró, y la resina en bruto se lavó con metanol, 5X con DMF, 5X con CH₂Cl₂ y finalmente con dietiléter. La resina se secó durante la noche al vacío. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

30 *Preparación del Ejemplo 11112*



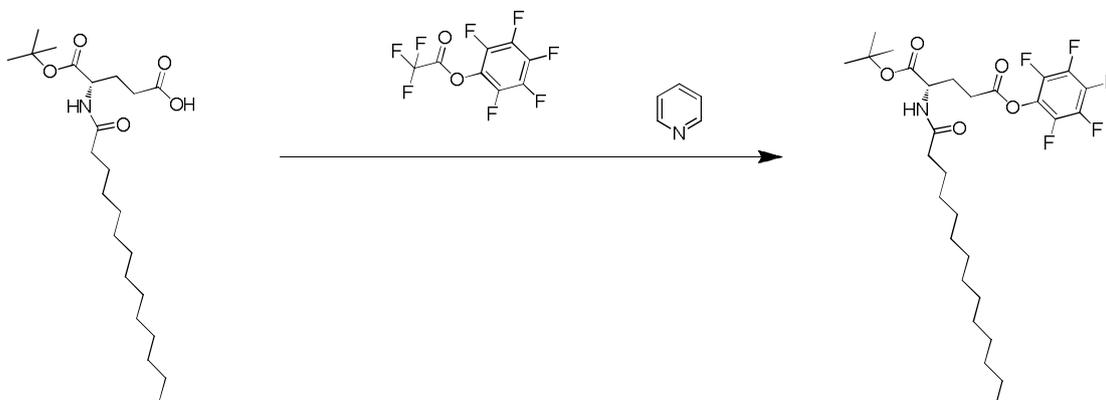
El Ejemplo 11112 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,958 min; IEN-EM(+) m/z 1160,02 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1159,1865 (M+2H) Encontrado: 1159,1849 (M+2H).

Preparación de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-((S)-5-(terc-butoxi)-5-oxo-4-tetradecanamidopentanamido)hexanoico.

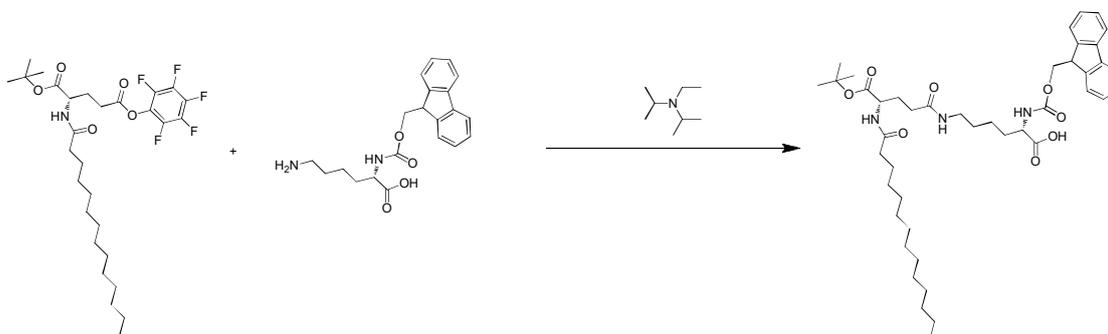


A un matraz de fondo redondo de 250 ml, se le añadieron ácido (S)-4-amino-5-(terc-butoxi)-5-oxopentanoico (3 g, 14,76 mmol), CH₂Cl₂ (100 ml), cloruro de tetradecanoilo (4,01 g, 16,24 mmol) y base de Hunig (5,67 ml, 32,5 mmol). El matraz se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno, se cerró herméticamente y se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Después de 24 horas, la mezcla de reacción se vertió en una ampolla de decantación y se lavó con cloruro de amonio saturado. La capa acuosa se extrajo con una solución al 10 % de metanol y cloroformo 3 x. Las

fracciones orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera. La capa orgánica se separó, se secó en Na_2SO_4 y se evaporó al vacío para obtener ácido (S)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxo-4-tetradecanamidopentanoico (6,1 g, 14,75 mmol, 100 % de rendimiento) como un aceite espeso. Este material se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ^1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 4,50 - 4,29 (m, 1H), 3,68 (quin, $J=6,7$ Hz, 1H), 3,09 (q, $J=7,5$ Hz, 1H), 2,43 - 2,27 (m, 2H), 2,27 - 2,06 (m, 2H), 1,73 - 1,55 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,39 - 1,17 (m, 20H), 1,00 - 0,80 (m, 3H).



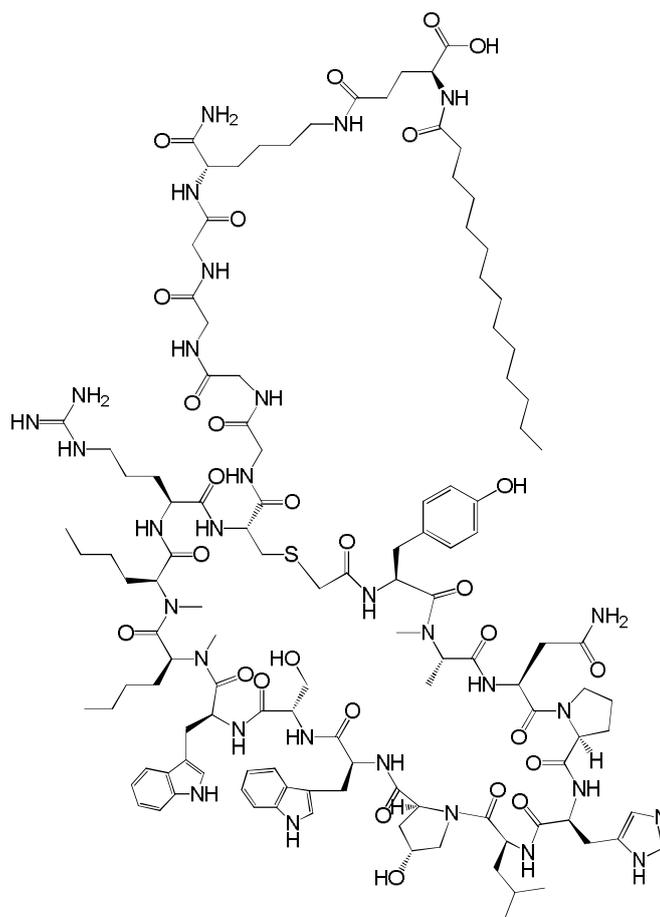
10 A un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadieron ácido (S)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxo-4-tetradecanamidopentanoico (2 g, 4,84 mmol), DMF (10 ml), 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (2,71 g, 9,67 mmol) y piridina (0,860 ml, 10,64 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH_2Cl_2 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío. El producto en bruto, 5-(perfluorofenil) 2-tetradecanamidopentandioato de (S)-1-*terc*-butilo (2,65 g, 4,57 mmol, 95 % de rendimiento) se usó en el estado en el cual se encontraba, sin purificación.



20 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino-6-aminohexanoico (1,653 g, 4,49 mmol), DMF (15 ml), 5-(perfluorofenil) 2-tetradecanamidopentandioato de (S)-1-*terc*-butilo (2,6 g, 4,49 mmol) y base de Hunig (0,940 ml, 5,38 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior y se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. Después de 48 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH_2Cl_2 3x. Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron en Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío. El aceite en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó primero con 100 % de CH_2Cl_2 , después con 5 % de metanol en 95 % de CH_2Cl_2 . Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino-6-((S)-5-(*terc*-butoxi)-5-oxo-4-tetradecanamidopentanamido)hexanoico (2,35 g, 2,92 mmol, 65,1 % de rendimiento) como un aceite viscoso. RMN ^1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,78 (d, $J=7,5$ Hz, 2H), 7,62 (s a, 2H), 7,41 (t, $J=7,4$ Hz, 2H), 7,32 (t, $J=7,4$ Hz, 2H), 6,54 (s a, 1H), 5,72 (m, 2H), 4,39 (m, 4H), 4,27 - 4,14 (m, 1H), 3,28 (m, 2H), 2,26 (m, 4H), 2,15 (m, 2H), 1,92 (m, 2H), 1,62 (m, 4H), 1,48 (s, 9H), 1,26 (s a, 20H), 0,89 (t, $J=6,8$ Hz, 3H).

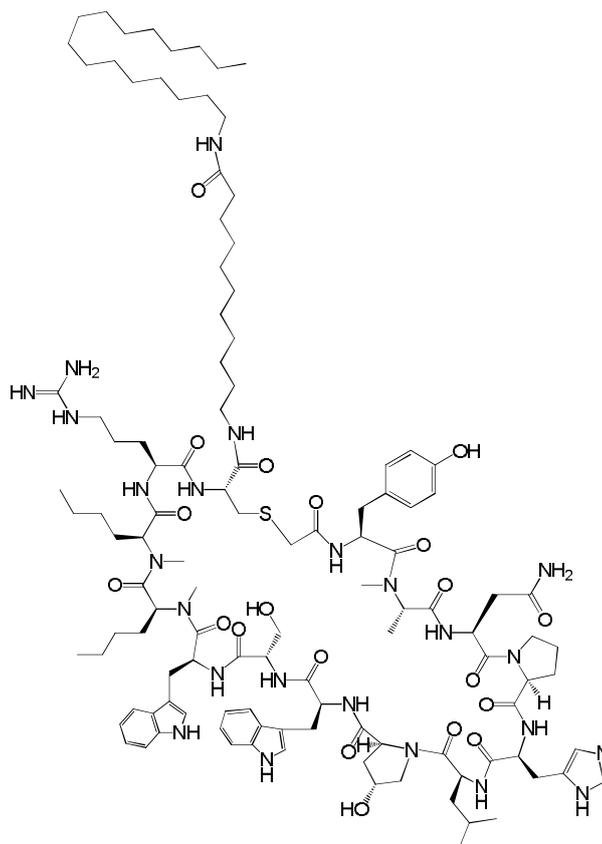
Preparación del Ejemplo 11114

35



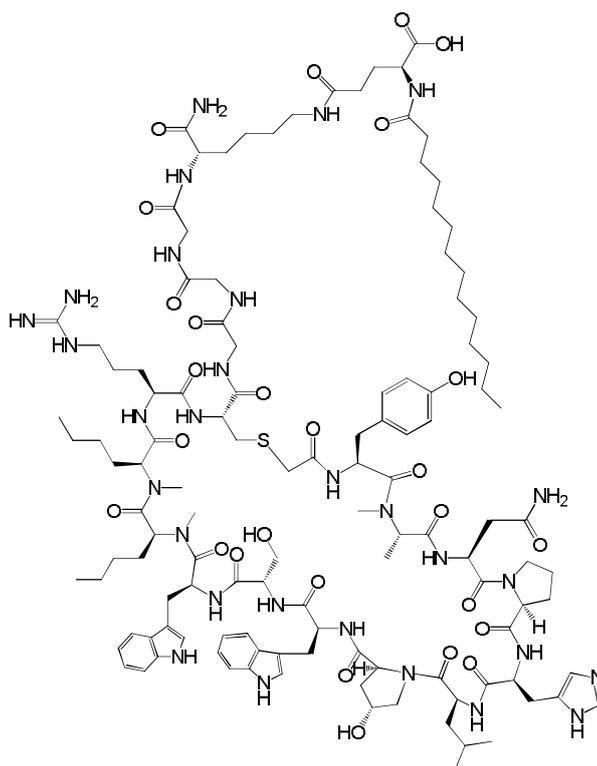
- El Ejemplo 11114 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,978 min; IEN-EM(+) m/z 1275,18 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1274,6803 (M+2H) Encontrado: 1274,6791 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11115



El Ejemplo 11115 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,930 min; IEN-EM(+) m/z 1131,54 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1130,6758 (M+2H) Encontrado: 1130,6747 (M+2H).

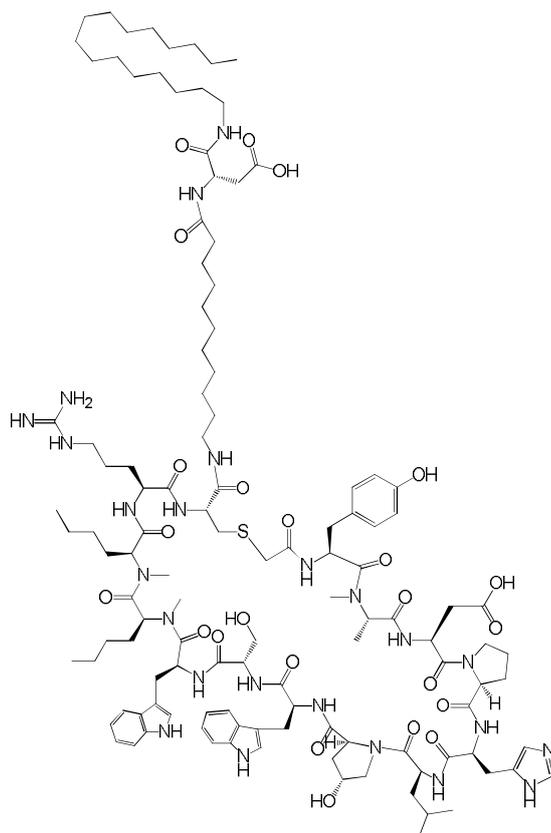
Preparación del Ejemplo 11116



5 El Ejemplo 11116 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,2 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,106 min; IEN-EM(+) m/z 1247,0 (M+2H)

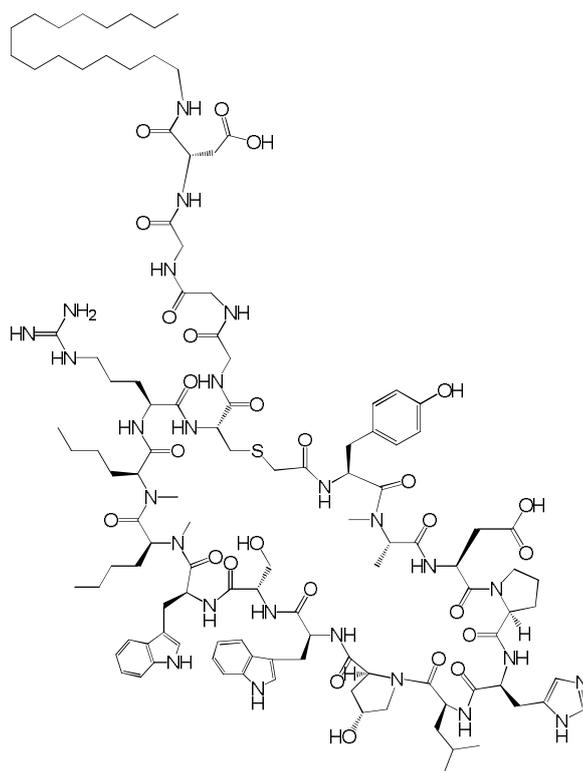
10
 15 IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1246,1696 (M+2H) Encontrado: 1246,1684 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11119



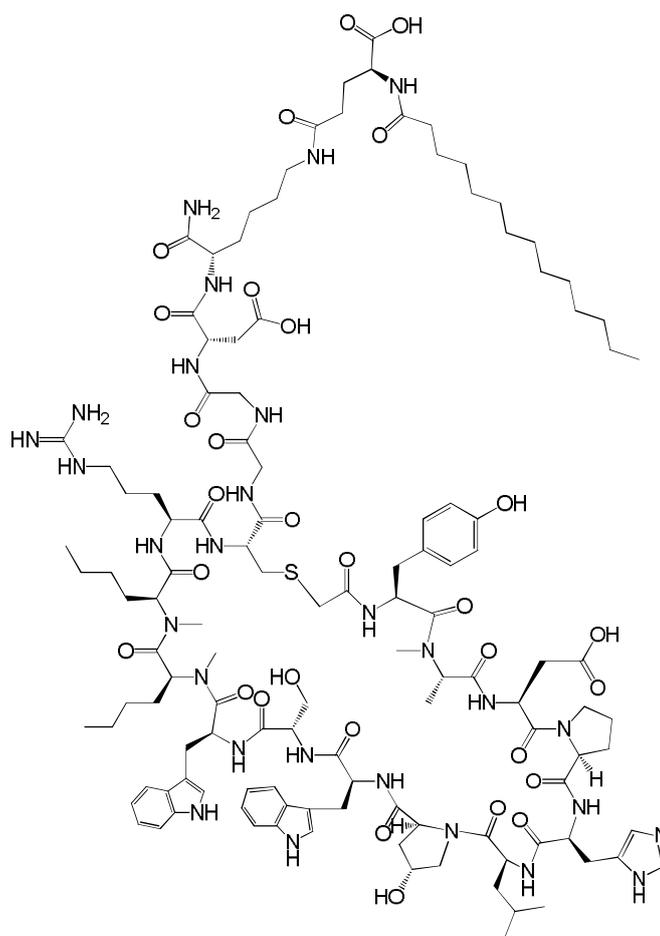
El Ejemplo 11119 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 93 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,968 min; IEN-EM(+) m/z 1189,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1188,6813 (M+2H) Encontrado: 1188,6821 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11120



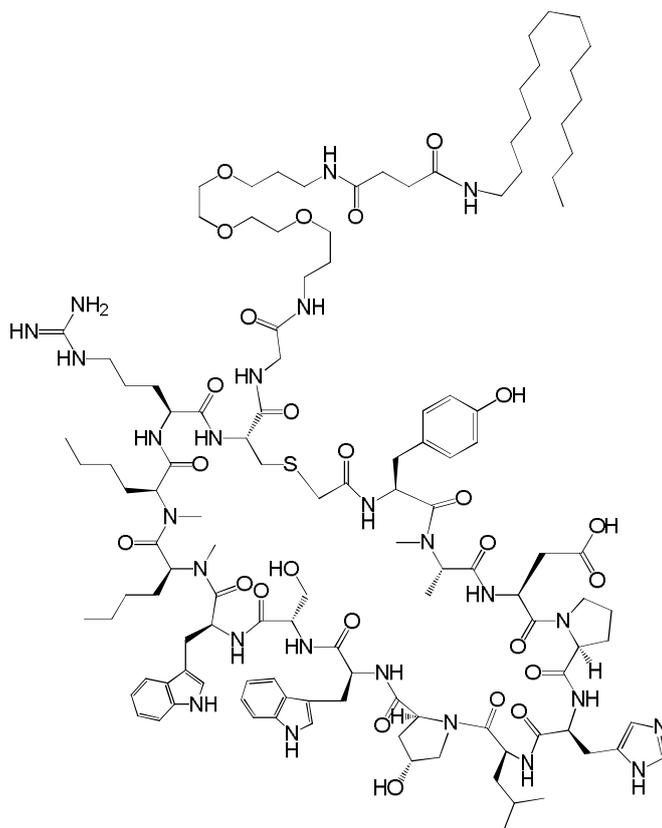
El Ejemplo 11120 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,688 min; IEN-EM(+) m/z 1183,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1182,6323 (M+2H) Encontrado: 1182,6317 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11123



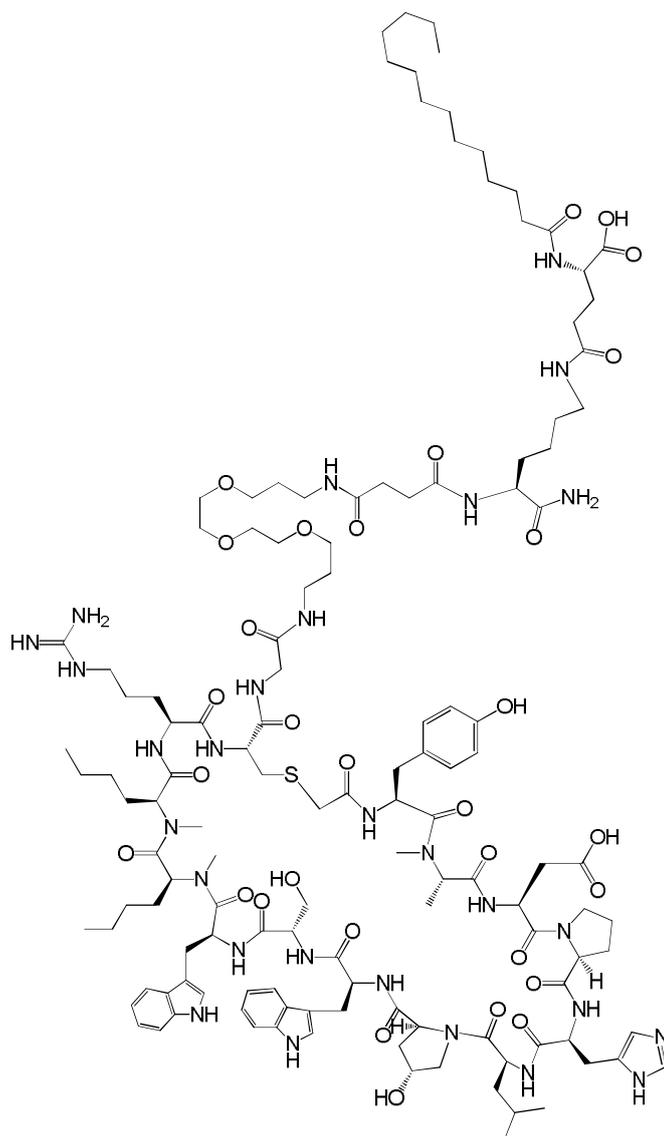
- El Ejemplo 11123 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,773 min; IEN-EM(+) m/z 1276,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1275,6643 (M+2H) Encontrado: 1275,6645 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11124



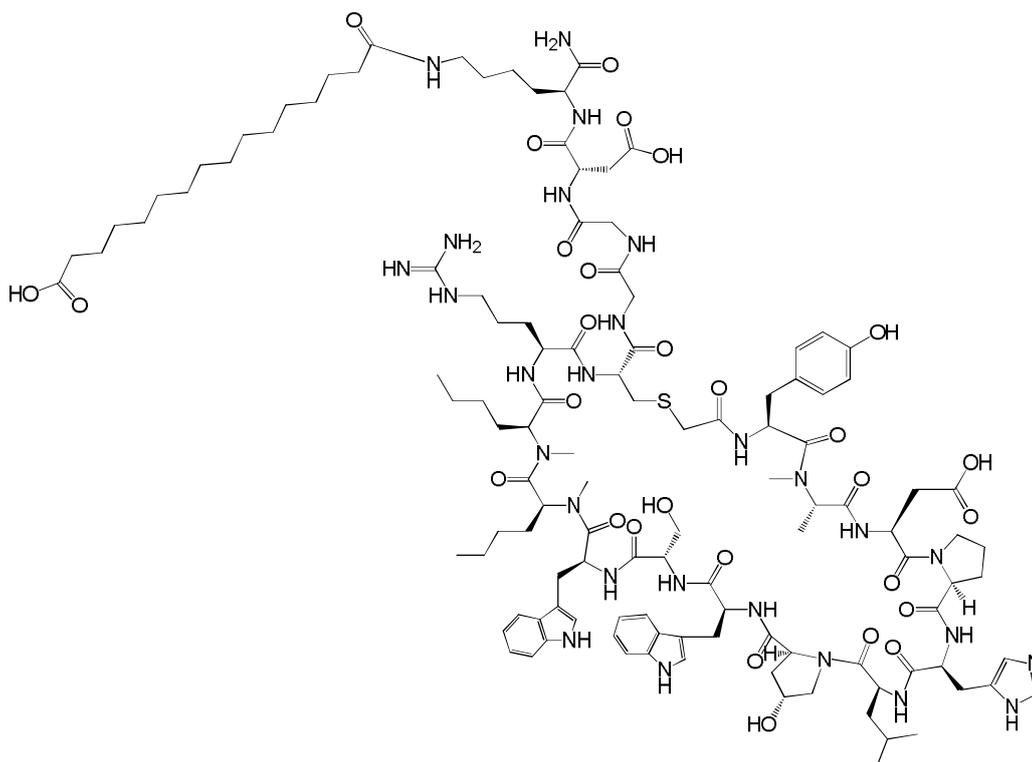
El Ejemplo 11124 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina C₁₆ C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,405 min; IEN-EM(+) m/z 1220,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1219,1894 (M+2H) Encontrado: 1219,1888 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11125

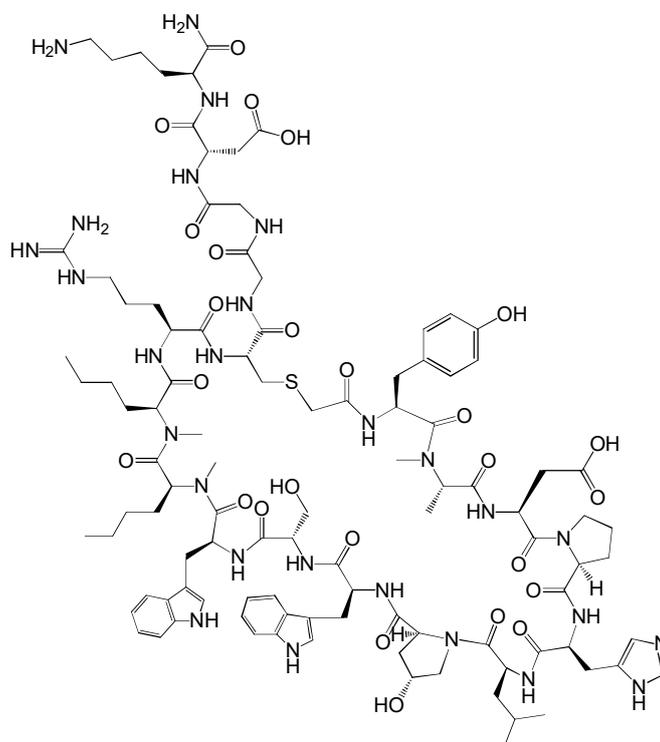


El Ejemplo 11125 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,780 min; IEN-EM(+) m/z 1341,8 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11126



Preparación del Ejemplo 11126A



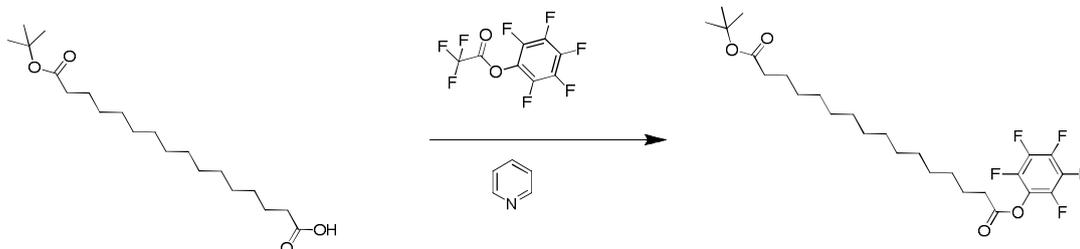
5

El Ejemplo 11126A se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina Rink en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de

10

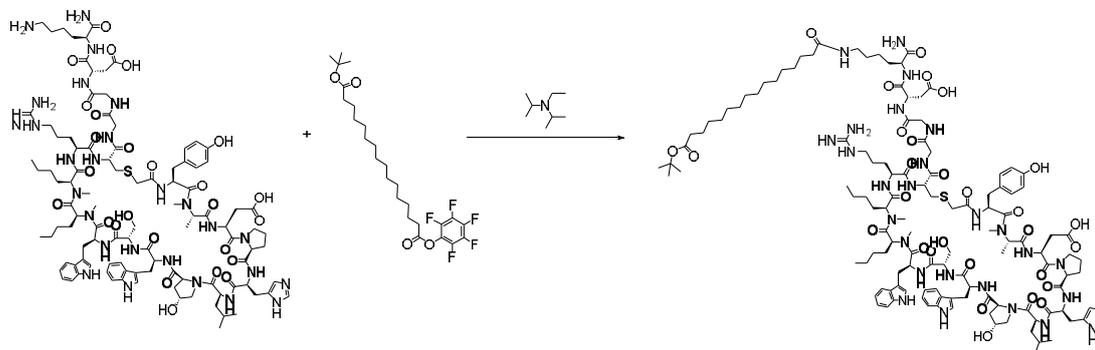
acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,625 min; IEN-EM(+) m/z 1107,0 (M+2H).

Preparación de 16-(perfluorofenil) hexadecandioato de 1-terc-butilo

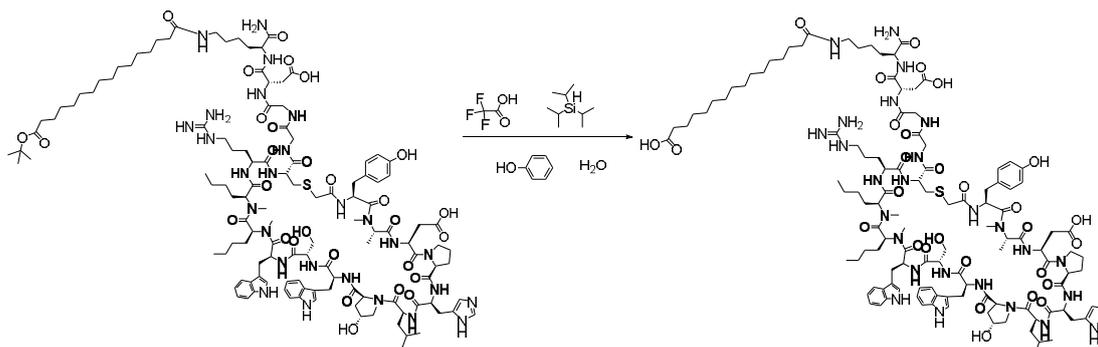


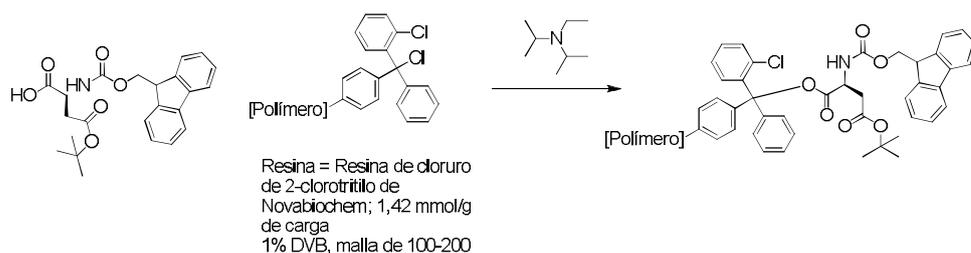
10 A un vial de 1 dram se le añadieron ácido 16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanoico (100 mg, 0,292 mmol), DMF (,8 ml), 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (164 mg, 0,584 mmol) y piridina (0,052 ml, 0,642 mmol). El vial se cerró herméticamente con un tapón superior y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la mezcla de reacción en bruto se colocó en una columna de gel de sílice y se purificó, se eluyó con 5 % de EtOAc/95 % de hexanos hasta 30 % de EtOAc/70 % de hexanos. El producto deseado fue el pico que se eluyó primero. Detección de UV muy débil. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener 16-(perfluorofenil)hexadecandioato de 1-*terc*-butilo (132 mg, 0,260 mmol, 89 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ 2,68 (s, 2H), 2,22 (s, 2H), 1,79 (s, 2H), 1,59 (s, 4H), 1,47 (s, 9H), 1,29 (s a, 18H).

Preparación de 11126B



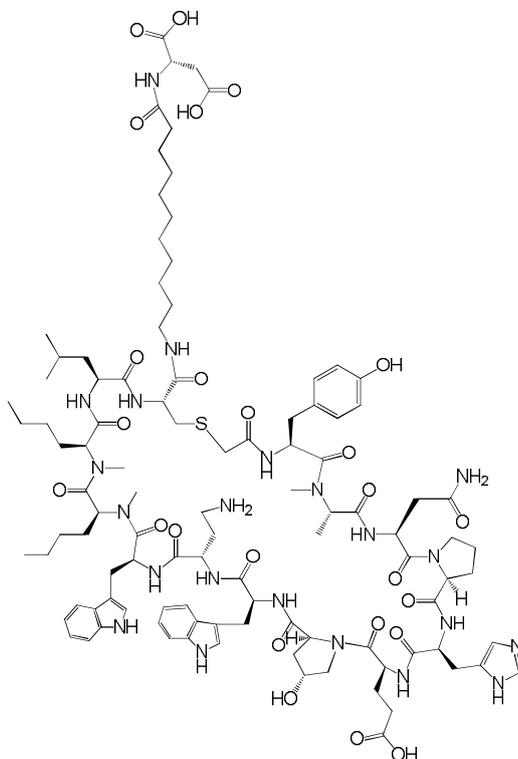
25 A un vial de 1 dram se le añadieron Ejemplo 11126A (27 mg, 0,012 mmol), DMF (,7 ml), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (9,47 mg, 0,073 mmol) y 16-(perfluorofenil)hexadecandioato de 1-*terc*-butilo (11,18 mg, 0,022 mmol). La reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente la reacción estaba completa según CL/EM. La reacción en bruto se vertió en dietiléter y se formó un precipitado. Este precipitado se recolectó mediante centrifugación, y el dietiléter se decantó. Los 14 mg de sólido en bruto se usaron en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraban, sin purificación. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,428 min; IEN-EM(+) m/z 1269,3 (M+2H).





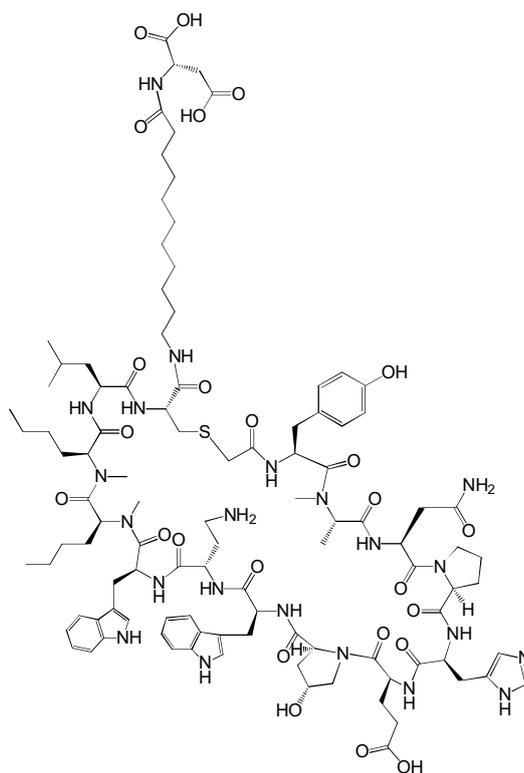
5 A un vial de centelleo de 20 ml, se le añadieron ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-(*tert*-butoxi)-4-oxobutanoico (0,370 g, 0,9 mmol), 1,42 mmol/g de carga de resina de 2-clorotriptilo (2,057 g, 2,88 mmol), CH₂Cl₂ (15 ml) y base de Hunig (1,022 ml, 5,85 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó en un agitador orbital durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se diluyó con 2 ml de metanol y se agitó durante 2 horas más. La resina después se filtró, se lavó con DMF 3x, CH₂Cl₂ 4x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba para la síntesis de péptidos con una carga asumida de 0,44 meq/g.

10 Preparación del Ejemplo 11129



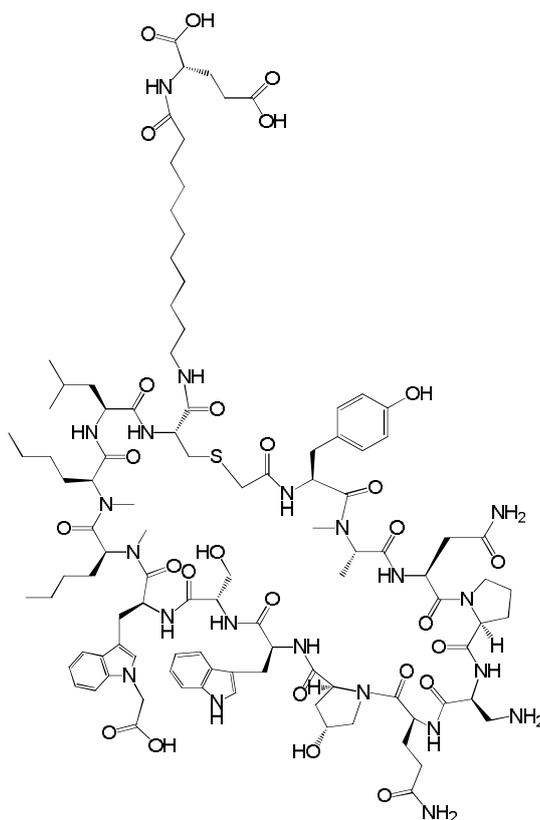
15 El Ejemplo 11129 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotriptilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 48 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,828 min; IEN-EM(+) m/z 1070,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1069,5426 (M+2H) Encontrado: 1069,5392 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotriptilo modificada F



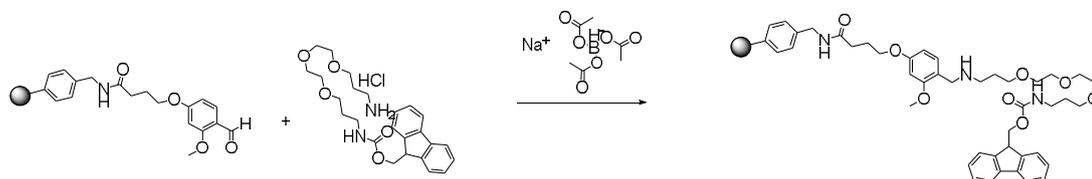
- El Ejemplo 11131 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 40 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,720 min; IEN-EM(+) m/z 1067,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1066,0321 (M+2H) Encontrado: 1066,0323 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11132



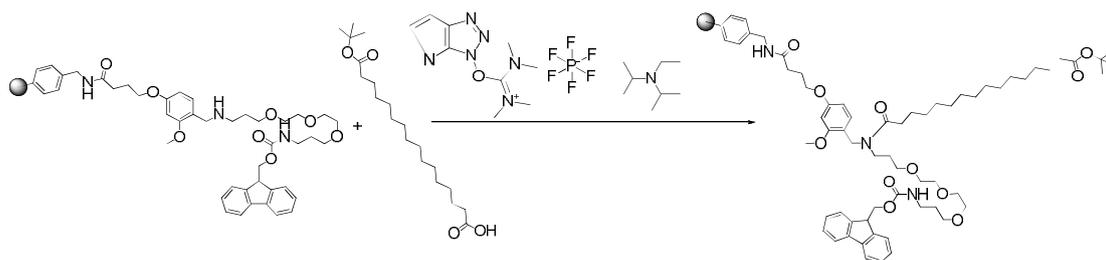
El Ejemplo 11132 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,725 min; IEN-EM(+) m/z 1074,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1073,0399 (M+2H) Encontrado: 1073,0393 (M+2H).

Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina de PEG D



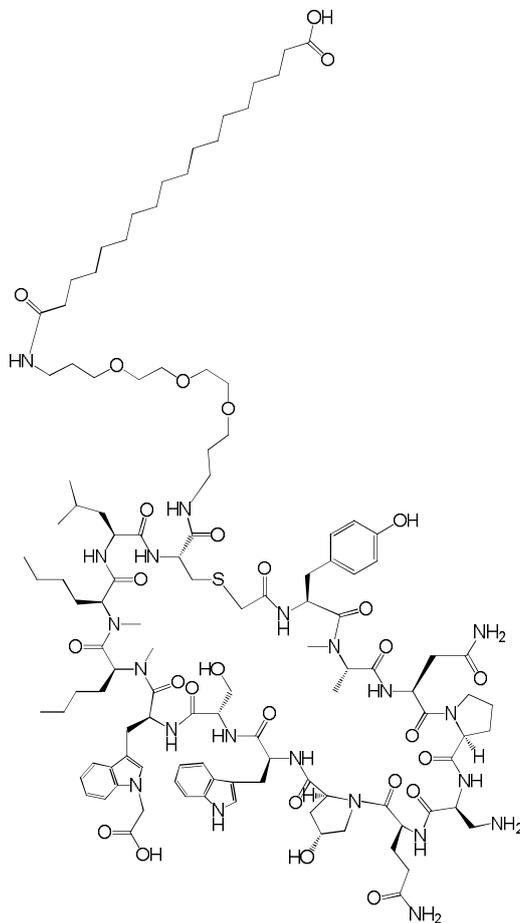
A un recipiente de presión de 50 ml, se le añadió una carga de 0,94 mmol/g de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo (1,5 g, 1,350 mmol), (3-(2-(2-(3-aminopropoxi)etoxi)etoxi)propil)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo, clorhidrato (0,711 g, 1,485 mmol), triacetoxihidrobórato de sodio (1,431 g, 6,75 mmol), DMF (20 ml) y ácido acético (,2 ml). El matraz se cerró herméticamente y se agitó durante la noche en un agitador Wrist Action. El día siguiente, la resina se filtró y se lavó con metanol 2x, con DMF 3x y con CH₂Cl₂ 4 x. . La resina se secó durante la noche al vacío. Se asumió que la carga fue de 0,94 mmol/g y se usó en la siguiente etapa en el estado en que encontraba.

Preparación de resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina de PEG E



A un vial de 7 ml se le añadieron resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina de PEG D (0,222 g, 0,2 mmol), ácido 16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanoico (0,137 g, 0,400 mmol), HATU (2,000 ml, 0,400 mmol), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (2,000 ml, 0,800 mmol) y DMF (4 ml). El vial se agitó en un agitador Wrist Action durante la noche. El día siguiente, la resina se filtró y se lavó con DMF 3 x, con CH₂Cl₂ 4 x, después con Et₂O. La resina se secó durante la noche al vacío. Se asumió que la carga era de 0,94 mmol/g y se usó en las etapas siguientes en el estado en el cual se encontraba.

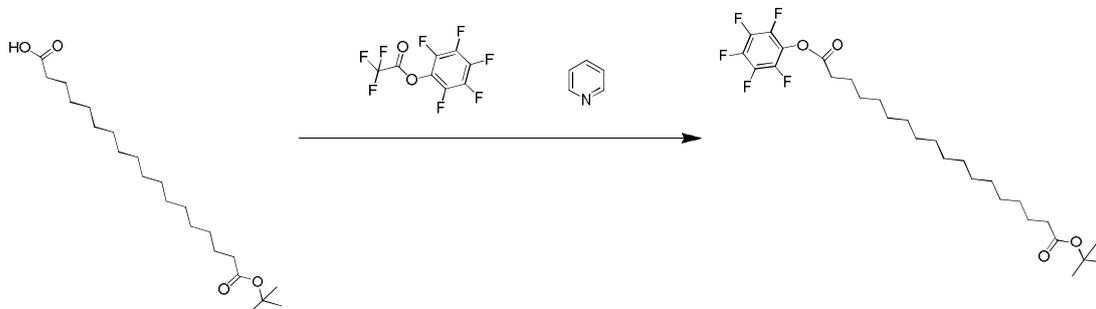
10 Preparación del Ejemplo 11133



El Ejemplo 11133 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina AM de 4-(4-formil-3-metoxi-fenoxi)butirilo modificada con amina de PEG E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo: agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente de 15-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; Flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención

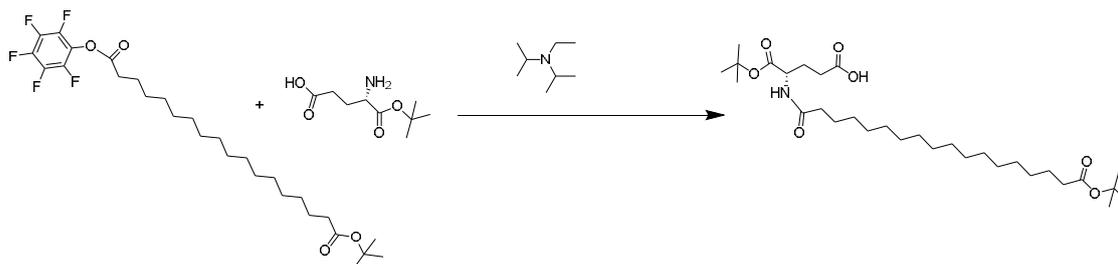
= 5,353 min; IEN-EM(+) m/z 1167,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1166,1391 (M+2H) Encontrado: 1166,1370 (M+2H).

5 **Preparación de 16-(perfluorofenil)hexadecandioato de 1-terc-butilo**



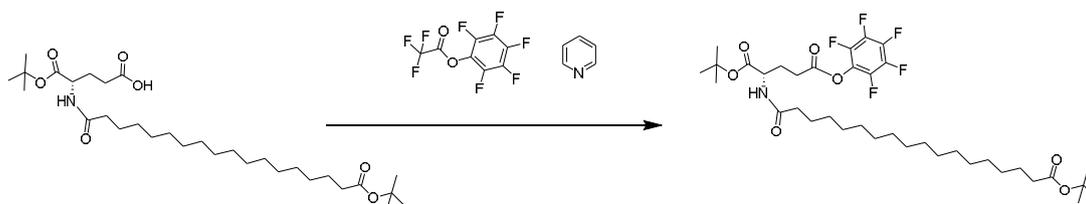
10 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico (807 mg, 2,178 mmol), N,N-dimetilformamida (8 ml), piridina (379 mg, 4,79 mmol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (1220 mg, 4,36 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-terc-butilo (1,1 g, 2,050 mmol, 94 % de rendimiento) se usó en el estado en el cual se encontraba sin purificación.

15 **Preparación de ácido (S)-5-(terc-butoxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico**



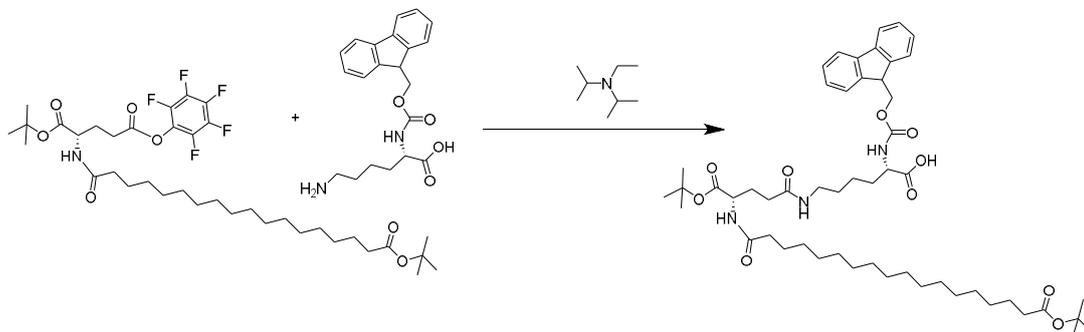
20 A un vial de centelleo de 20 ml, se le añadieron 18-(perfluorofenil)octadecandioato de 1-terc-butilo (500 mg, 0,932 mmol), ácido (S)-4-amino-5-(terc-butoxi)-5-oxopentanoico (189 mg, 0,932 mmol), N,N-dimetilformamida (3 ml) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (157 mg, 1,211 mmol). La reacción se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El aceite en bruto ácido (S)-5-(terc-butoxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (518 mg, 0,932 mmol, 100 % de rendimiento) se usó en el estado en el cual se encontraba, sin purificación. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 6,33 (m., 1H), 4,56 (m, 1H), 2,45 (m, 2H), 2,24 (m, 5H), 1,95 (m, 1H), 1,61 (m., 5H), 1,49 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 1,26 (m, 23H)

30 **Preparación de 5-(perfluorofenil) 2-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato de (S)-1-terc-butilo**



35 A un vial de centelleo de 20 ml, se le añadieron ácido (S)-5-(terc-butoxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (518 mg, 0,932 mmol), N,N-dimetilformamida (3 ml), piridina (162 mg, 2,050 mmol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (522 mg, 1,864 mmol). La reacción se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico, y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El aceite en bruto 5-(perfluorofenil) 2-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato de (S)-1-terc-butilo (670 mg, 0,928 mmol, 100 % de rendimiento) se usó en el estado en el cual se encontraba en la siguiente etapa.

Preparación de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-((S)-5-(terc-butoxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)hexanoico



5

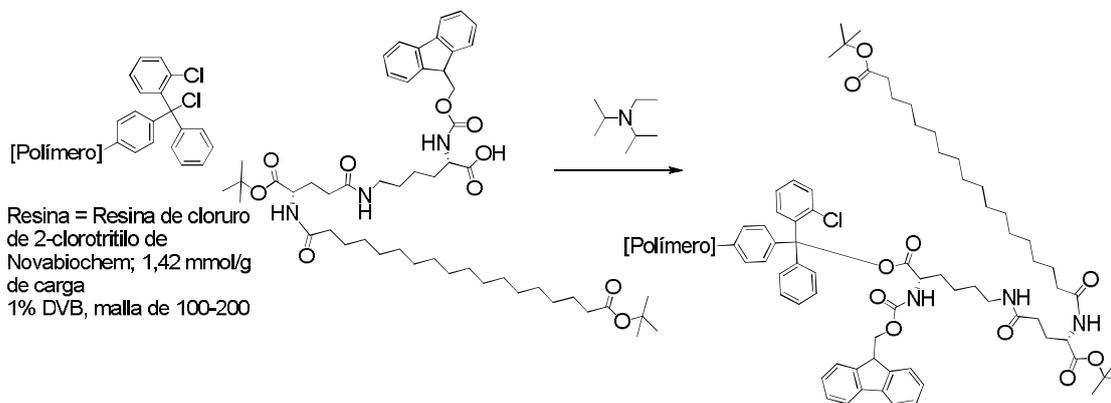
A un vial de 1 dram, se le añadieron 5-(perfluorofenil) 2-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato de (S)-1-terc-butilo (330 mg, 0,457 mmol), N,N-dimetilformamida (2 ml), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (177 mg, 1,372 mmol) y ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-aminohexanoico (168 mg, 0,457 mmol). La reacción se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El aceite en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó primero con 100 % de CH₂Cl₂, después con 5 % de metanol en 95 % de CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-((S)-5-(terc-butoxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)hexanoico (106 mg, 0,117 mmol, 25,6 % de rendimiento) como un aceite viscoso. Columna PHENOMENEX-LUNA 2,0 X 30 mm, partículas de 3 um; fase móvil A: 10:90 de metanol:agua con 10 mM de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 90:10 de metanol:agua con 10 mM de ácido trifluoroacético; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 5 minutos, después un mantenimiento de 1,0 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm. Análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,740 min; IEN-EM(+) m/z 906,86 (M+H).

10

15

20

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G

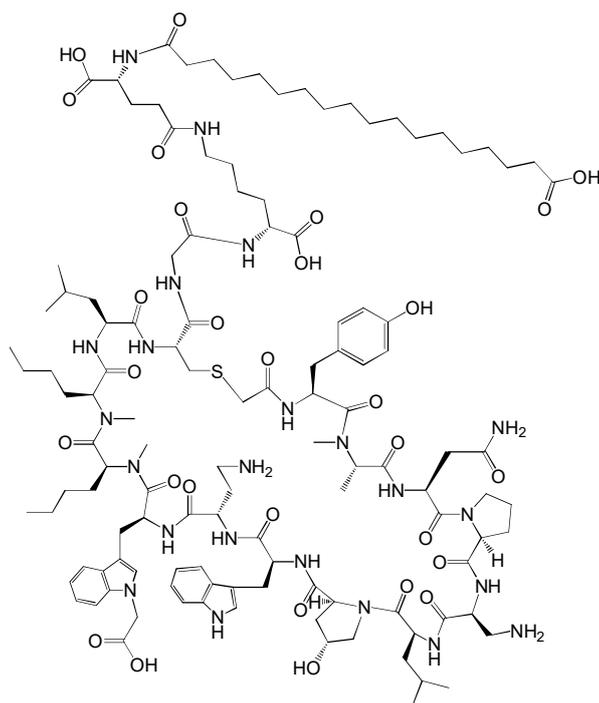


25

30

A un vial de centelleo de 20 ml se le añadió una carga de 1,42 mmol/g de resina de 2-clorotritilo (267 mg, 0,374 mmol), CH₂Cl₂ (4 ml), ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-6-((S)-5-(terc-butoxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)hexanoico (106 mg, 0,117 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (106 mg, 0,819 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante la noche. El día siguiente, la reacción finalizó mediante la adición de 2 ml de metanol y agitando el matraz durante 2 h más. La resina después se filtró y se lavó con CH₂Cl₂, con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 3x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba para la síntesis de péptidos con una carga asumida de 0,44 meq/g.

35 *Preparación del Ejemplo 11134*

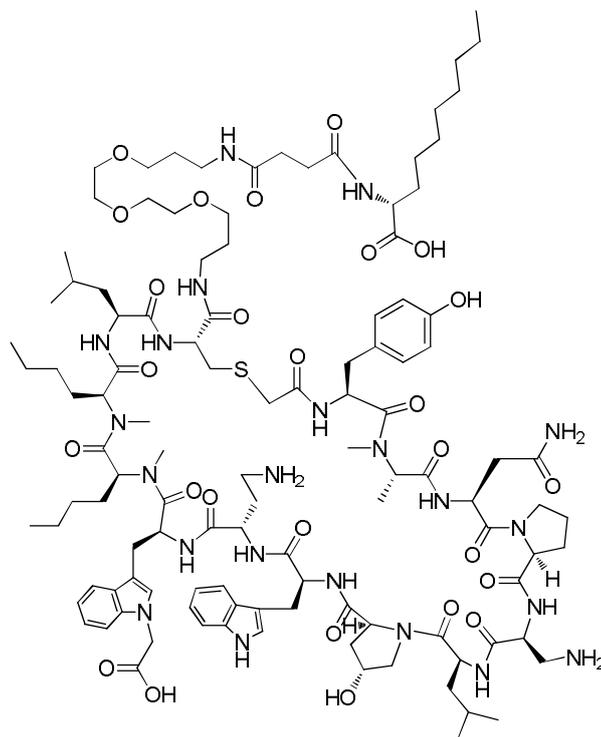


5 El Ejemplo 11134 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters XBridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 30 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 26 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,280 min; IEN-EM(+) m/z 1222,0 (M+2H).

10

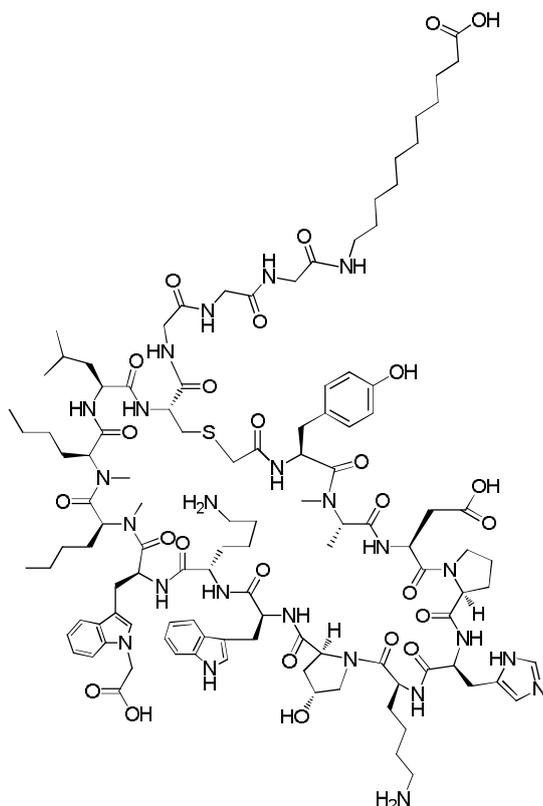
15

Preparación del Ejemplo 11135



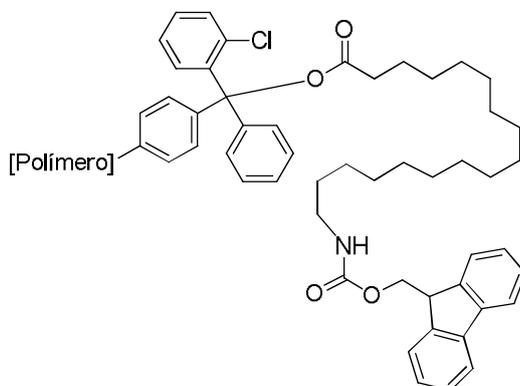
El Ejemplo 11135 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,141 min.

Preparación del Ejemplo 11136



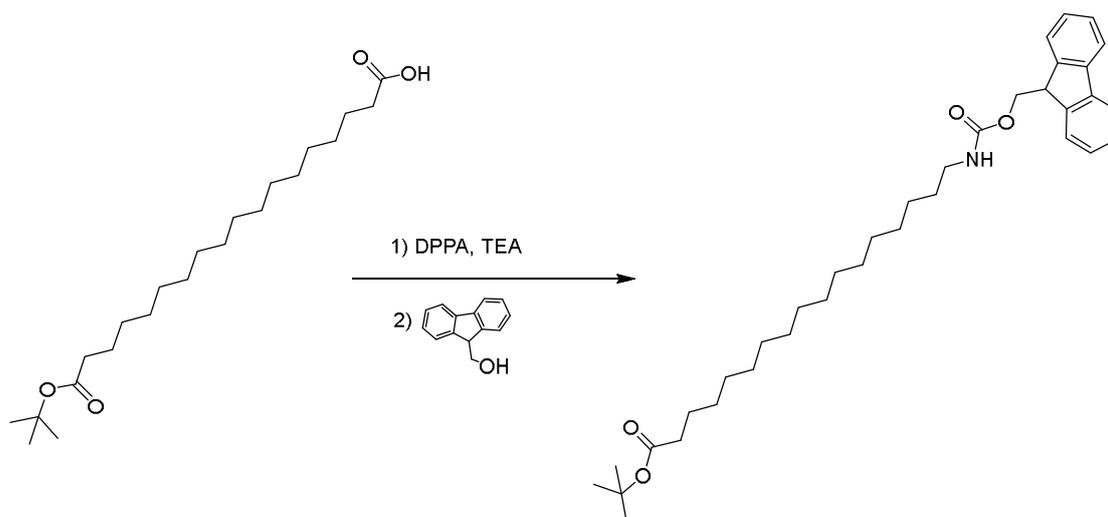
El Ejemplo 11136 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,2 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,930 min; IEN-EM(+) m/z 1141,0969 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H



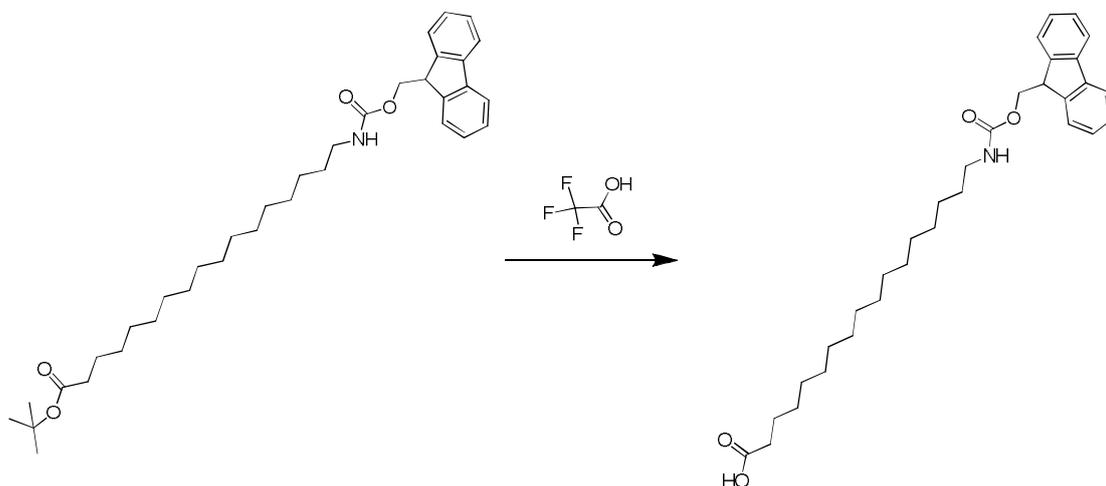
20

Etapa 1:



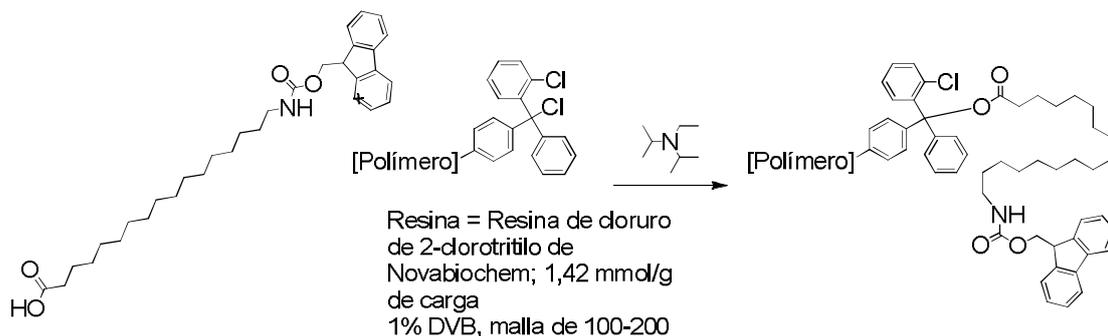
Se añadió fosforazidato de difenilo (1,738 ml, 8,04 mmol) a una solución de ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (1,49 g, 4,02 mmol) y trietilamina (1,115 ml, 8,04 mmol) en tolueno (16,08 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con una solución al 5 % de ácido cítrico. La mezcla se concentró hasta obtener la mitad del volumen al vacío y después se extrajo 3 veces con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en MgSO_4 , se filtraron y se concentraron para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se disolvió en diclorometano y se aplicó a un cartucho ISCO de gel de sílice de 40 g. El producto se eluyó mediante un gradiente de 0-25 % de acetato de etilo/hexanos. Fracciones similares se combinaron y se concentraron para obtener 17-(((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonil)amino)heptadecanoato de *tert*-butilo (0,384 g, 0,681 mmol, 16,94 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,78 (d, $J=7,3$ Hz, 2H), 7,61 (d, $J=7,5$ Hz, 2H), 7,41 (t, $J=7,4$ Hz, 2H), 7,33 (td, $J=7,4$, 1,0 Hz, 2H), 4,41 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 4,24 (d, $J=6,8$ Hz, 1H), 3,20 (q, $J=6,8$ Hz, 2H), 2,21 (t, $J=7,5$ Hz, 2H), 1,61 - 1,48 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,26 (s, 24H).

Etapa 2:



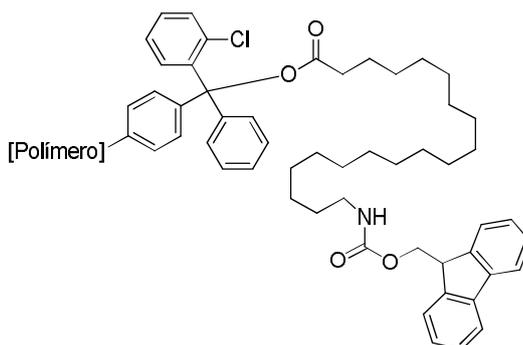
Se añadió ácido trifluoroacético (1,5 ml, 19,47 mmol) a una solución de 17-(((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonil)amino)heptadecanoato de *tert*-butilo (0,375 g, 0,665 mmol) en diclorometano (5 ml). La mezcla de reacción se tornó de color amarillo a un color oscuro después de 2 minutos. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se verificó mediante RMN ^1H y se determinó que para ese momento estaba completa. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo resultante se absorbió en 5 ml de diclorometano y se concentró nuevamente. Este proceso se repitió 3 veces, y el sólido de color amarillo resultante se secó al vacío durante la noche. Se aisló ácido 17-(((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonil)amino)heptadecanoico en rendimiento cuantitativo como un sólido de color amarillo. RMN ^1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ 7,78 (d, $J=7,5$ Hz, 2H), 7,63 - 7,58 (m, 2H), 7,41 (t, $J=7,4$ Hz, 2H), 7,33 (td, $J=7,5$, 1,1 Hz, 2H), 4,41 (d, $J=6,8$ Hz, 2H), 4,27 - 4,19 (m, 1H), 3,25 - 3,09 (m, 2H), 2,36 (t, $J=7,5$ Hz, 2H), 1,70 - 1,59 (m, 2H), 1,55 - 1,40 (m, 2H), 1,27 (s a, 24H).

Etapa 3:



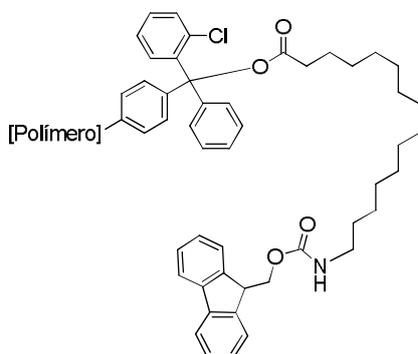
- 5 A un vial de 20 ml, se le añadió resina de cloruro de 2-clorotripto (1,605 g, 1,926 mmol) y 7 ml de diclorometano para expandir la resina. Se añadieron 9-(((16-carboxihexadecil)carbamoil)oxi)metil)-9H-fluoren-1-ilio (0,305 g, 0,602 mmol) en 5 ml de diclorometano y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,841 ml, 4,82 mmol) al vial que contenía la resina. El recipiente se cerró herméticamente y se agitó durante la noche a temperatura ambiente en un agitador Wrist Action. El día siguiente, la reacción se diluyó con 5 ml de metanol, y el recipiente se agitó durante 2 h para inactivar cualquier resina de clorotripto sin reaccionar. La resina se filtró y se lavó con DMF tres veces, con CH₂Cl₂ 3 veces y finalmente con Et₂O. La resina resultante se secó al aire y se usó en el estado en el cual se encontraba asumiendo una carga de 0,44 meq/g.

10 *Preparación de resina de cloruro de 2-clorotripto modificada I*



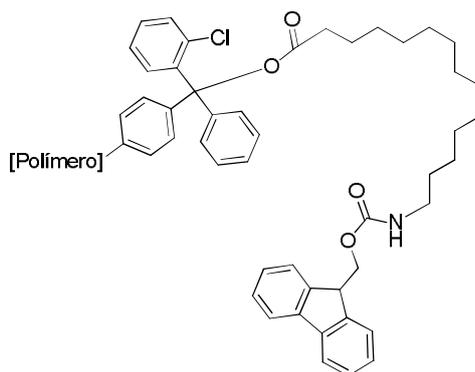
- 15 La resina de cloruro de 2-clorotripto modificada I se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina de 2-clorotripto modificada A.

20 *Preparación de resina de cloruro de 2-clorotripto modificada J*



- 25 La resina de cloruro de 2-clorotripto modificada J se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina de 2-clorotripto modificada A.

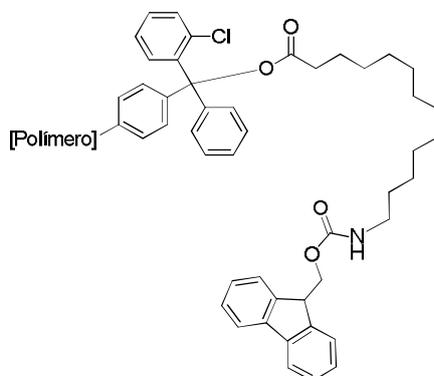
Preparación de resina de cloruro de 2-clorotripto modificada K



La resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada K se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina de 2-clorotritilo modificada A.

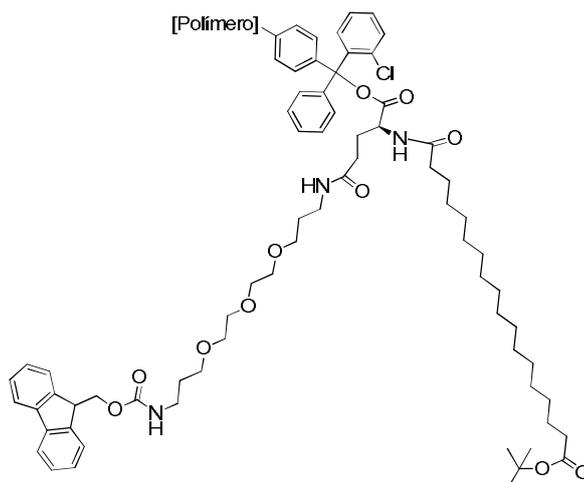
5

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada L



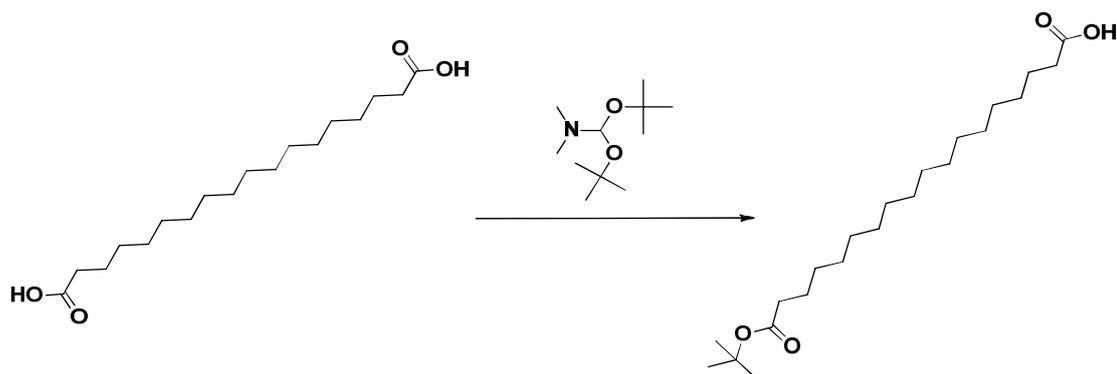
10 La resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada L se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina de 2-clorotritilo modificada A.

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada M



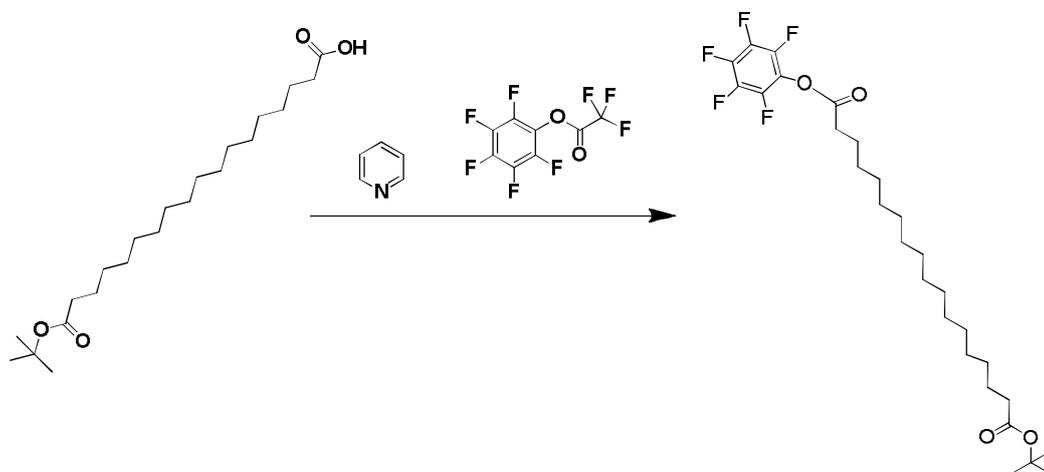
15

Etapas 1: Preparación de ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico:



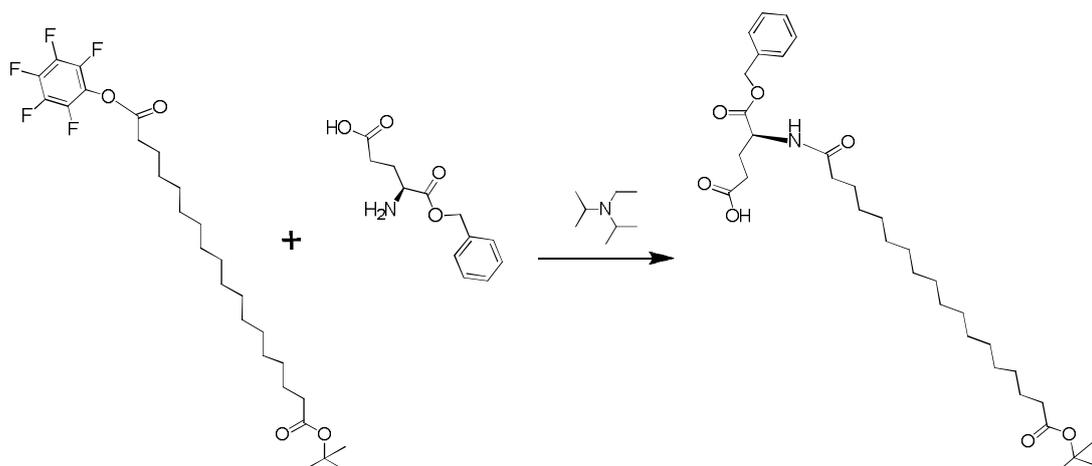
Una suspensión de ácido octadecandioico (15 g, 47,7 mmol) en tolueno (191 ml) se llevó a refluxo en un matraz de fondo redondo de 1 l de 3 cuellos. Cuando la totalidad del ácido estuvo en solución, se añadió por goteo 1,1-di-*tert*-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (22,87 ml, 95 mmol) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se calentó a refluxo durante la noche. La reacción se detuvo después de un total de 20 horas de calentamiento. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, lo que dio como resultado la precipitación de sólidos. La mezcla se filtró mediante filtración al vacío. El sólido blanco resultante se suspendió en 200 ml de diclorometano y se agitó durante 15 minutos. Los sólidos restantes se retiraron mediante filtración al vacío. Los sólidos recolectados se volvieron a suspender en diclorometano y se agitaron durante 15 minutos. Después de una segunda filtración, los filtrados combinados se concentraron al vacío, y el polvo blanco resultante se secó al vacío. Se aisló ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (10,14 g, 27,4 mmol, 57,4 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 2,35 (t, J=7,5 Hz, 2H), 2,21 (t, J=7,5 Hz, 2H), 1,70 - 1,52 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,36 - 1,22 (m, 24H).

Etapa 2:



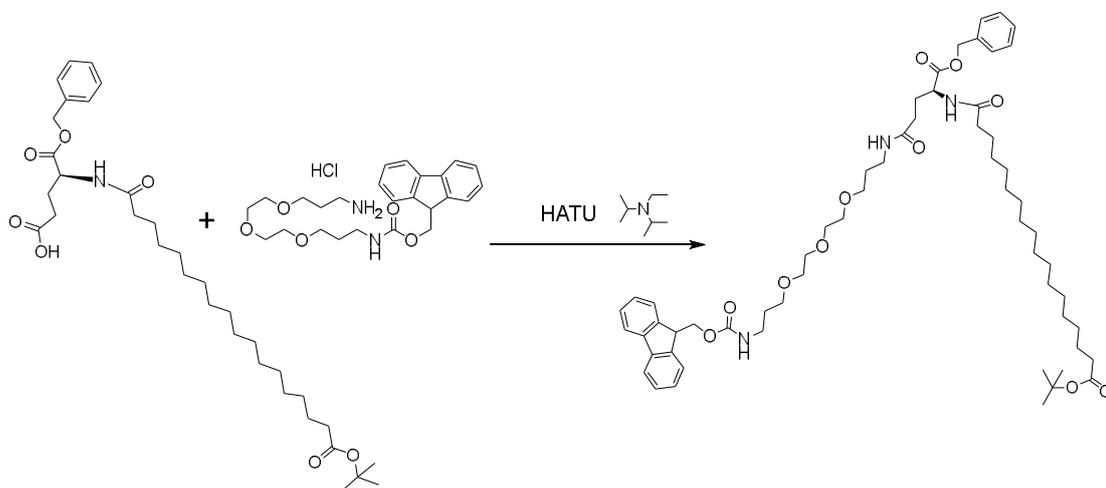
A un matraz de fondo redondo de 250 ml, se le añadieron ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (8,58 g, 23,15 mmol), piridina (4,68 ml, 57,9 mmol), DMF (50 ml) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (7,96 ml, 46,3 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ tres veces. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en MgSO₄, y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice que se eluyó con 0 % de acetato de etilo/100 % de hexanos hasta 55 % de acetato de etilo/45 % de hexanos. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*tert*-butilo (8,37 g, 15,60 mmol, 67,4 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 2,66 (t, J=7,5 Hz, 2H), 2,23 - 2,19 (m, 2H), 1,84 - 1,73 (m, 2H), 1,59 (d, J=7,3 Hz, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,44 - 1,38 (m, 2H), 1,33 - 1,25 (m, 24H).

Etapa 3:



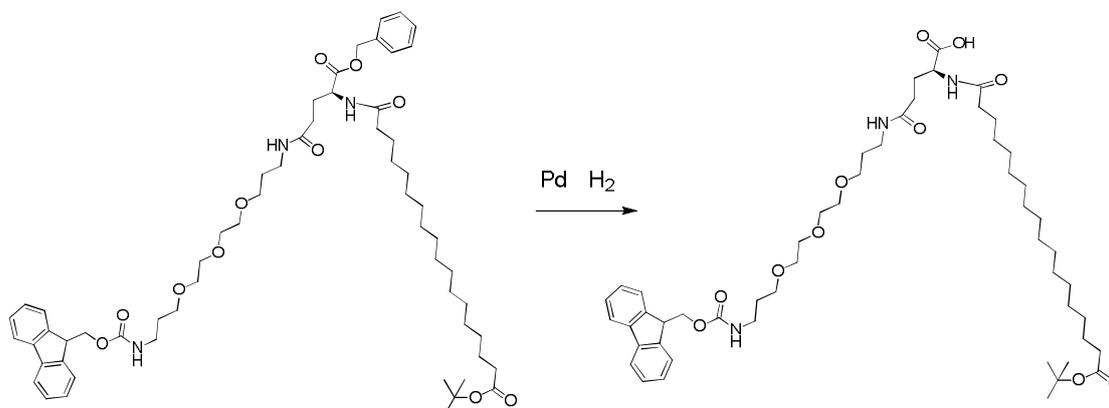
5 A un matraz de fondo redondo de 500 ml, se le añadieron 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*terc*-butilo (14,2 g, 26,5 mmol), H-GLU-OBZL (5,71 g, 24,06 mmol), DMF (160 ml) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (12,60 ml, 72,2 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción era heterogénea. Después de 25 horas, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en MgSO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice que se eluyó con un gradiente de 0-7 % de CH₂Cl₂/MeOH. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-5-(benziloxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (7,74 g, 13,12 mmol, 54,6 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,41 - 7,30 (m, 5H), 6,28 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,18 (s, 2H), 4,70 (td, J=8,0, 5,0 Hz, 1H), 2,46 - 2,32 (m, 2H), 2,22 (q, J=7,9 Hz, 5H), 2,05 - 1,91 (m, 1H), 1,60 (dt, J=15,3, 7,4 Hz, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,30 - 1,25 (m, 24H).

15 *Etapa 4:*



20 A un matraz de fondo redondo de 100 ml, se le añadieron ácido (S)-5-(benziloxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (1,69 g, 2,87 mmol), diclorometano (14,33 ml), (3-(2-(2-(3-aminopropoxi)etoxi)etoxi)propil)carbamato de (9H-fluoren-9-yl)metilo, clorhidrato (1,373 g, 2,87 mmol), hexafluorofosfato(V) de 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-il)-1,1,3,3-tetrametilisouronio (1,416 g, 3,72 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (1,497 ml, 8,60 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción estaba completa según CL/EM. El disolvente se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 20 % de acetona/hexanos hasta 60 % de acetona/40 % de hexanos. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener 22-((benziloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-yl)-3,19,24-trioxo-2,8,11,14-tetraoxa-4,18,23-triazahentetracontan-41-oato de (S)-*terc*-butilo (2,54 g, 2,504 mmol, 87 % de rendimiento) como un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,76 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,61 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,43 - 7,37 (m, 2H), 7,36 - 7,28 (m, 7H), 6,83 (d, J=7,3 Hz, 1H), 6,54 (s a, 1H), 5,51 - 5,43 (m, 1H), 5,21 - 5,10 (m, 2H), 4,58 - 4,50 (m, 1H), 4,40 (d, J=7,0 Hz, 2H), 4,25 - 4,17 (m, 1H), 3,65 - 3,48 (m, 12H), 3,37 - 3,25 (m, 4H), 2,23 - 2,18 (m, 7H), 2,07 - 1,94 (m, 1H), 1,76 - 1,71 (m, 2H), 1,66 - 1,53 (m, 6H), 1,45 (s, 9H), 1,30 - 1,23 (m, 24H).

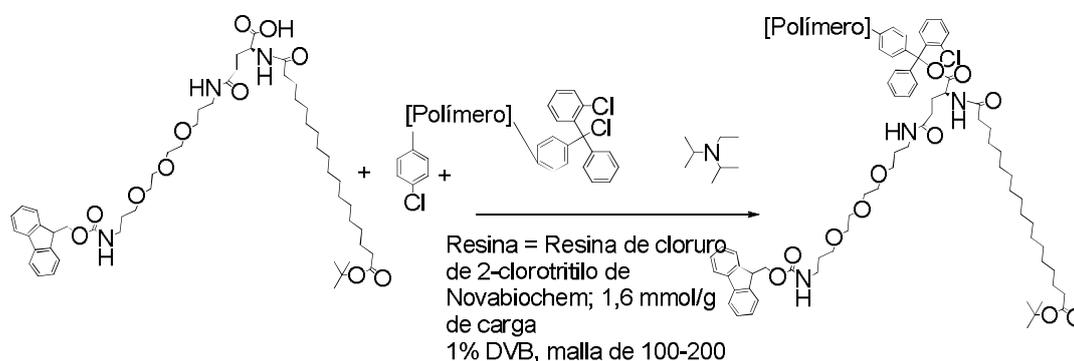
Etapa 5:



5

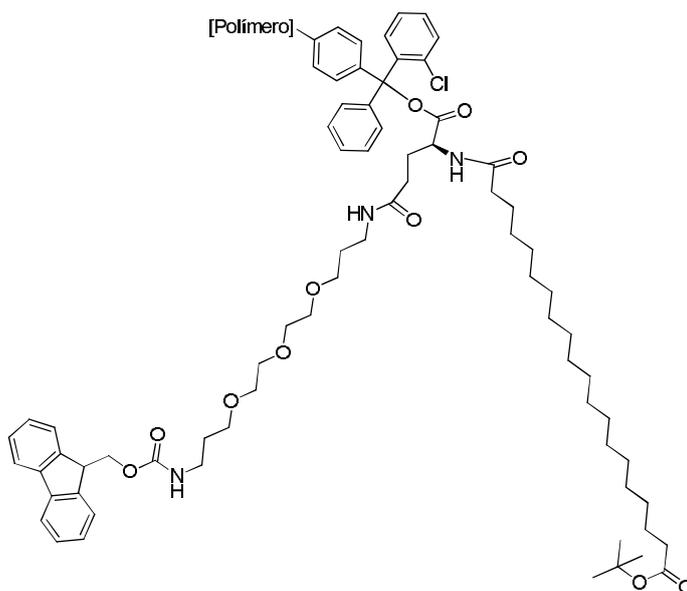
A un matraz de fondo redondo de 100 ml, se le añadieron 22-((benciloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19,24-trioxa-2,8,11,14-tetraoxa-4,18,23-triazahentetracontan-41-oato de (S)-*tert*-butilo (0,95 g, 0,937 mmol), metanol (20 ml) y 10 % de paladio sobre carbón (0,100 g, 0,094 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior y se cargó con hidrógeno mediante un globo. La mezcla se agitó durante la noche. La reacción se verificó mediante CL/EM y estaba completa. La reacción se filtró a través de celite para retirar el catalizador, y el filtrado se evaporó al vacío para obtener ácido (S)-22-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19-dioxo-2,8,11,14-tetraoxa-4,18-diazatricosan-23-oico (0,76 g, 0,822 mmol, 88 % de rendimiento). Este material se usó en el estado en el cual se encontraba, sin purificación. CL/EM: (M+H)⁺ = 925,10.

15 Etapa 6: Resina de 2-clorotritilo modificada M



A un recipiente de péptidos de 75 ml, se le añadieron resina de cloruro de 2-clorotritilo (1,580 g, 2,53 mmol) y diclorometano (15,80 ml). Después de 10 minutos, se añadieron ácido (S)-22-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19-dioxo-2,8,11,14-tetraoxa-4,18-diazatricosan-23-oico (0,73 g, 0,790 mmol), 1-cloro-4-metilbenceno (0,093 ml, 0,790 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (1,101 ml, 6,32 mmol). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante 45 minutos. El análisis mediante CL/EM de la comparación de la relación del estándar interno, 1-cloro-4-metilbenceno (68,1 mg, 0,538 mmol) en comparación con el ácido de inicio indica que la reacción se completó o que el ácido se consumió por completo. La resina después se diluyó con 20 ml de una solución 9:1 de metanol /base de Hunig, se filtró rápidamente y se lavó con DMF tres veces, con CH₂Cl₂ 3 veces y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba para la síntesis de péptidos con una carga asumida de 0,5 meq/g.

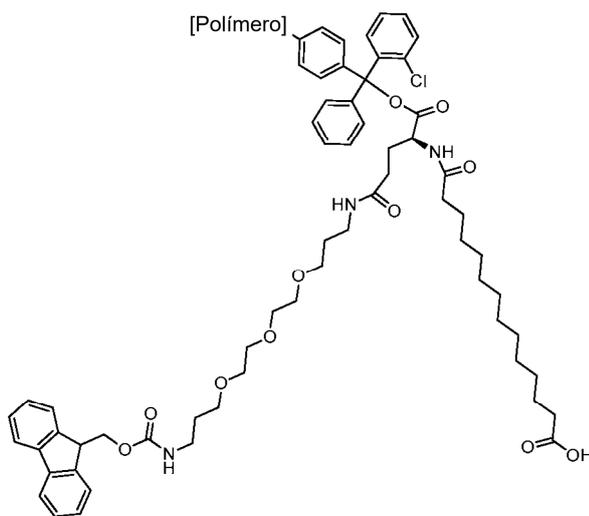
30 Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada N



La resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada P se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina de 2-clorotritilo modificada M.

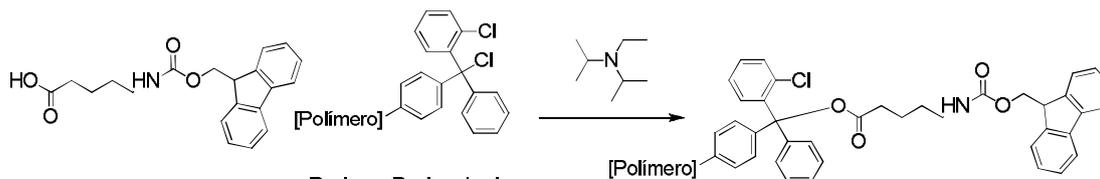
5

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada Q



10 La resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada Q se elaboró siguiendo un procedimiento idéntico al de la resina de 2-clorotritilo modificada M.

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada R



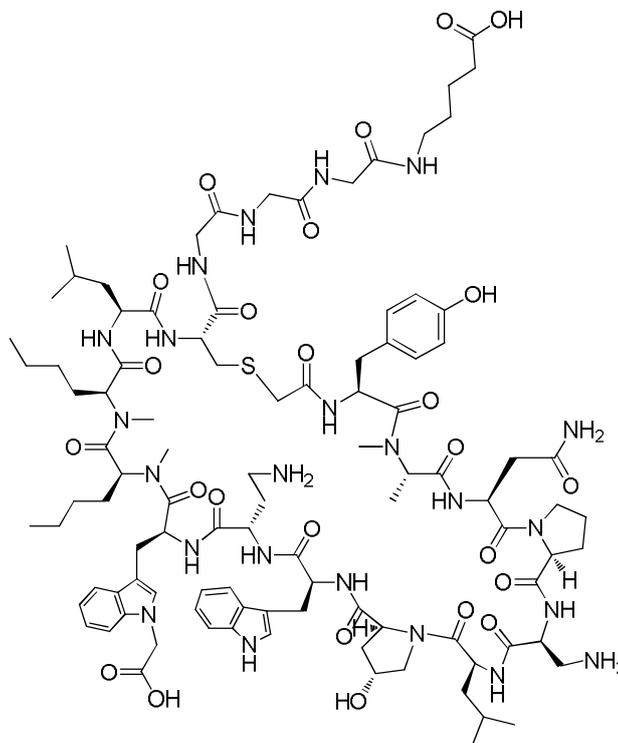
Resina = Resina de cloruro de 2-clorotritilo de Novabiochem; 1,42 mmol/g de carga
1% DVB, malla de 100-200

15

A un recipiente de péptidos se le añadieron ácido 5-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)pentanoico (,118 g, 0,348 mmol), resina de clorotritilo (0,795 g, 1,113 mmol), N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,424 ml, 2,434 mmol) y

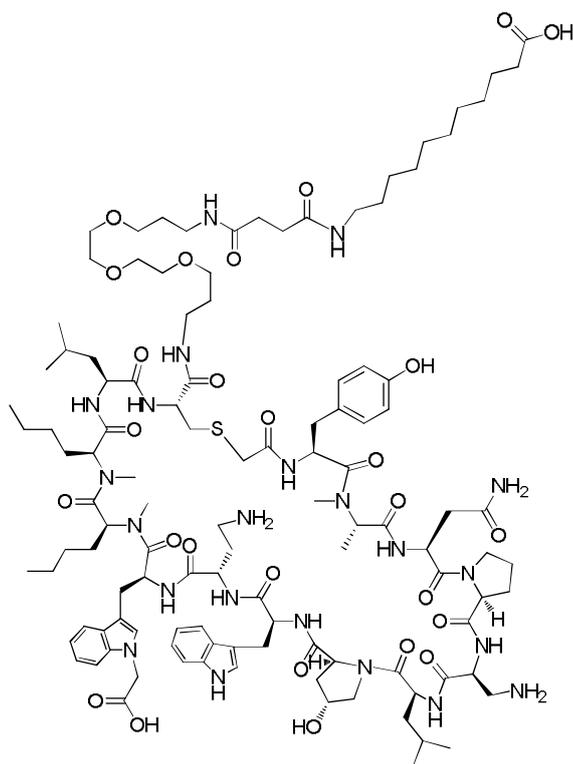
5 CH_2Cl_2 (6 ml). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante la noche. El día siguiente, la reacción finalizó mediante la adición de 3 ml de metanol y agitando el matraz durante 2 h más. La resina después se filtró y se lavó con CH_2Cl_2 , con DMF 3x, con CH_2Cl_2 3x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba, la carga asumida de 0,44 meq/g se usó para la preparación de los péptidos deseados.

Preparación del Ejemplo 11137



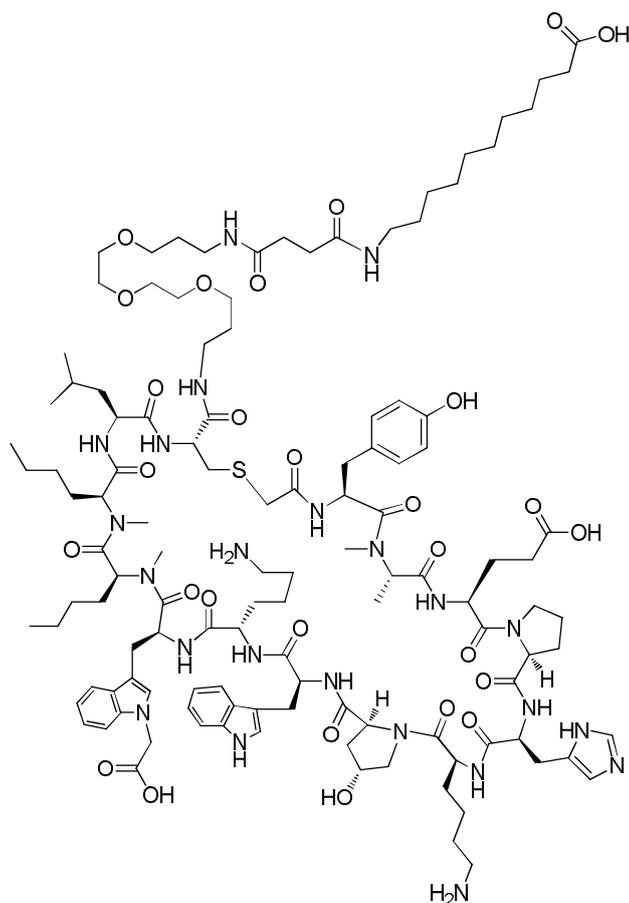
10 El Ejemplo 11137 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida",
 15 "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada R en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25
 20 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 92,2 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,120 min.

25 *Preparación del Ejemplo 11138*



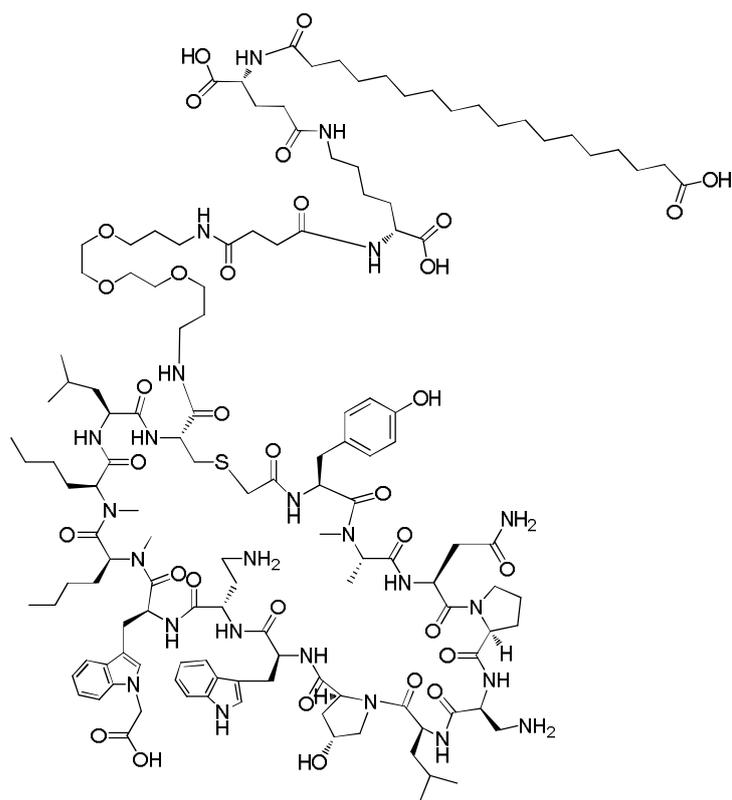
- El Ejemplo 11138 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,1 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,641 min; IEN-EM(+) m/z 1159,1391 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11139



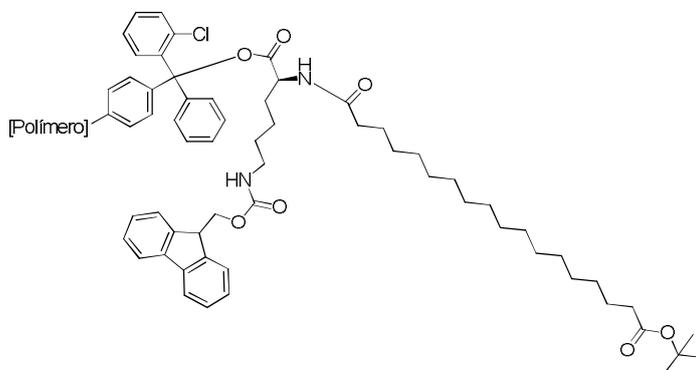
El Ejemplo 11139 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,286 min; IEN-EM(+) m/z 1213,6656 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11140



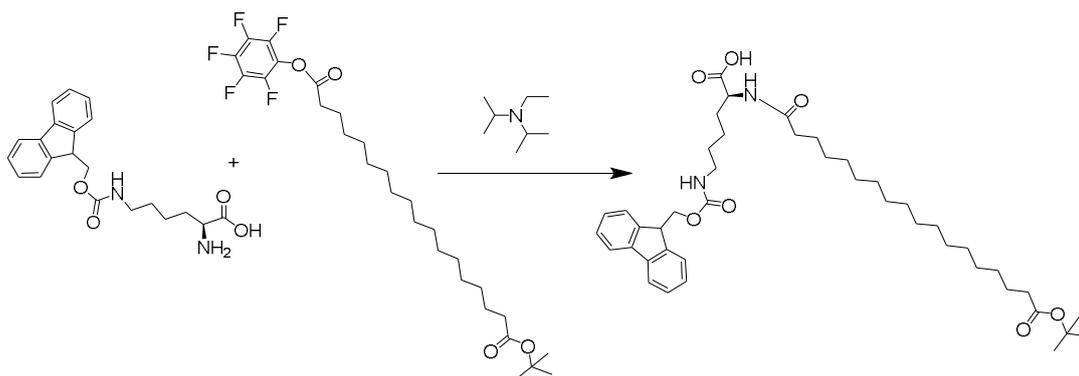
- El Ejemplo 11140 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,435 min.

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada S



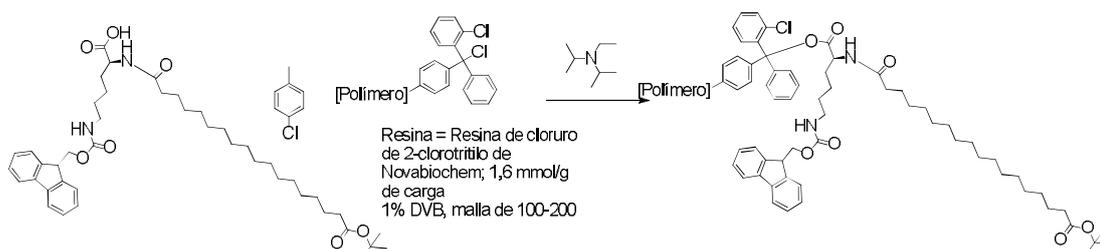
20

Etapa 1:



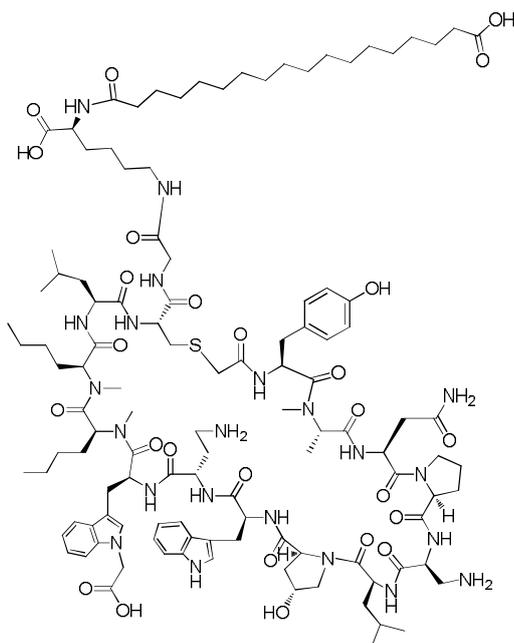
5 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron H-LYS(FMOC)-OH (367 mg, 0,996 mmol), N,N-dimetilformamida (8 ml), 18-(perfluorofenil)octadecandioato de 1-*tert*-butilo (641 mg, 1,195 mmol) y base de Hunig (0,522 ml, 2,99 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 100 % de CH₂Cl₂, después 5 % de MeOH en 95 % de CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-6-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino-2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)hexanoico (332 mg, 0,460 mmol, 46,2 % de rendimiento). RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ 7,79 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,60 (d, J=7,3 Hz, 2H), 7,47 - 7,38 (m, 2H), 7,37 - 7,30 (m, 2H), 6,44 (m, 1H), 5,00 (t, J=6,3 Hz, 1H), 4,60 - 4,50 (m, 1H), 4,50 - 4,33 (m, 2H), 4,30 - 4,14 (m, 1H), 3,22 (m, 2H), 2,42 - 2,33 (m, 1H), 2,22 (t, J=7,5 Hz, 4H), 1,94 (s a, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,71 - 1,51 (m, 6H), 1,48 - 1,45 (m, 9H), 1,38 - 1,12 (m, 24H).

15 Etapa 2:



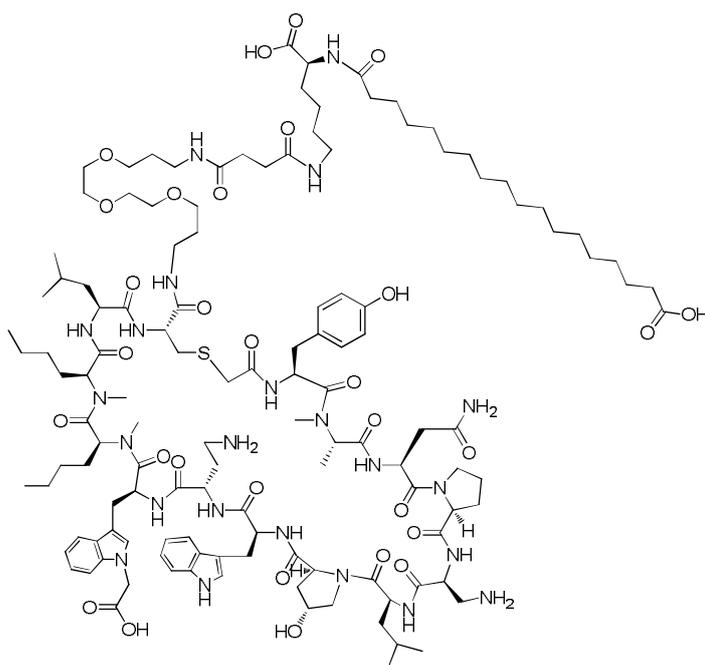
20 A un recipiente de péptidos se le añadieron resina de clorotrieto (921 mg, 1,474 mmol), ácido (S)-6-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino-2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)hexanoico (332 mg, 0,460 mmol), CH₂Cl₂ (10 ml), 1-cloro-4-metilbenceno (17,49 mg, 0,138 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,561 ml, 3,22 mmol). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante 30 min. La reacción estaba completa al analizar la CL/EM y comparar la relación del estándar interno 1-cloro-4-metilbenceno (17,49 mg, 0,138 mmol) en comparación con el ácido de inicio. La resina después se diluyó con 20 ml de una solución 9:1 de metanol/ base de Hunig, se filtró rápidamente y se lavó con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 2x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba con una carga asumida de 0,5 meq/g para la síntesis de las proteínas deseadas.

30 *Preparación del Ejemplo 11141*



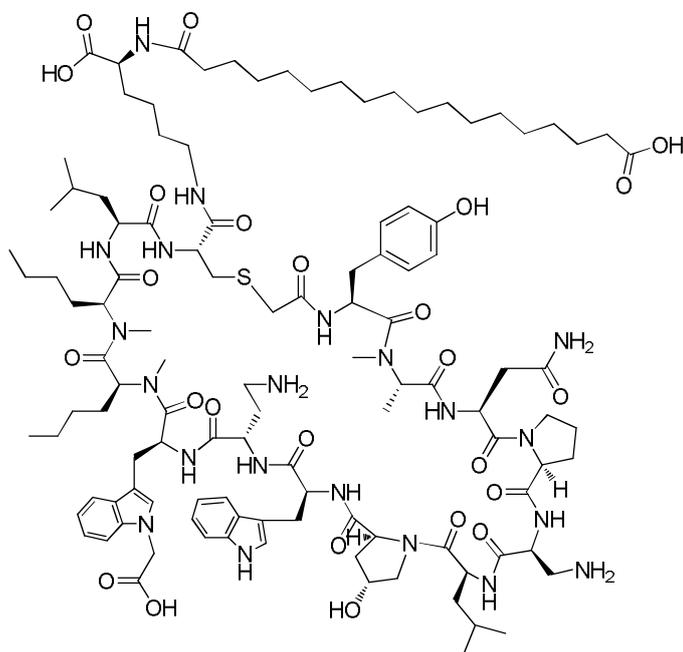
El Ejemplo 11141 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada S en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,230 min; IEN-EM(+) m/z 1157, 1375 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11142



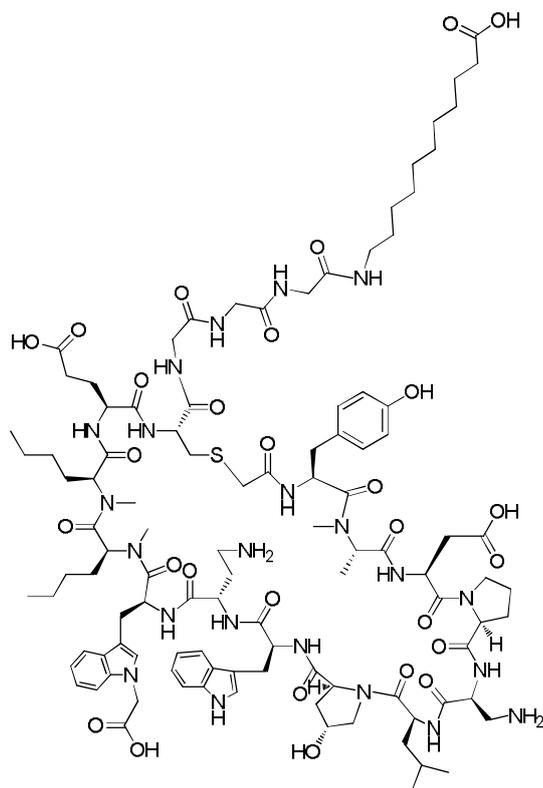
El Ejemplo 11142 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada S en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,743 min; IEN-EM(+) m/z 1279,7212 (M+2H).

15 Preparación del Ejemplo 11143



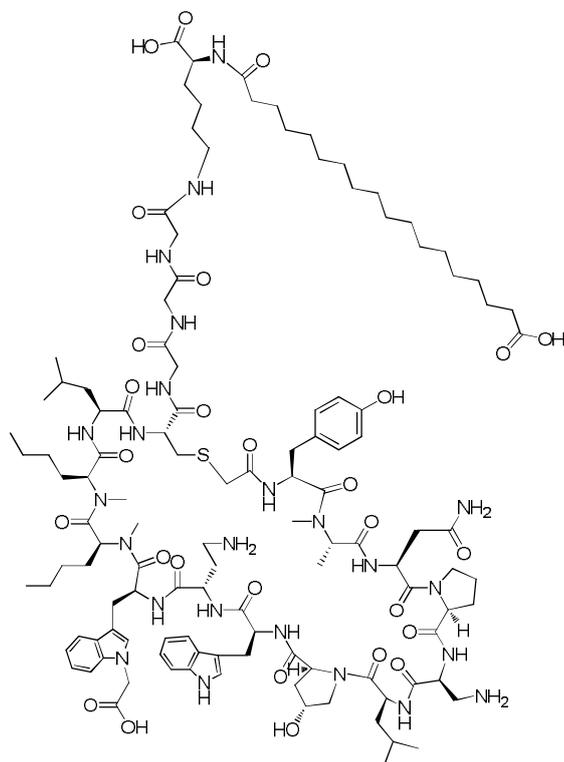
El Ejemplo 11143 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada S en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,895 min; IEN-EM(+) m/z 1128,6300 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11144



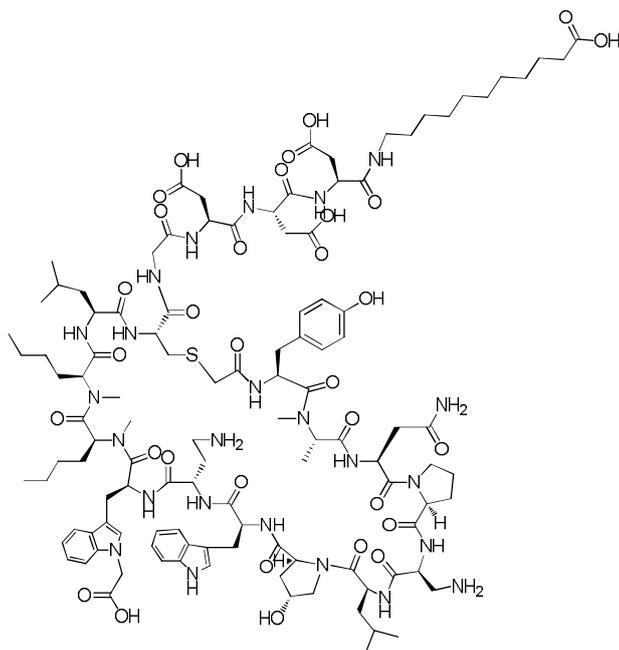
- El Ejemplo 11139 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,286 min; IEN-EM(+) m/z 1213,6656 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11145



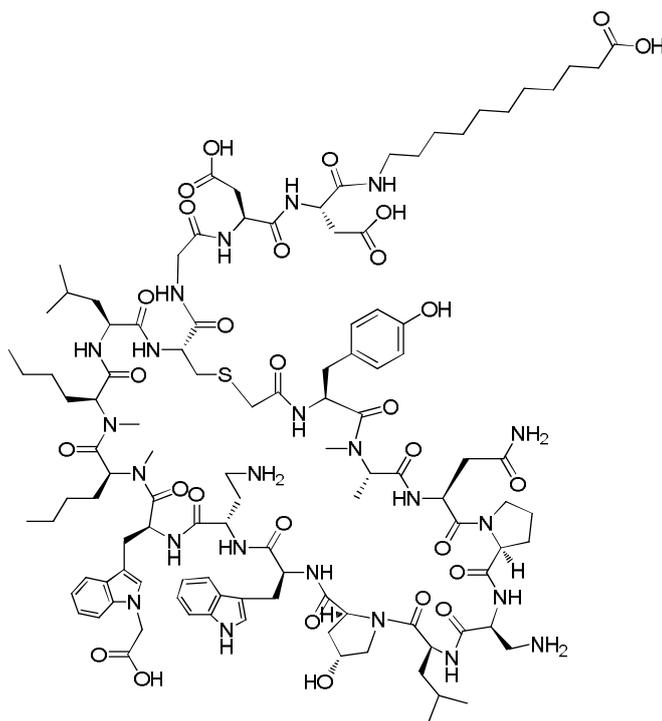
- El Ejemplo 11146 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada S en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,691 min; IEN-EM(+) m/z 1214,1614 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11147



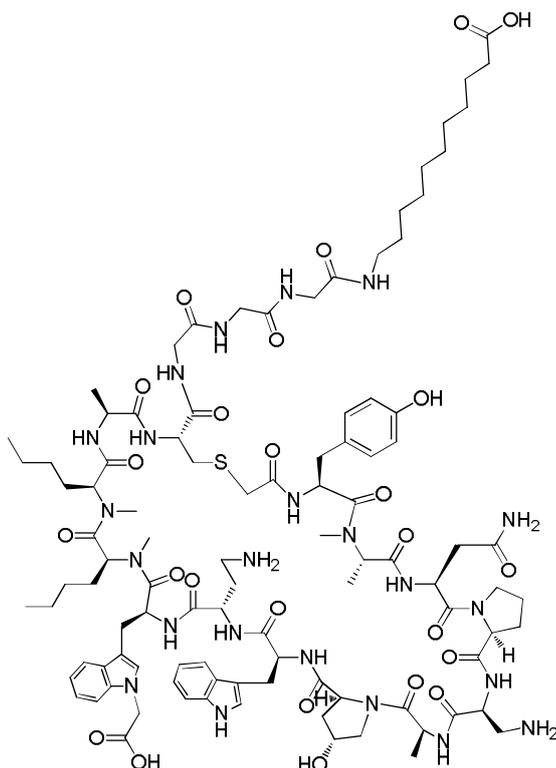
El Ejemplo 11147 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 89,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,501 min; IEN-EM(+) m/z 1209,0971 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11148



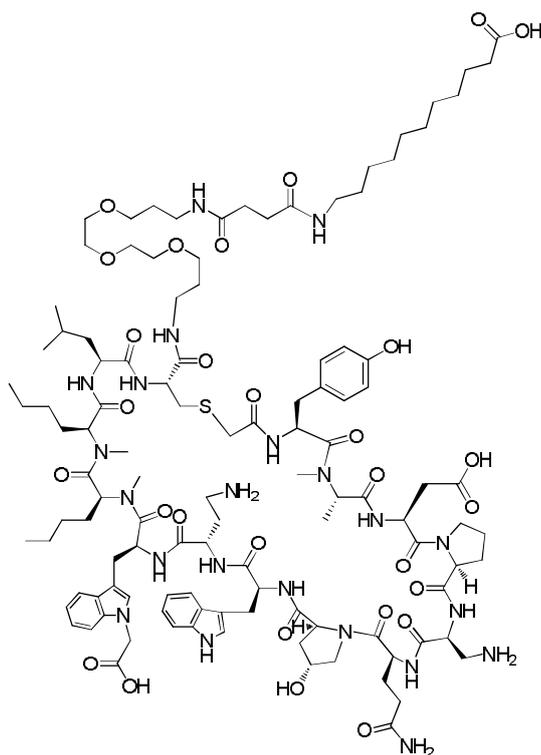
El Ejemplo 11148 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,696 min; IEN-EM(+) m/z 1151,5832 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11149



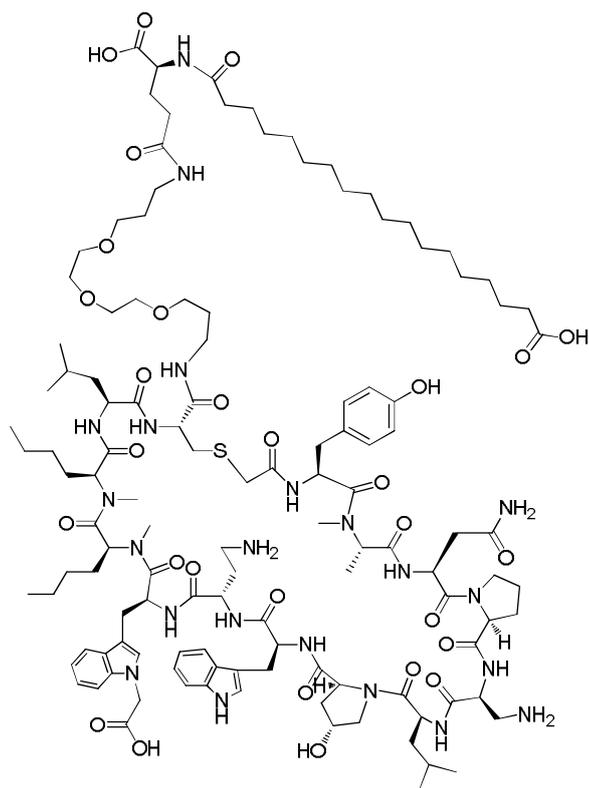
El Ejemplo 11149 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 92,1 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,865 min; IEN-EM(+) m/z 1051,5311 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11150



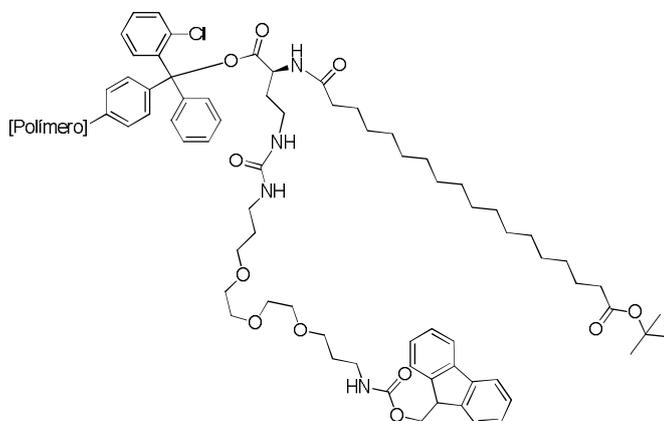
El Ejemplo 11151 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,235 min; IEN-EM(+) m/z 1167, 1178 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11152



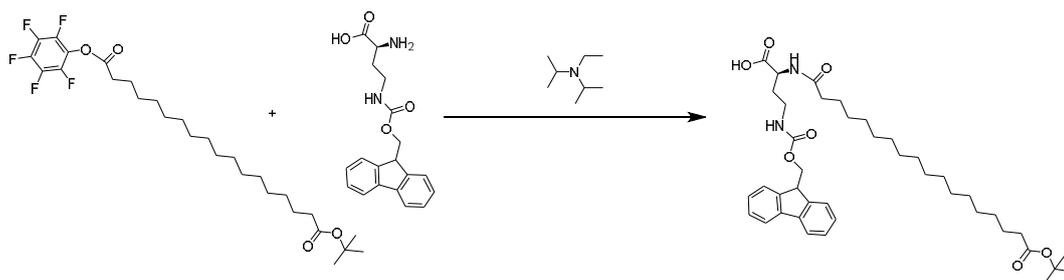
- El Ejemplo 11152 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,945 min; IEN-EM(+) m/z 1230,1853 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada T



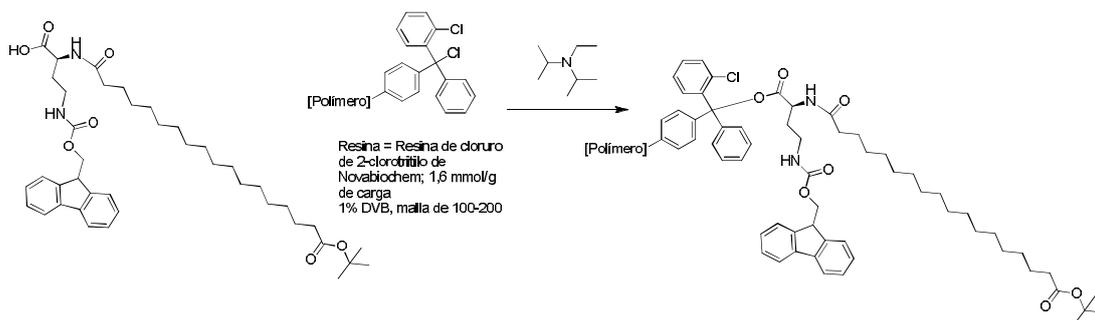
20

Etapa 1:



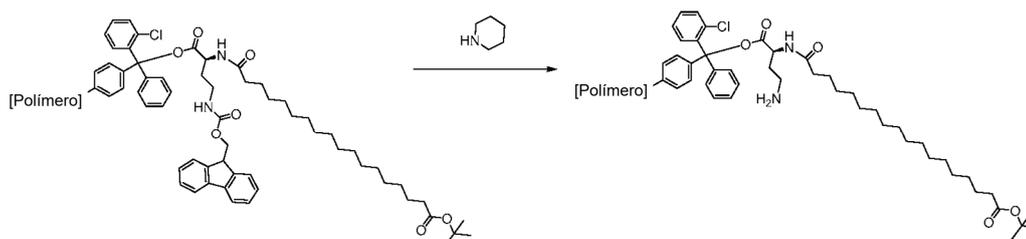
5 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino-2-aminobutanoico (200 mg, 0,588 mmol), N,N-dimetilformamida (5 ml), 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*terc*-butilo (347 mg, 0,646 mmol) y base de Hunig (0,308 ml, 1,763 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 100 % de CH₂Cl₂, después 5 % de MeOH en 95 % de CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico (67 mg, 0,097 mmol, 16,46 % de rendimiento). Columna: X-Bridge C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 5 minutos, después un mantenimiento de 1,0 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm. Tiempo de retención = 3,866 min; IEN-EM(-) m/z 691,6 (M-H).

Etapa 2:



20 A un vial de centelleo de 20 ml, se le añadieron ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico (64 mg, 0,092 mmol), resina de clorotriilo (196 mg, 0,314 mmol), CH₂Cl₂ (4 ml) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,113 ml, 0,647 mmol). El vial se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante la noche. El día siguiente, la reacción finalizó mediante la adición de 3 ml de metanol y agitando el matraz durante 1 h más. La resina después se filtró y se lavó con CH₂Cl₂, con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 3x y finalmente con dietiléter. La resina se usó en el estado en el cual se encontraba con una carga asumida de 0,5 meq/g para las etapas de síntesis posteriores.

30 Etapa 3:

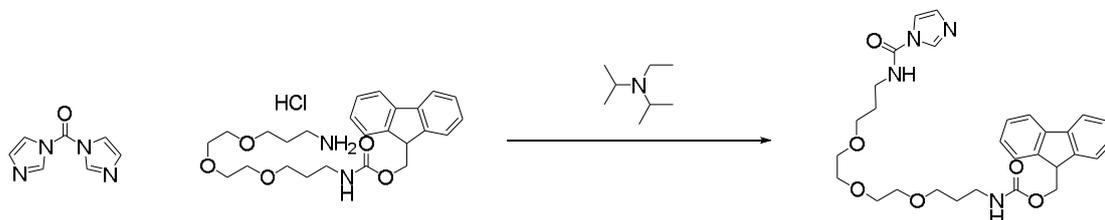


35 A un recipiente de péptidos se le añadieron la resina indicada (0,209 g, 0,092 mmol), DMF (3 ml), piperidina (0,182 ml, 1,840 mmol), y el recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante 1 h. Después de 1 hora, la resina después se filtró y se lavó con CH₂Cl₂, con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 3x y finalmente con dietiléter. La

resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba en la siguiente etapa. La resina se usó en el estado en el cual se encontraba con una carga asumida de 0,5 meq/g para las etapas de síntesis posteriores.

Etapa 4:

5



A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron 1-(9-FLUORENILMETILOXICARBONIL-AMINO)-4,7,10-TRIOXA-13-TRIDECANAMINA CLORHIDRATO (1 g, 2,088 mmol), THF (15 ml), base de Hunig (0,474 ml, 2,71 mmol) y 1,1'-CARBONILDIIMIDAZOL (0,372 g, 2,296 mmol). La solución se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El día siguiente la reacción se verificó mediante CL/EM y la reacción estaba completa. El disolvente de reacción se evaporó al vacío, y el aceite en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 3 %/97 % de MeOH/CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener (1-(1H-imidazol-1-il)-1-oxo-6,9,12-trioxa-2-azapentadecan-15-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (1,022 g, 1,905 mmol, 91 % de rendimiento). RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 8,18 (s, 1H), 7,78 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,61 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,47 (s, 1H), 7,41 (t, J=7,4 Hz, 2H), 7,32 (td, J=7,5, 0,9 Hz, 2H), 7,21 (s a, 1H), 7,05 (dd, J=1,5, 0,8 Hz, 1H), 5,57 (s a, 1H), 4,43 (d, J=7,5 Hz, 2H), 4,30 - 4,16 (m, 1H), 3,72 - 3,60 (m, 8H), 3,60 - 3,53 (m, 4H), 3,49 (t, J=5,3 Hz, 2H), 3,30 (q, J=5,9 Hz, 2H), 1,96 - 1,85 (m, 2H), 1,80 - 1,69 (m, 2H). Columna: X-Bridge C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 3,5 μm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 4 minutos, después un mantenimiento de 1,0 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm. Tiempo de retención = 2,538 min; IEN-EM(+) m/z 537,3 (M+H).

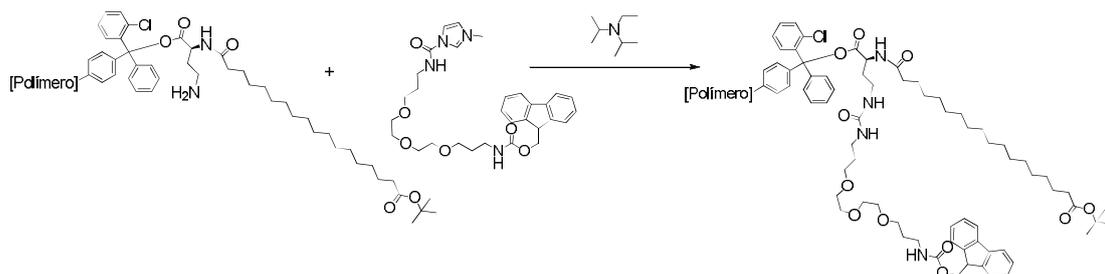
Etapa 5:

25



A un matraz de fondo redondo de 25 ml, se le añadieron (1-(1H-imidazol-1-il)-1-oxo-6,9,12-trioxa-2-azapentadecan-15-il)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo (400 mg, 0,745 mmol), acetonitrilo (3 ml) y iodometano (0,093 ml, 1,491 mmol). La reacción se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El día siguiente la reacción se verificó mediante CL/EM y estaba completa. El disolvente de reacción se evaporó al vacío, y el sólido en bruto se usó en el estado en el cual se encontraba, sin purificación. Columna: X-Bridge C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 3,5 μm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 4 minutos, después un mantenimiento de 1,0 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm. Tiempo de retención = 3,256 min.

Etapa 6:



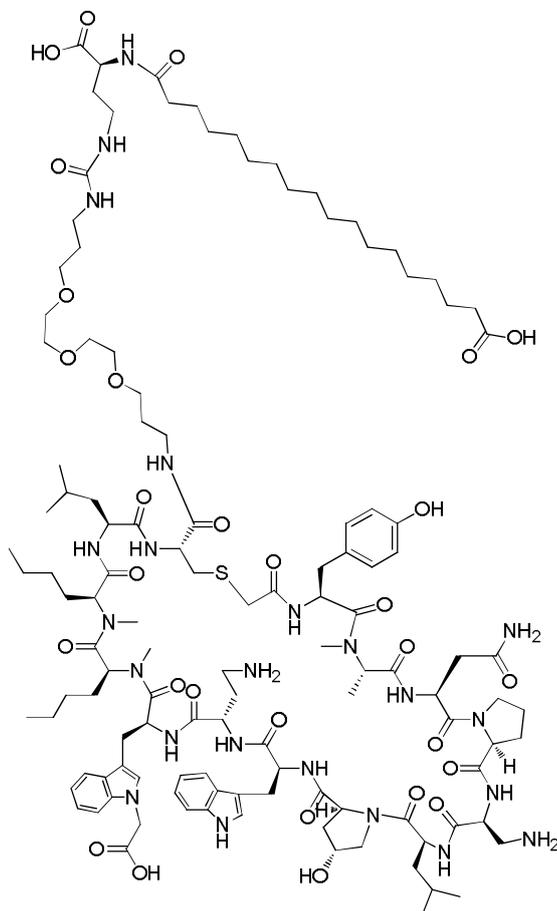
40

A un recipiente de péptidos se le añadieron la resina de clorotriptyl modificada anterior (0,069 g, 0,092 mmol), CH₂Cl₂

(2 ml), base de Hunig (0,064 ml, 0,368 mmol) y el reactivo de yodometilimidazolio (0,076 g, 0,138 mmol). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante la noche. El día siguiente, la resina se filtró y se lavó con CH_2Cl_2 , con DMF 3x, con CH_2Cl_2 3x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba para la síntesis de péptidos. Carga asumida de 0,44 meq/g.

5

Preparación del Ejemplo 11153

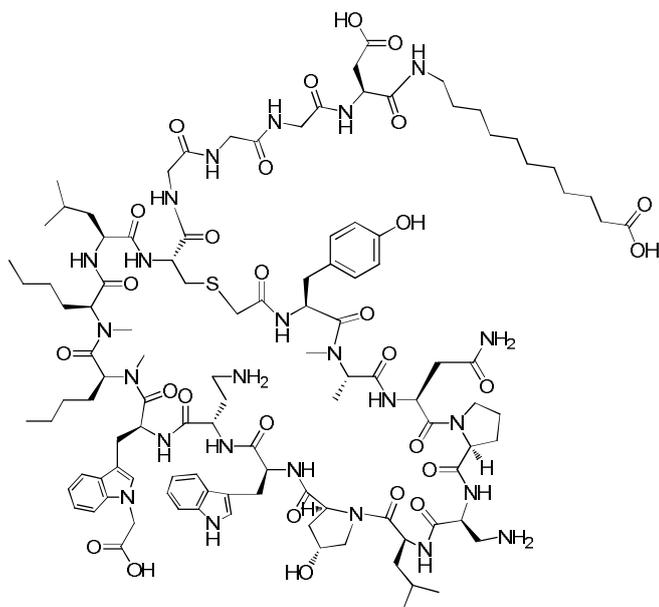


- 10 El Ejemplo 11153 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada T en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,848 min; IEN-EM(+) m/z 1237,6914 (M+2H).

20

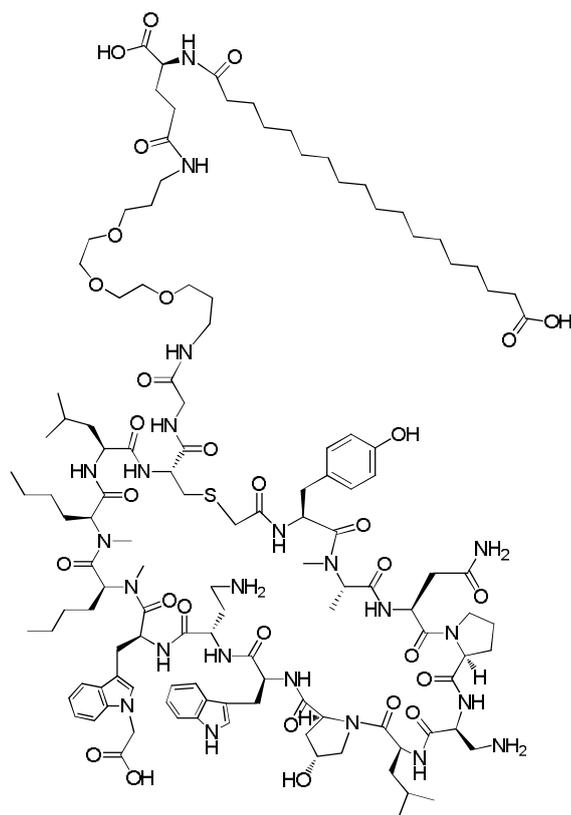
Preparación del Ejemplo 11154

25



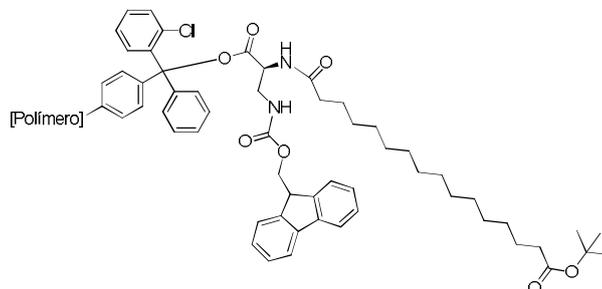
El Ejemplo 11154 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,7 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,581 min.

Preparación del Ejemplo 11155



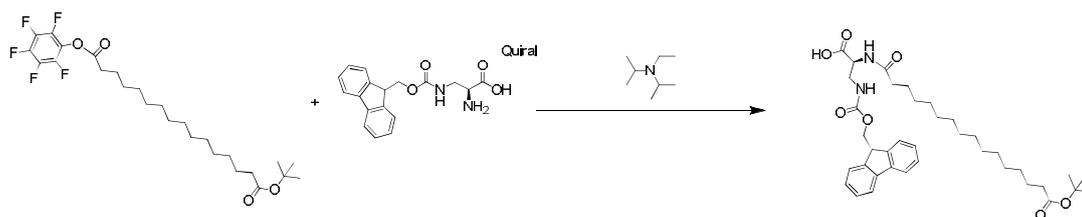
El Ejemplo 11156 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,335 min; IEN-EM(+) m/z 1258,6989 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada U



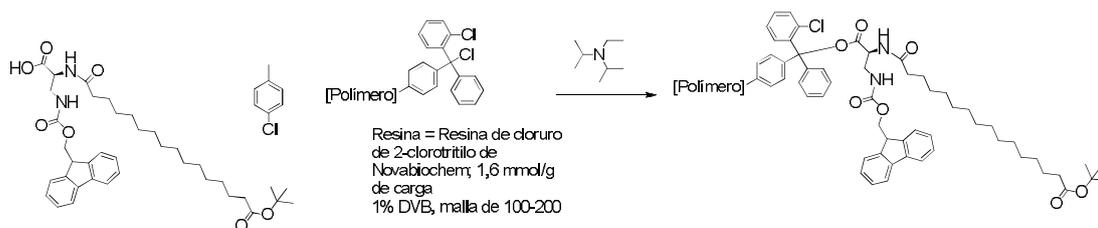
20

Etapa 1:



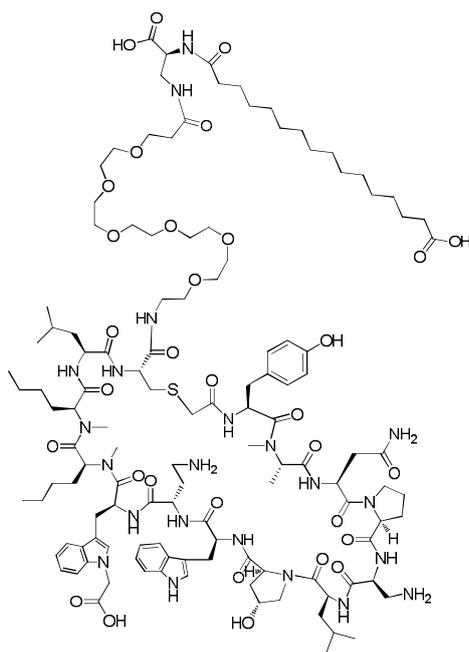
5 A un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadieron ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-aminopropanoico, HCl (218 mg, 0,6 mmol), N,N-dimetilformamida (6 ml), 16-(perfluorofenil) hexadecandioato de 1-*terc*-butilo (397 mg, 0,780 mmol) y base de Hunig (0,314 ml, 1,800 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 100 % de CH₂Cl₂, después 5 % de MeOH en 95 % de CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)propanoico (386 mg, 0,593 mmol, 99 % de rendimiento). Columna: X-Bridge C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 40 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 6 minutos, después un mantenimiento de 1,0 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm. Tiempo de retención = 4,570 min; IEN-EM(-) m/z 649,7 (M-H).

Etapa 2:



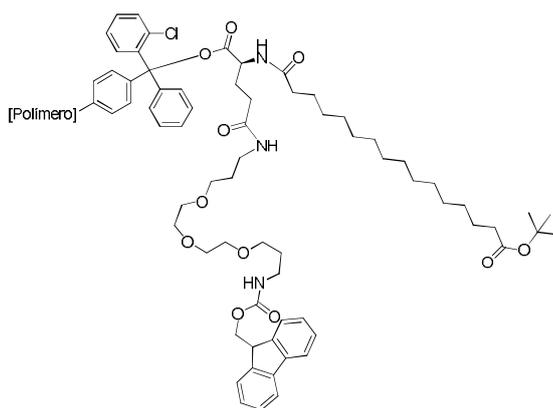
20 A un recipiente de péptidos se le añadieron resina de clorotritilo (1076 mg, 1,721 mmol), ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)propanoico (350 mg, 0,538 mmol), CH₂Cl₂ (8 ml), 1-cloro-4-metilbenceno (68,1 mg, 0,538 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,656 ml, 3,76 mmol). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante 20 min. La reacción estaba completa al analizar la CL/EM y comparar la relación del estándar interno 1-cloro-4-metilbenceno (68,1 mg, 0,538 mmol) en comparación con el ácido de inicio. La resina después se diluyó con 20 ml de una solución 9:1 de metanol/ base de Hunig, se filtró rápidamente y se lavó con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 2x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba con una carga asumida de 0,5 meq/g.

Preparación del Ejemplo 11157



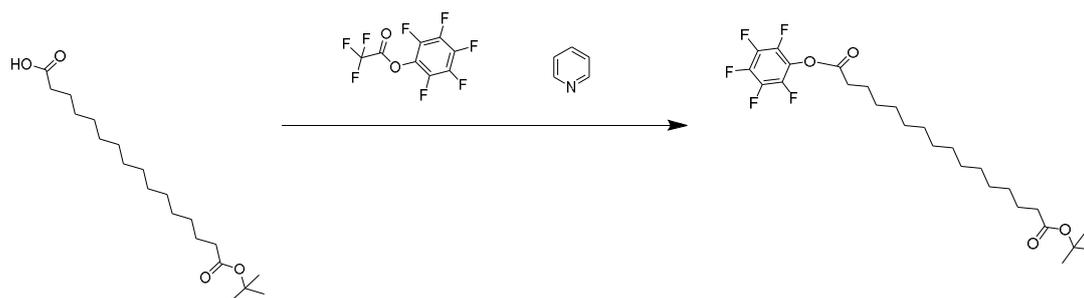
El Ejemplo 11157 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada U en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,103 min; IEN-EM(+) m/z 1261,1862 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada V



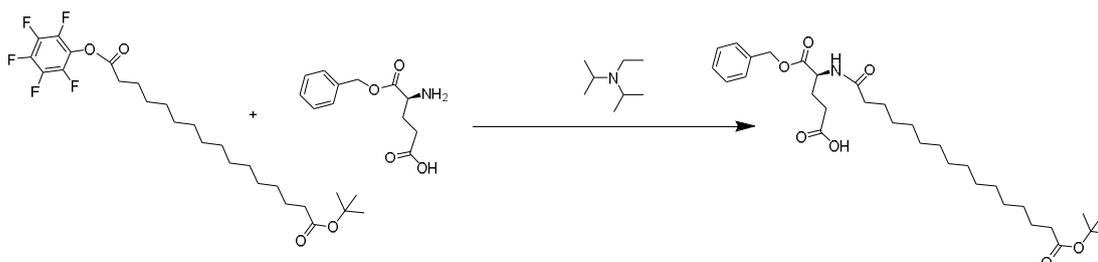
20

Etapa 1:



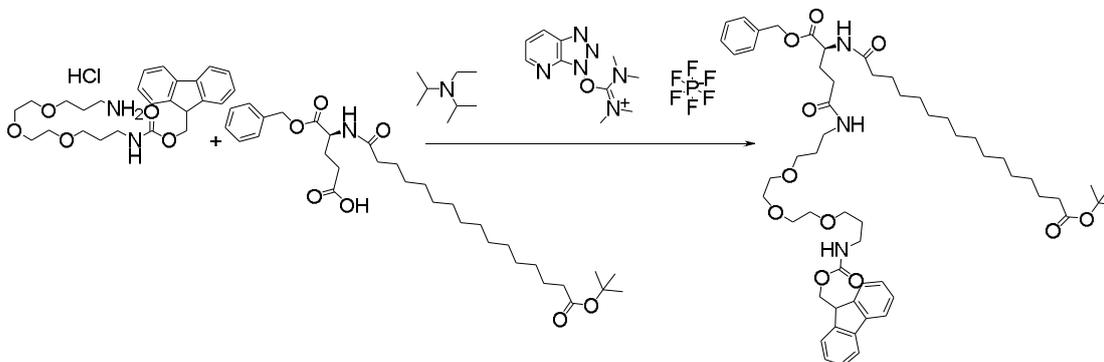
5 A un matraz de fondo redondo de 100 ml, se le añadieron ácido 16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanoico (5900 mg, 17,23 mmol), N,N-dimetilformamida (30 ml), piridina (3,48 ml, 43,1 mmol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (9649 mg, 34,5 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto, 16-(perfluorofenil) hexadecandioato de 1-*terc*-butilo (8,7 g, 17,11 mmol, 99 % de rendimiento) se usó en el estado en el cual se encontraba, sin purificación. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 2,68 (t, J=7,4 Hz, 2H), 2,23 (t, J=7,5 Hz, 2H), 1,89 - 1,71 (m, 2H), 1,65 - 1,54 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,28 (m, 20H).

Etapa 2:



15 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron ácido (S)-4-amino-5-(benziloxy)-5-oxopentanoico (800 mg, 3,37 mmol), N,N-dimetilformamida (8 ml), 16-(perfluorofenil) hexadecandioato de 1-*terc*-butilo (2229 mg, 4,38 mmol) y base de Hunig (1,767 ml, 10,12 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 100 % de CH₂Cl₂, después 5 % de MeOH en 95 % de CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-5-(benziloxy)-4-(16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)-5-oxopentanoico (0,836 g, 1,488 mmol, 44,1 % de rendimiento). Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,641 min; IEN-EM(-) m/z 560,6 (M-H); RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,36 (m, 5H), 6,37 (m, 1H), 5,18 (s, 2H), 4,67 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,21 (m, 6H), 2,02 (m, 1H), 1,61 (m, 6H), 1,45 (s, 9H), 1,40 - 1,16 (m, 18H).

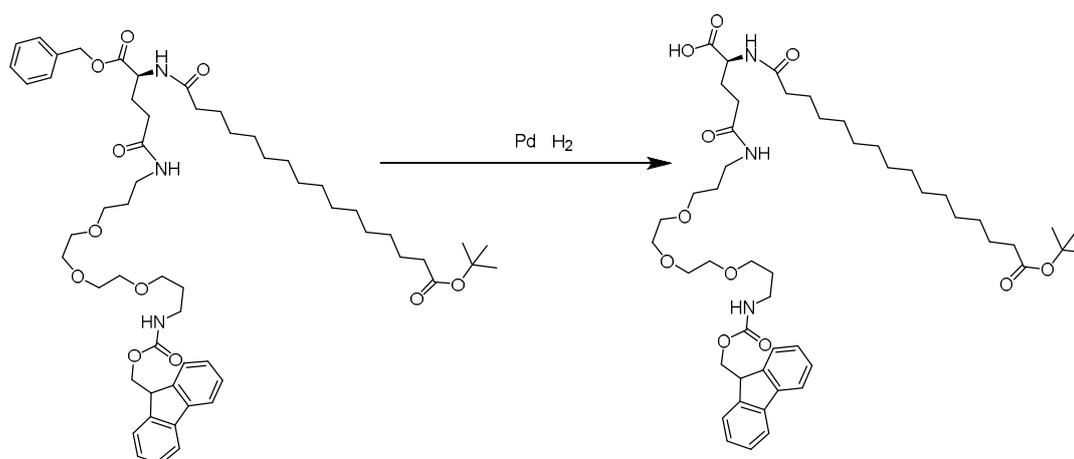
30 Etapa 3:



35 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron ácido (S)-5-(benziloxy)-4-(16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)-5-oxopentanoico (836 mg, 1,488 mmol), CH₂Cl₂ (8 ml), clorhidrato de 1-(9-

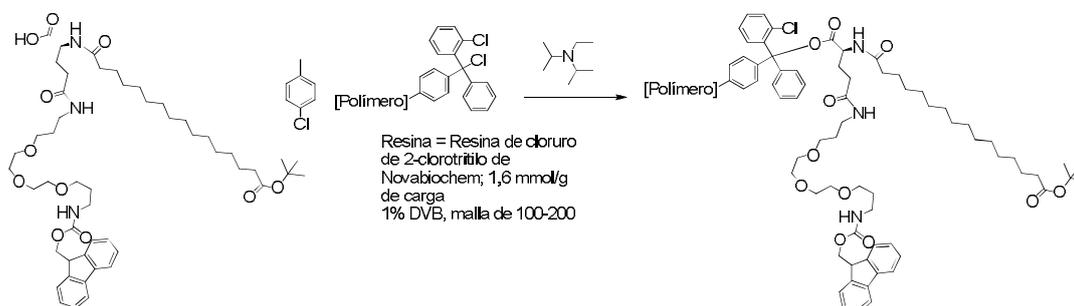
fluorenilmetiloxycarbonil-amino)-4,7,10-trioxa-13-tridecanamina (713 mg, 1,488 mmol), base de Hunig (0,780 ml, 4,46 mmol) y HATU (736 mg, 1,935 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente el disolvente de reacción se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 20 % de acetona/80 % de hexanos hasta 60 % de acetona/40 % de hexanos. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener 22-((benciloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19,24-trioxa-2,8,11,14-tetraoxa-4,18,23-triazanonatriacontan-39-oato de (S)-*tert*-butilo (520 mg, 0,527 mmol, 35,4 % de rendimiento). Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 6,096 min; IEN-EM(+) m/z 987,0 (M+H); RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,79 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,63 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,42 (t, J=8,0 Hz, 2H), 7,38 - 7,30 (m, 7H), 6,83 (m, 1H), 6,53 (m, 1H), 5,49 (m, 1H), 5,18 (m, 2H), 4,58 (m, 1H), 4,42 (d, J=4,0 Hz, 2H), 4,23 (m, 1H), 3,63 (m, 6H), 3,55 (m, 6H), 3,33 (m, 4H), 2,22 (m, 7H), 2,02 (m, 1H), 1,77 (m, 4H), 1,63 (m, 4H), 1,47 (s, 9H), 1,37 - 1,20 (m, 20H).

Etapa 4:



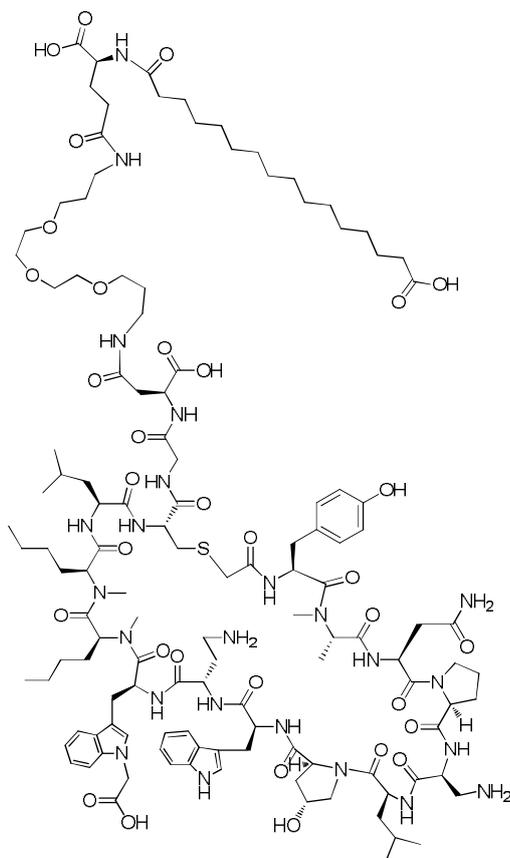
A un matraz de fondo redondo de 25 ml, se le añadieron 22-((benciloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19,24-trioxa-2,8,11,14-tetraoxa-4,18,23-triazanonatriacontan-39-oato de (S)-*tert*-butilo (520 mg, 0,527 mmol), metanol (10 ml) y paladio sobre carbón (56,1 mg, 0,053 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior y se cargó con hidrógeno (1,063 mg, 0,527 mmol) mediante un globo. El día siguiente la reacción se verificó mediante CL/EM y estaba completa. La reacción se filtró a través de celite para retirar el catalizador, y el filtrado se evaporó al vacío para obtener ácido (S)-22-(16-(*tert*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19-dioxa-2,8,11,14-tetraoxa-4,18-diazatricosan-23-oico (415 mg, 0,463 mmol, 88 % de rendimiento). Este material se usó en el estado en el cual se encontraba, sin purificación. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,535 min; IEN-EM(-) m/z 895,0 (M-H).

Etapa 5: Resina de clorotritilo modificada V



A un recipiente de péptidos se le añadieron resina de 2-clorotritilo (926 mg, 1,482 mmol), ácido (S)-22-(16-(*tert*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,19-dioxa-2,8,11,14-tetraoxa-4,18-diazatricosan-23-oico (415 mg, 0,463 mmol), CH₂Cl₂ (8 ml), 1-cloro-4-metilbenceno (58,6 mg, 0,463 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,565 ml, 3,24 mmol). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante 30 min. La reacción estaba completa al analizar la CL/EM y comparar la relación del estándar interno 1-cloro-4-metilbenceno (58,6 mg, 0,463 mmol) en comparación con el ácido de inicio. La resina después se diluyó con 20 ml de una solución 9:1 de metanol/ base de Hunig, se filtró rápidamente y se lavó con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 3x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba para la síntesis de péptidos con una carga asumida de 0,5 meq/g.

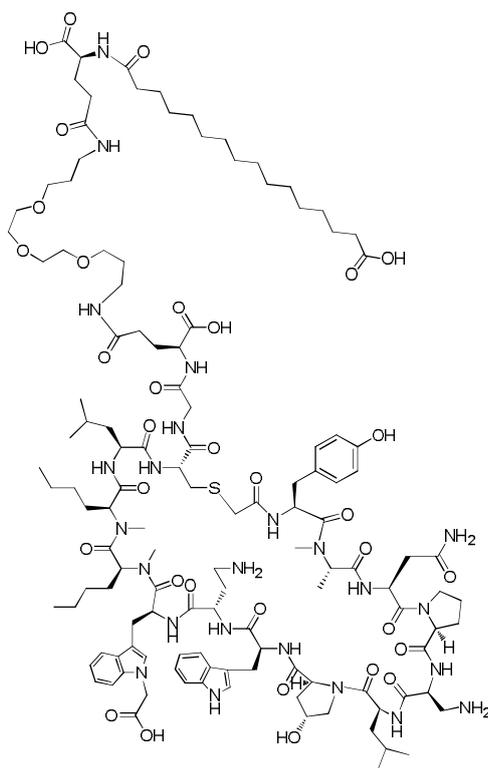
Preparación del Ejemplo 11158



- 5 El Ejemplo 11158 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación".
- 10 Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el
- 15 producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 42 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,710 min; IEN-EM(+) m/z 1302,1958 (M+2H).

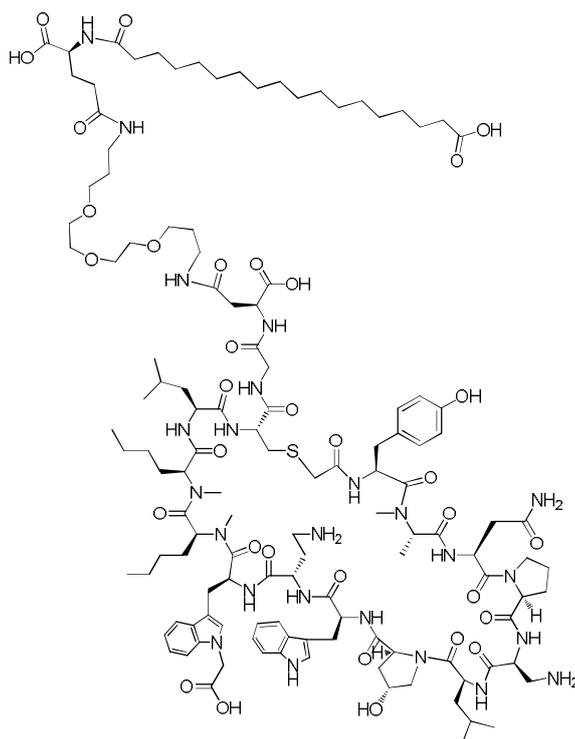
Preparación del Ejemplo 11159

20



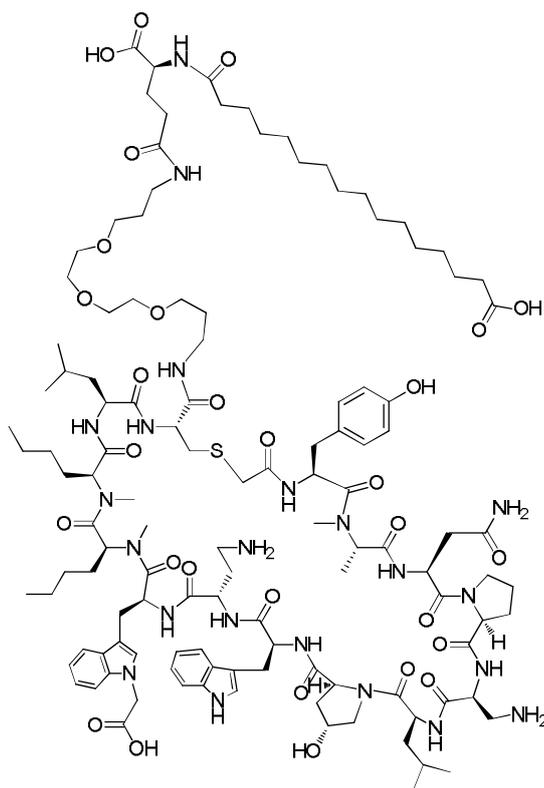
- El Ejemplo 11159 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 30 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,701 min; IEN-EM(+) m/z 1309,2045 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11160



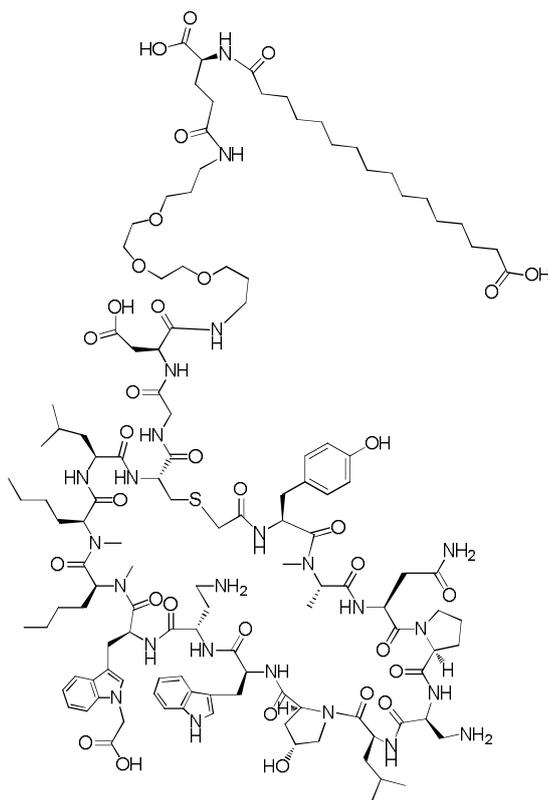
- El Ejemplo 11160 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,1 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,636 min; IEN-EM(+) m/z 1316,2122 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11161



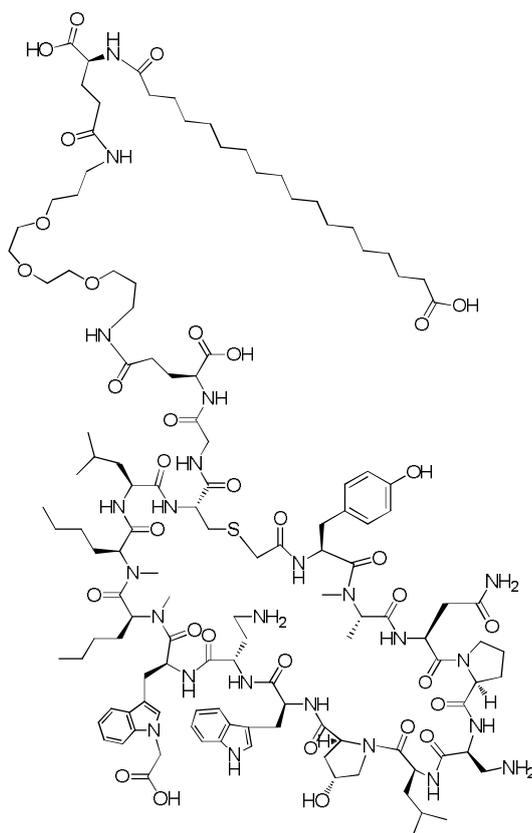
- El Ejemplo 11161 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 40 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,161 min; IEN-EM(+) m/z 1216,1731 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11162



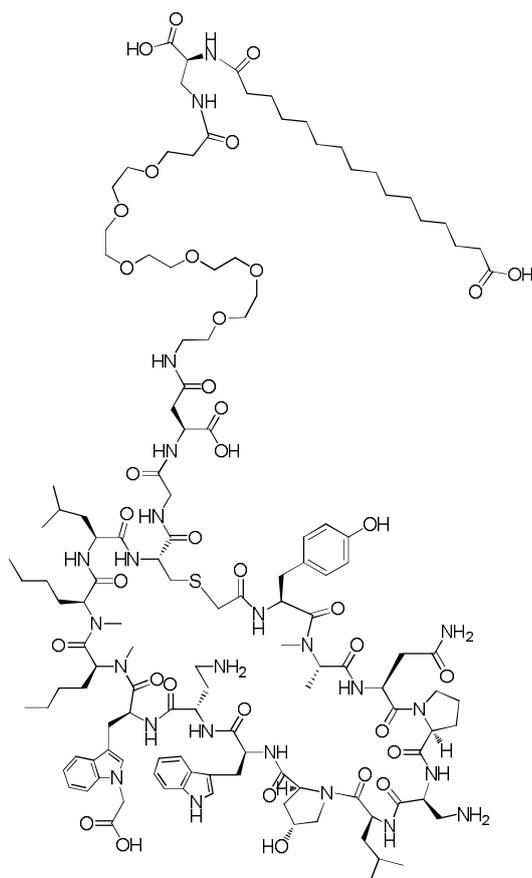
El Ejemplo 11162 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,825 min.

Preparación del Ejemplo 11163



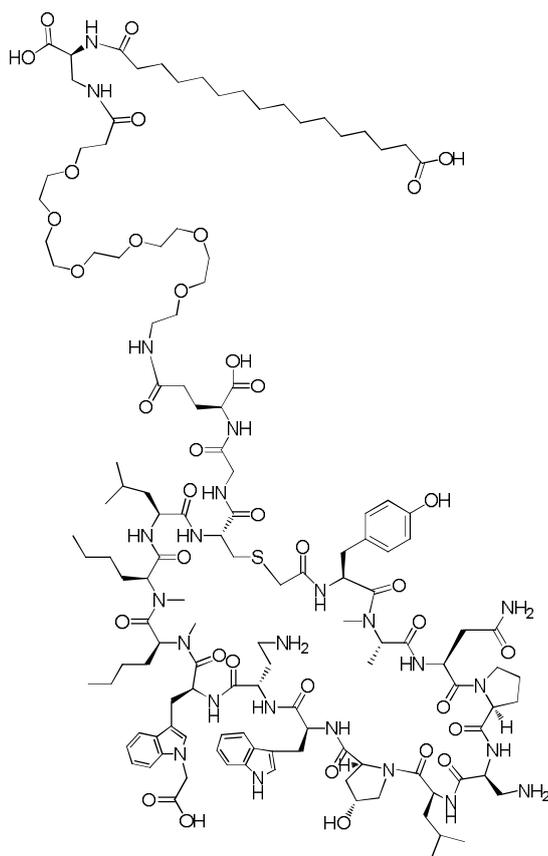
El Ejemplo 11163 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,066 min; IEN-EM(+) m/z 1323,2176 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11164



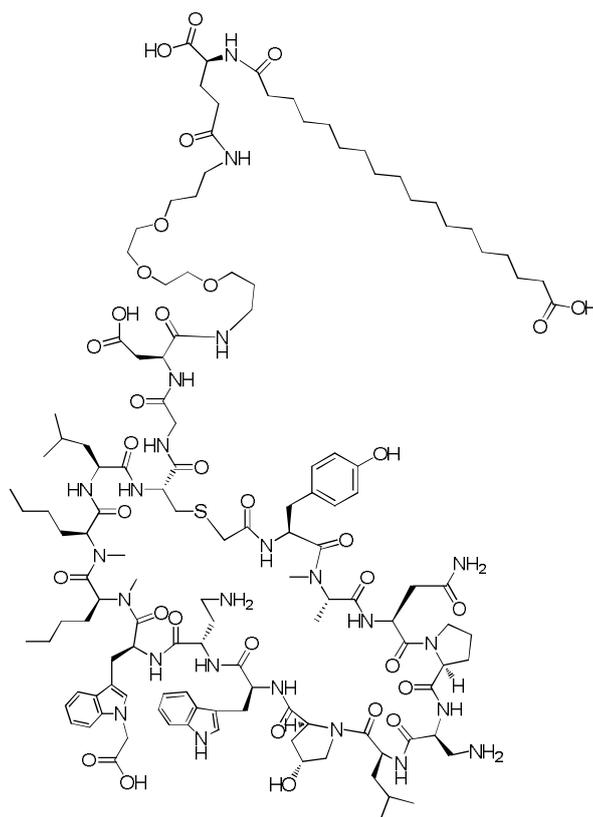
El Ejemplo 11164 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada U en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,668 min; IEN-EM(+) m/z 1347,2103 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11165



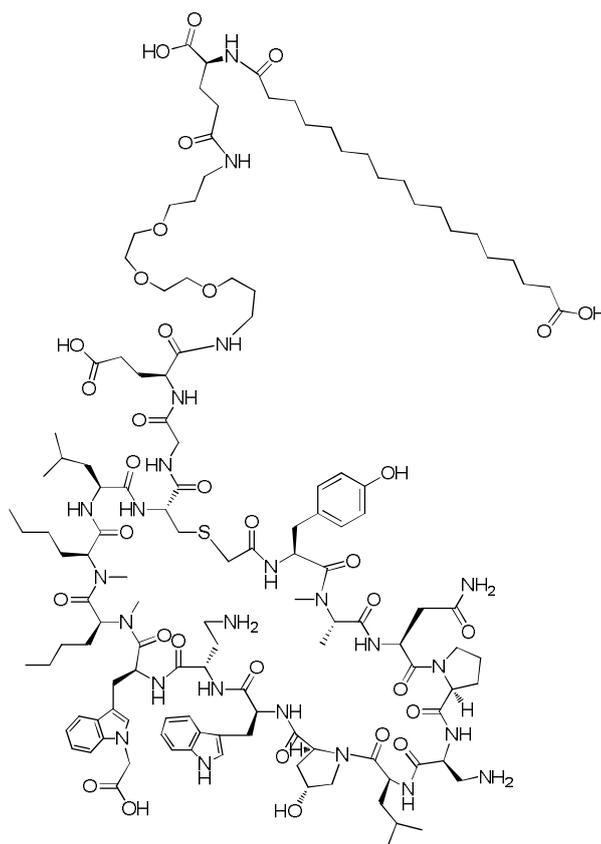
- El Ejemplo 11165 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada U en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 28 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,653 min; IEN-EM(+) m/z 1354,2194 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11166



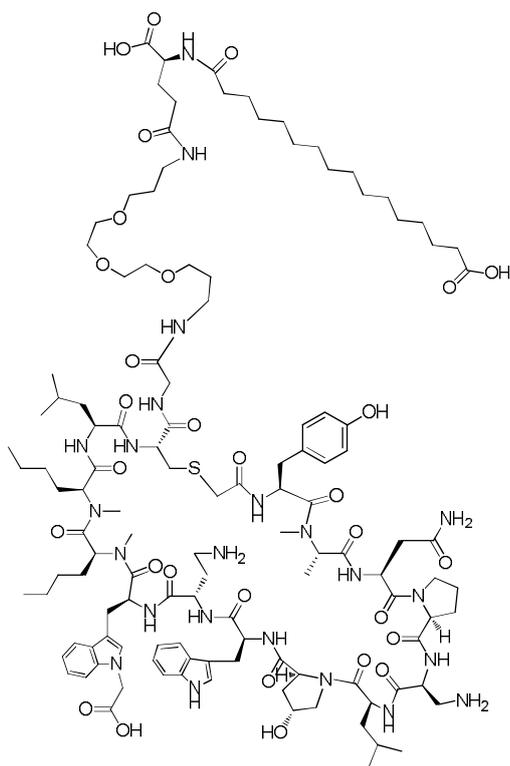
El Ejemplo 11166 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 93,1 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,690 min; IEN-EM(+) m/z 1316,2126 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11167



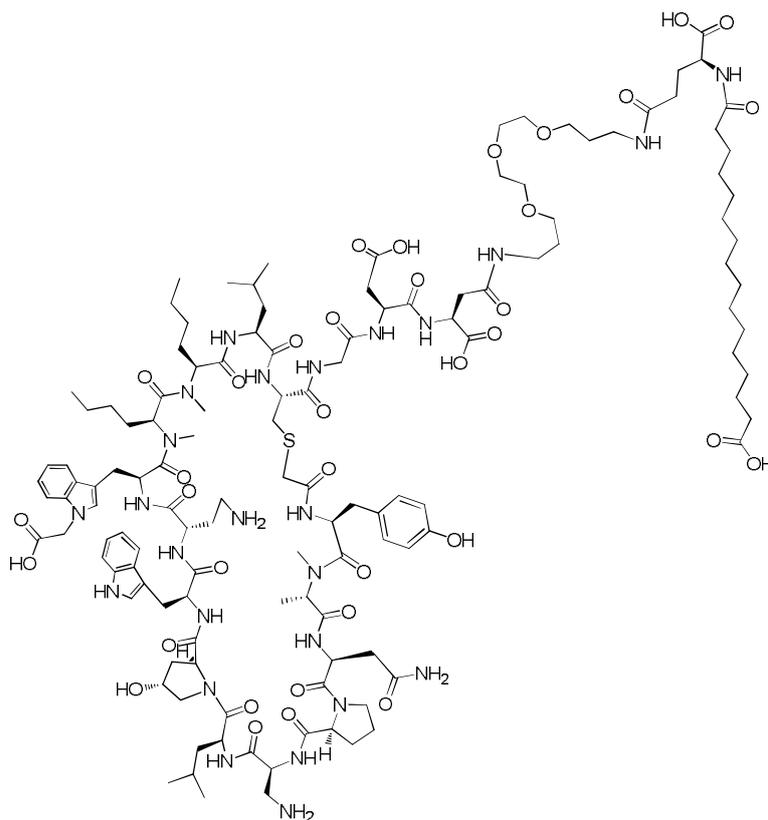
El Ejemplo 11167 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,811 min; IEN-EM(+) m/z 1323,2204 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11168



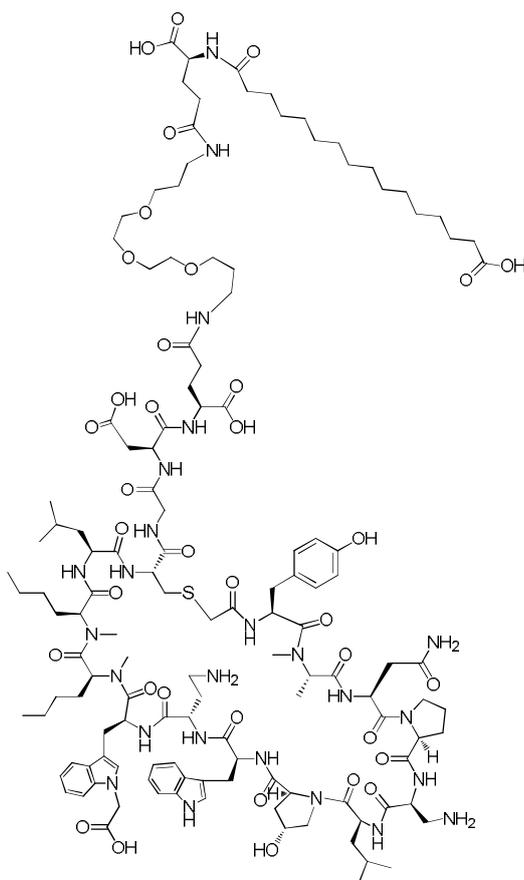
- El Ejemplo 11168 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 34 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,798 min; IEN-EM(+) m/z 1244,6830 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11169



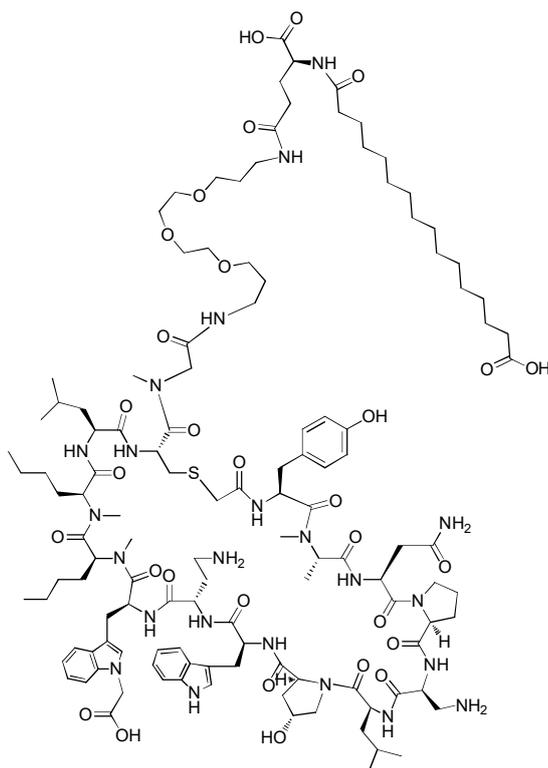
- El Ejemplo 11169 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,423 min; IEN-EM(+) m/z 1359,7108 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11170



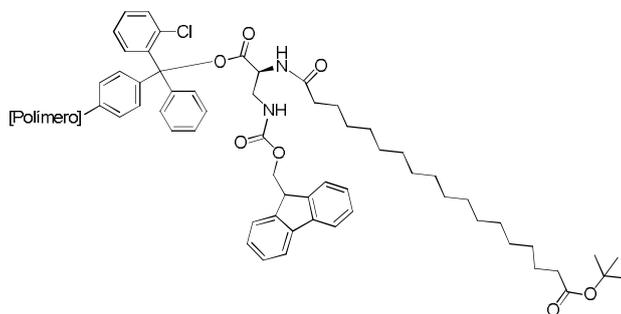
El Ejemplo 11170 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 32 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,426 min; IEN-EM(+) m/z 1366,7180 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11171



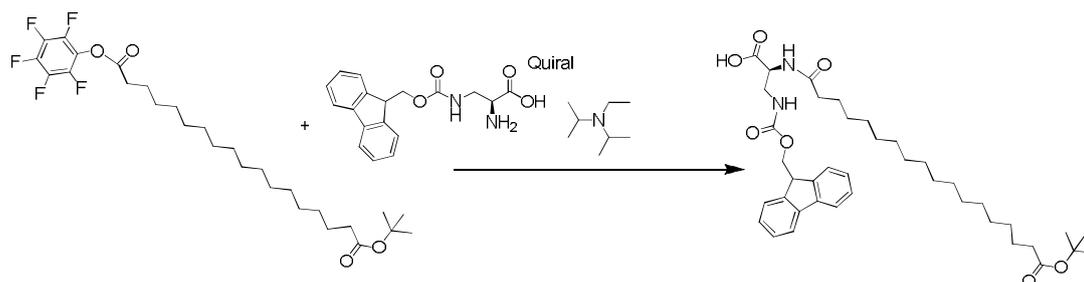
El Ejemplo 11171 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 35 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,001 min; IEN-EM(+) m/z 1251,6929 (M+2H).

Preparación de resina de cloruro de clorotritilo modificada W



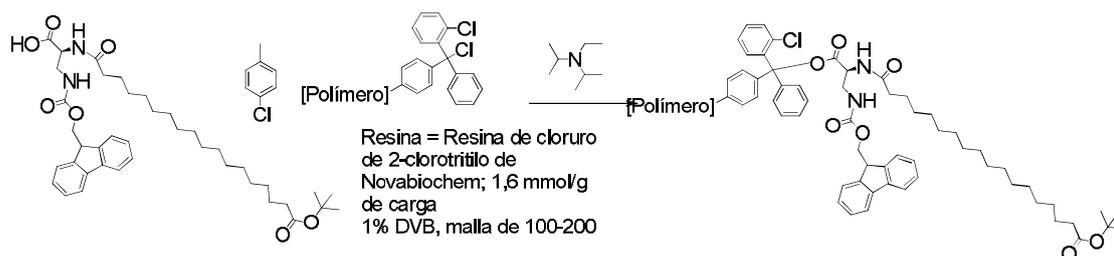
20

Etapas 1:



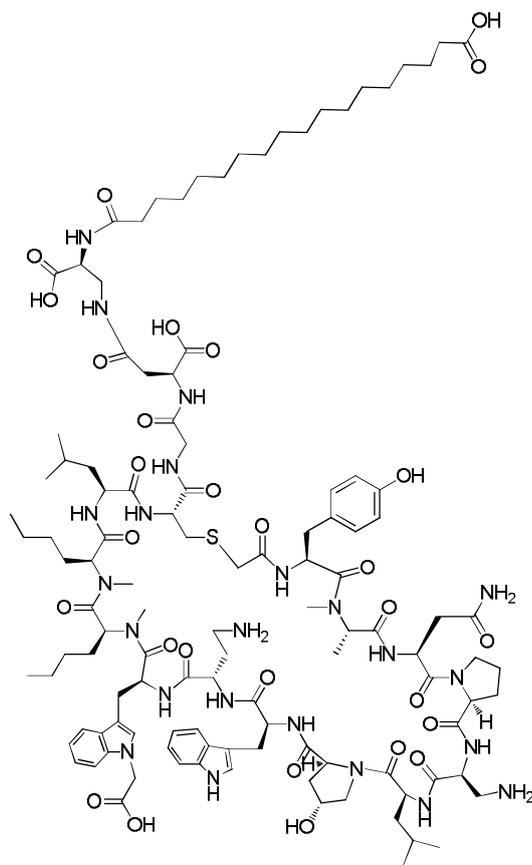
5 A un matraz de fondo redondo de 50 ml, se le añadieron ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-aminopropanoico, HCl (500 mg, 1,378 mmol), N,N-dimetilformamida (12 ml), 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*terc*-butilo (1109 mg, 2,067 mmol) y base de Hunig (0,963 ml, 5,51 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior, se mantuvo en una atmósfera de nitrógeno y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El día siguiente, la reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ 3x. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice, que se eluyó con 100 % de CH₂Cl₂, después 5 % de MeOH en 95 % de CH₂Cl₂. Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron al vacío para obtener ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)propanoico (774 mg, 1,140 mmol, 83 % de rendimiento). Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,698 min; IEN-EM(-) m/z 677,7 (M-H); RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,78 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,59 (d, J=7,5 Hz, 2H), 7,42 (t, J=7,4 Hz, 2H), 7,33 (t, J=7,2 Hz, 2H), 7,26 (d, J=5,0 Hz, 1H), 5,67 (s, 1H), 4,59 - 4,49 (m, 1H), 4,41 (d, J=7,0 Hz, 2H), 4,23 (t, J=7,2 Hz, 1H), 15 3,83 - 3,69 (m, 1H), 3,67 - 3,55 (m, 1H), 2,32 - 2,16 (m, 4H), 1,70 - 1,53 (m, 4H), 1,46 (s, 9H), 1,36 - 1,17 (m, 24H).

Etapa 2:



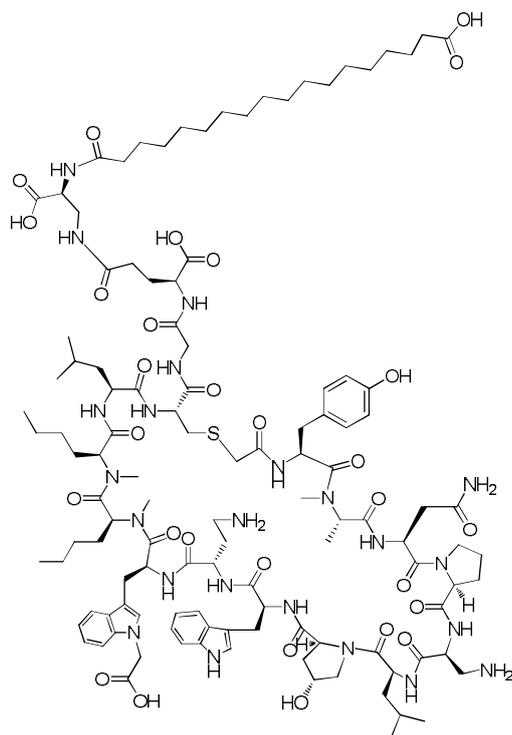
20 A un recipiente de péptidos se le añadieron resina de 2-clorotrieto (2280 mg, 3,65 mmol), ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)propanoico (774 mg, 1,140 mmol), CH₂Cl₂ (16 ml), 1-cloro-4-metilbenceno (43,3 mg, 0,342 mmol) y N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (1,390 ml, 7,98 mmol). El recipiente se cerró herméticamente y se agitó en un agitador Wrist Action durante 30 min. La reacción estaba completa al analizar la CL/EM y comparar la relación del estándar interno 1-cloro-4-metilbenceno (43,3 mg, 0,342 mmol) en comparación con el ácido de inicio. La resina después se diluyó con 20 ml de una solución 9:1 de metanol/base de Hunig, se filtró rápidamente y se lavó con DMF 3x, con CH₂Cl₂ 3x y finalmente con dietiléter. La resina se secó al vacío y se usó en el estado en el cual se encontraba con una carga asumida de 0,5 meq/g para la síntesis de las proteínas deseadas.

30 *Preparación del Ejemplo 11172*



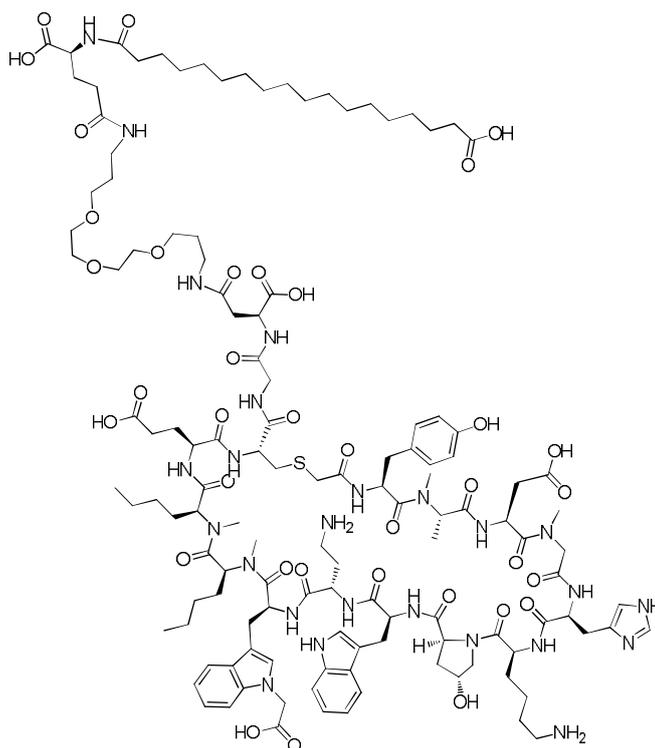
El Ejemplo 11172 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 93,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,218 min; IEN-EM(+) m/z 1193,6278 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11173



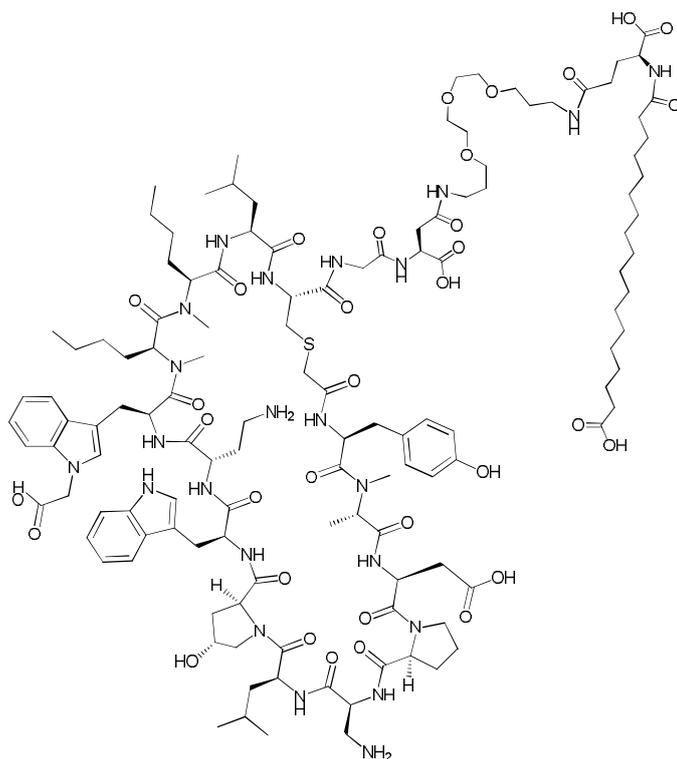
- El Ejemplo 11173 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 35 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,218 min; IEN-EM(+) m/z 1200,6358 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11174



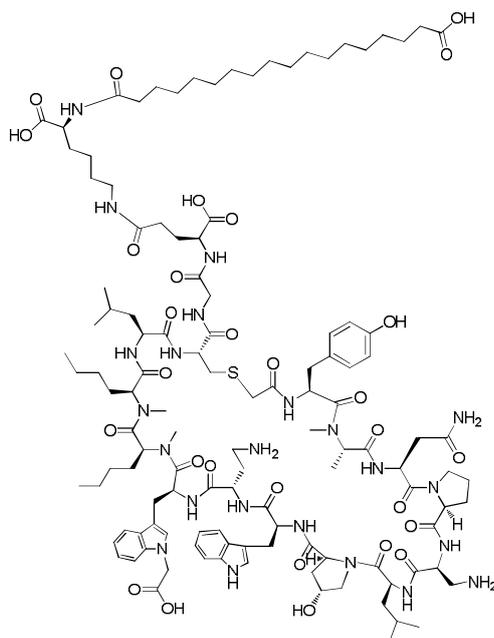
El Ejemplo 11174 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,3 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,303 min; IEN-EM(+) m/z 1344,6838 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11175



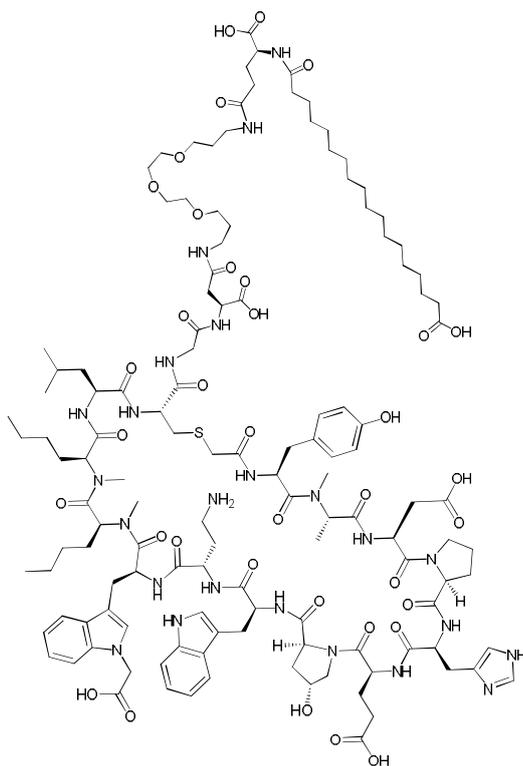
- El Ejemplo 11175 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 19 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,71 min; IEN-EM(+) m/z 1316,7013 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11176



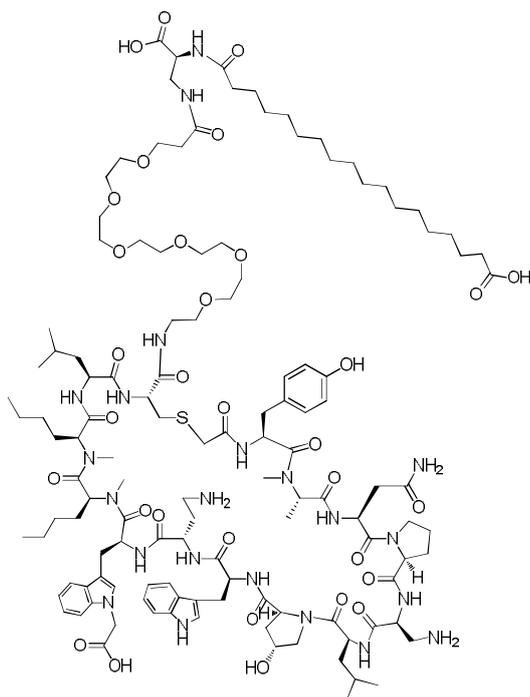
- El Ejemplo 11177 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada S en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,6 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,010 min; IEN-EM(+) m/z 1221,6584 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11178



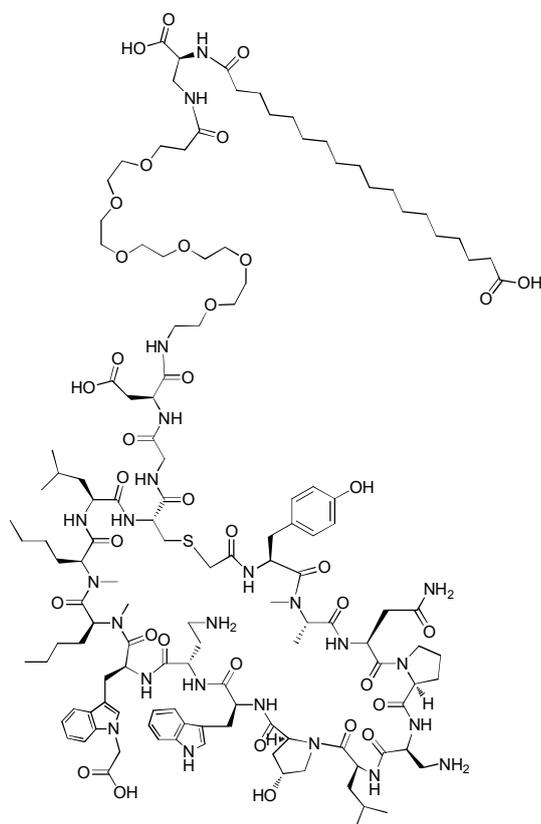
- El Ejemplo 11179 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada M en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 30 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,928 min; IEN-EM(+) m/z 1350,1861 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11180



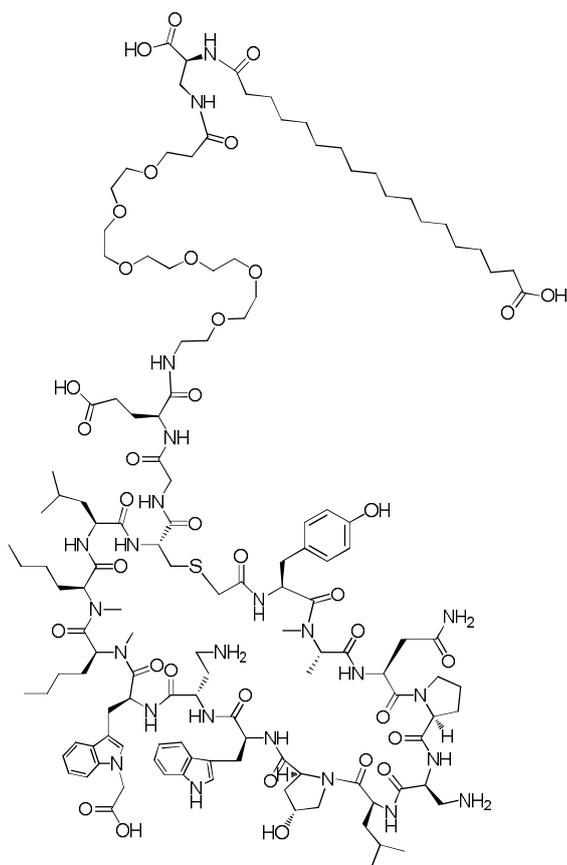
- El Ejemplo 11180 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 40 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,7 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,750 min; IEN-EM(+) m/z 1275,2005 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11181



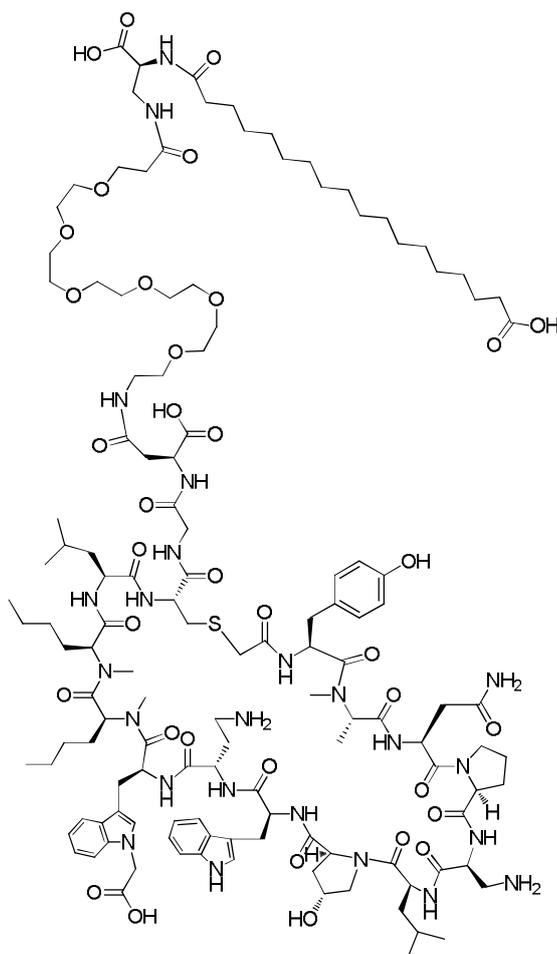
- El Ejemplo 11181 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,8 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,383 min; IEN-EM(+) m/z 1361,2253 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11182



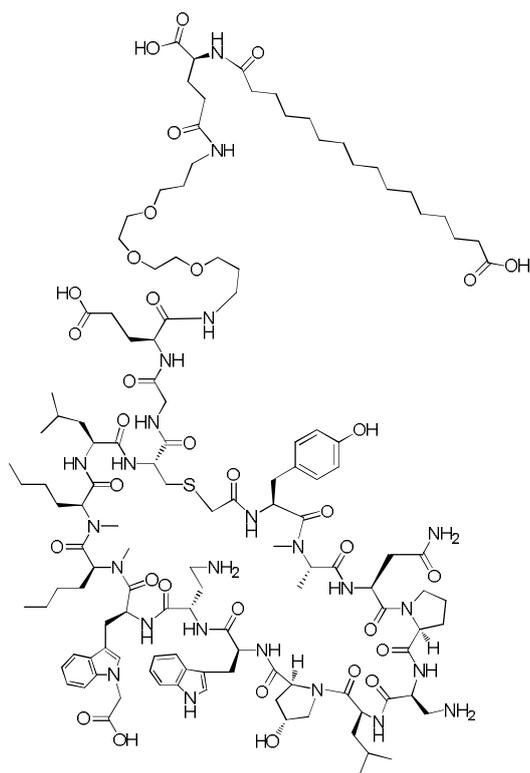
El Ejemplo 11182 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94,9 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,000 min.

Preparación del Ejemplo 11183



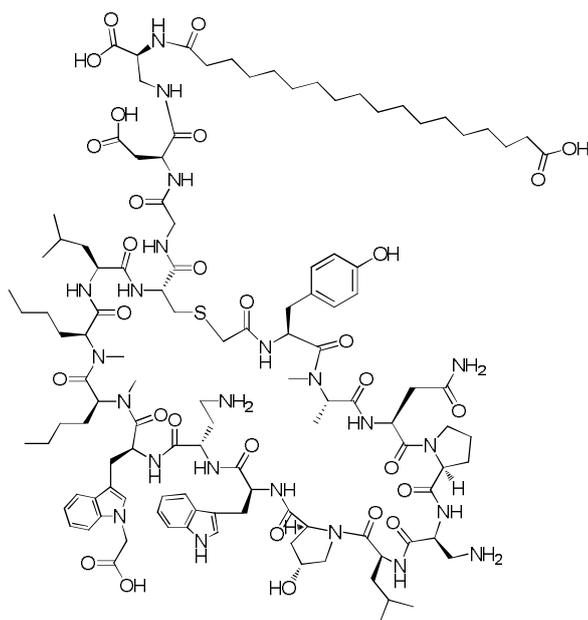
- El Ejemplo 11183 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,0 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,933 min.

Preparación del Ejemplo 11184



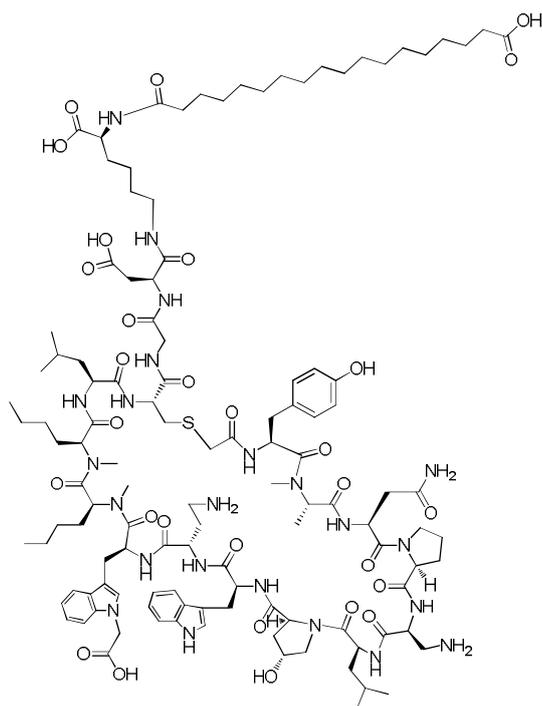
El Ejemplo 11184 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada V en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96,0 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,803 min.

Preparación del Ejemplo 11185



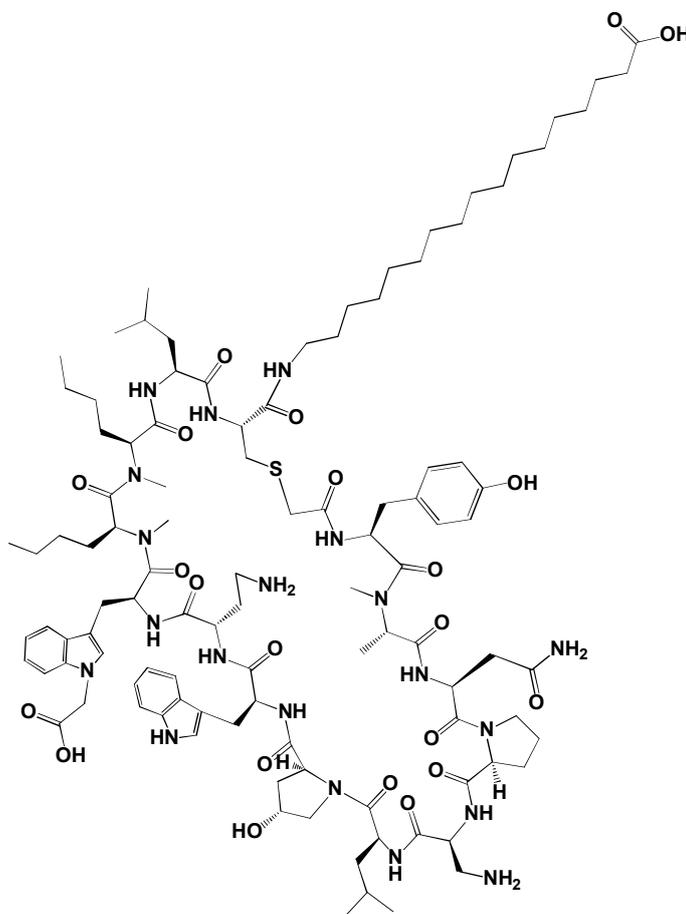
El Ejemplo 11185 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94,5 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,056 min.

Preparación del Ejemplo 11186



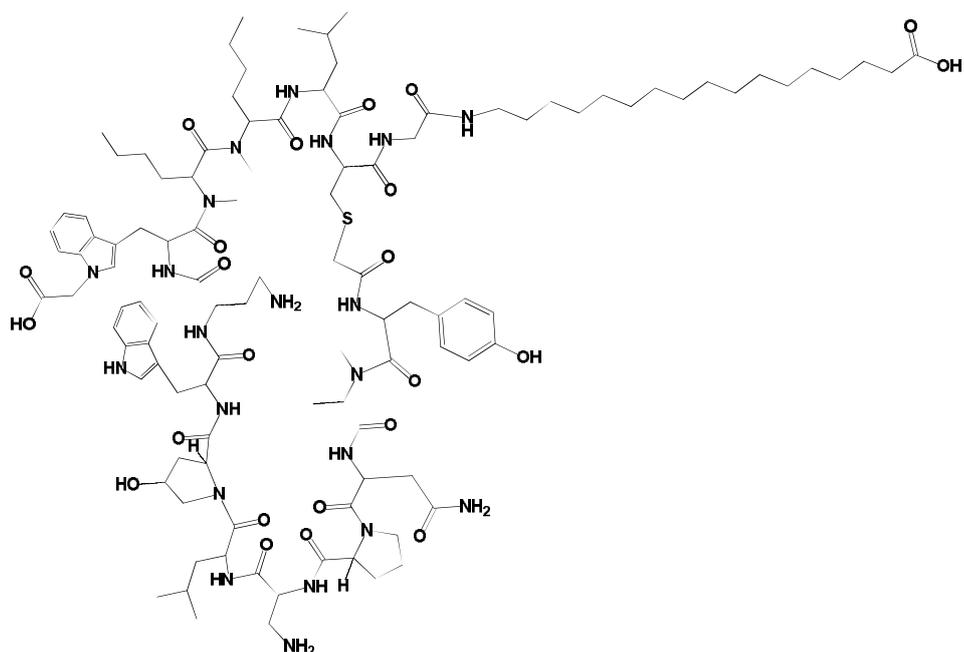
El Ejemplo 11186 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada S en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 30 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,163 min.

15 Preparación del Ejemplo 11187



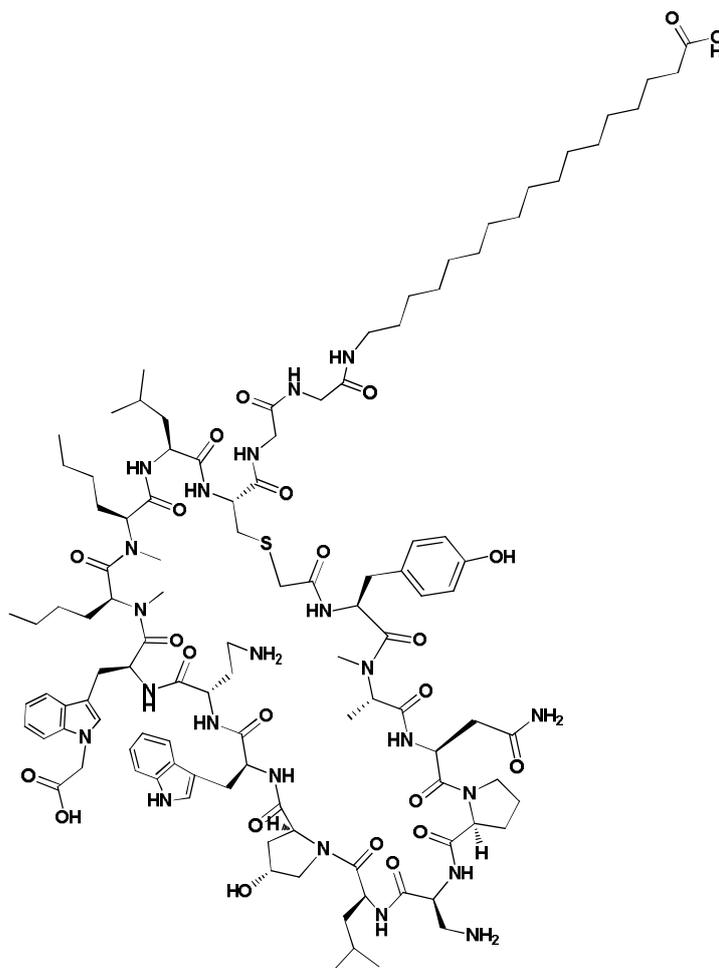
El Ejemplo 11187 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición C del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,01 min; IEN-EM(+) m/z 1050,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1050,0926 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11188



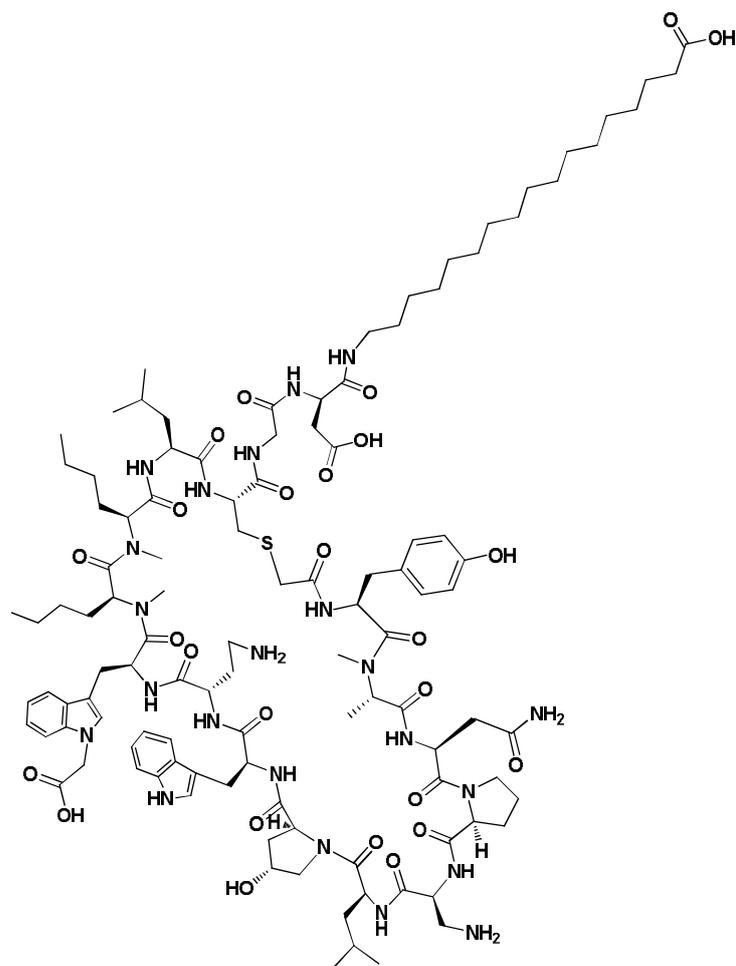
- El Ejemplo 11188 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,12 min; IEN-EM(+) m/z 1078,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1078,6024 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11189



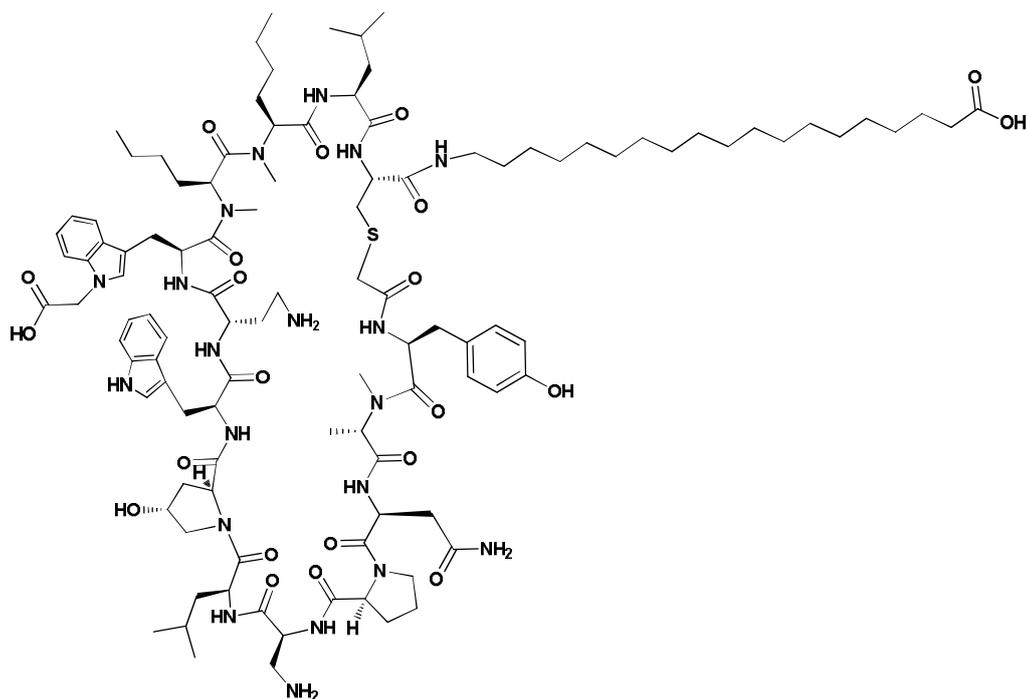
El Ejemplo 11189 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: waters CSH C-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 20-60 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,06 min; IEN-EM(+) m/z 1107,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1107,1154 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11190



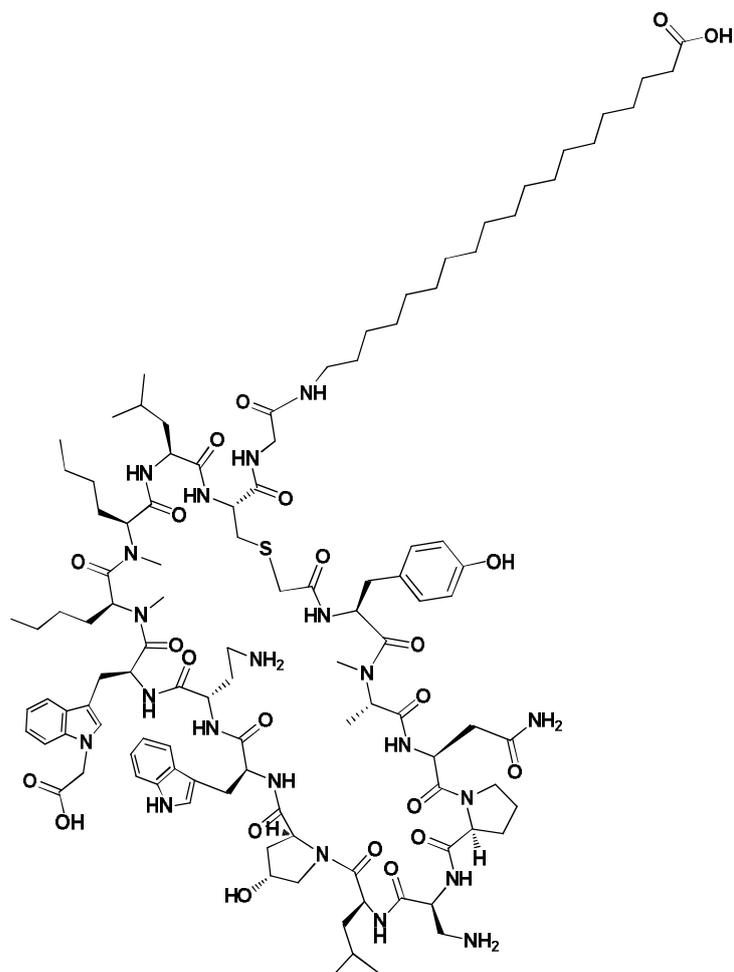
- El Ejemplo 11190 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada A en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ;
- 5
- 10 fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 10,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %.
- 15 Condición C del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,46 min; IEN-EM(+) m/z 1136,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1136,1179 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11191



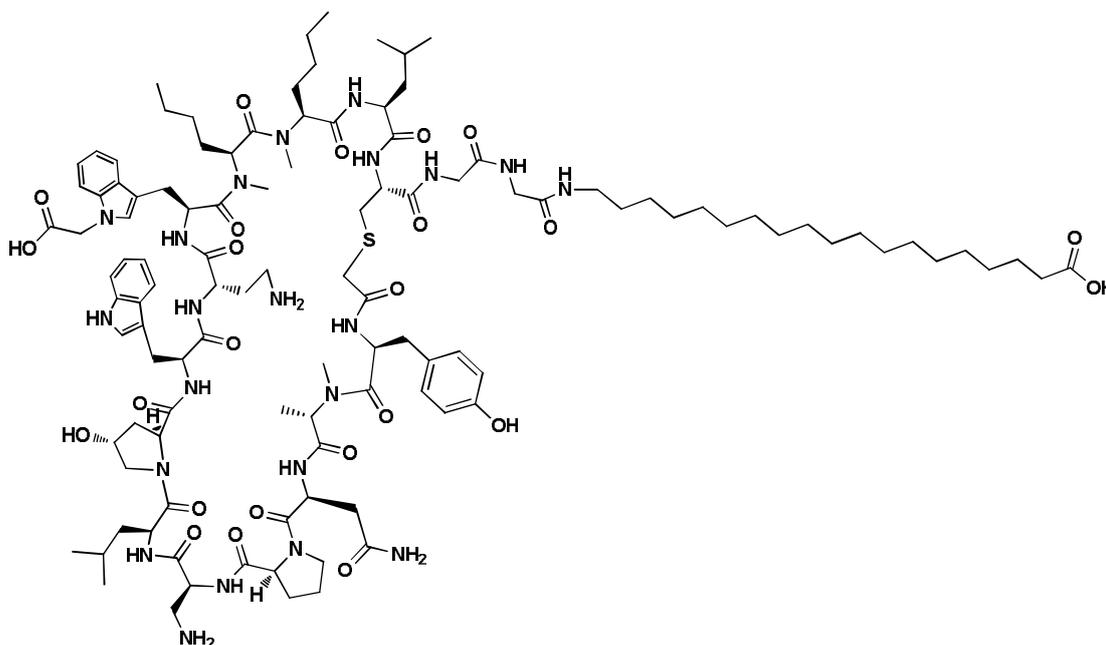
- El Ejemplo 11191 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,54 min; IEN-EM(+) m/z 1064,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1064,1084 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11192



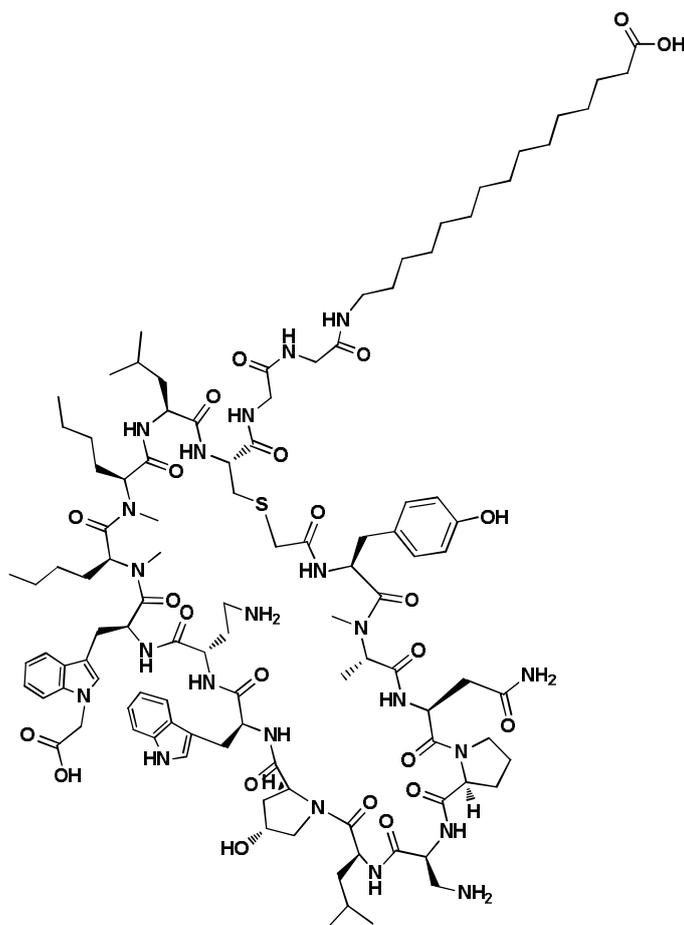
El Ejemplo 11192 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-85 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,08 min; IEN-EM(+) m/z 1092,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1092,6200 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11193



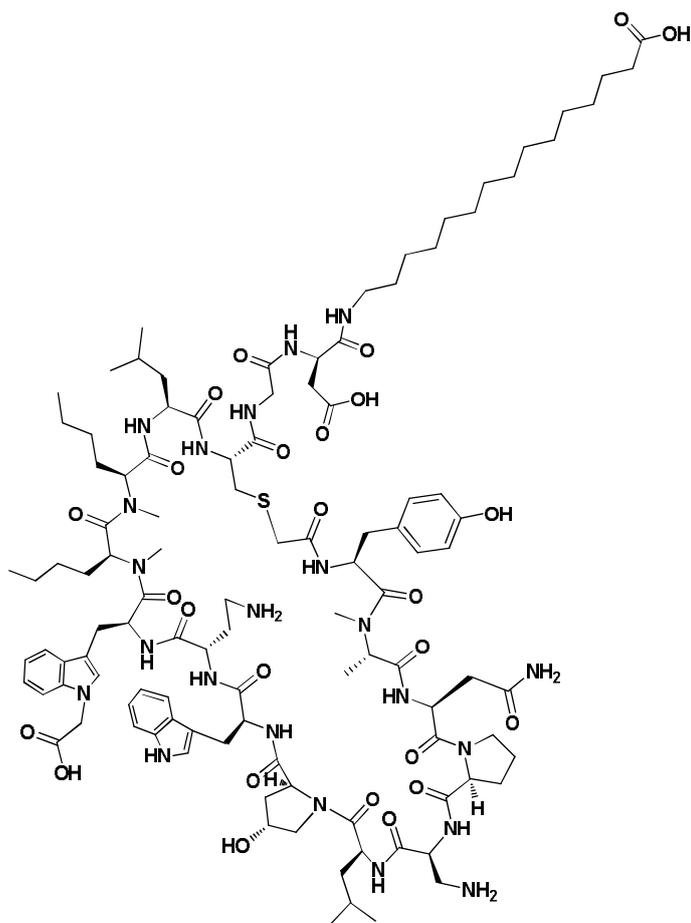
- El Ejemplo 11205 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada B en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ;
- 5
- 10 fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 5,14 min; IEN-EM(+) m/z 1121,4
- 15 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1121,1305 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11194



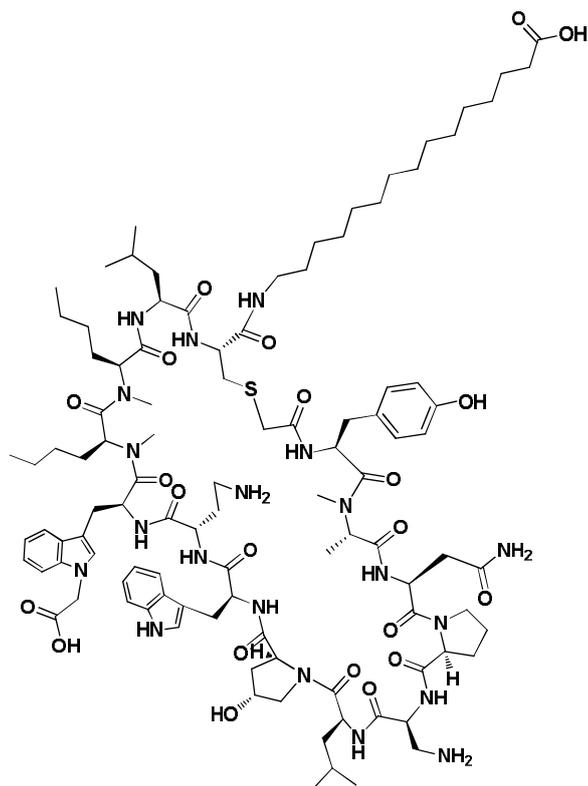
- El Ejemplo 11194 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,80 min; IEN-EM(+) m/z 1093,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1093,0963 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11195



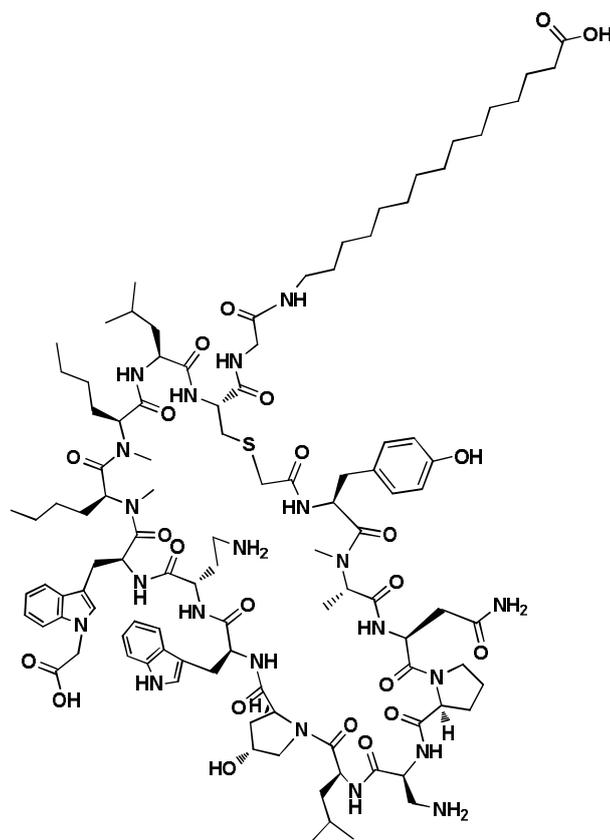
- El Ejemplo 11195 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,82 min; IEN-EM(+) m/z 1122,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1122,0992 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11196



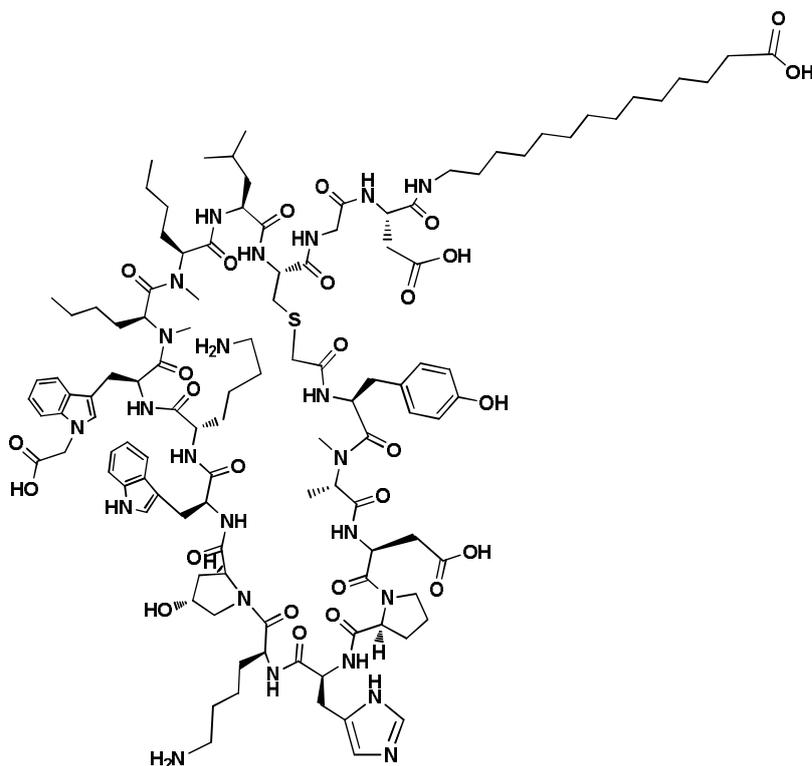
- El Ejemplo 11196 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,84 min; IEN-EM(+) m/z 1036,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1036,0766 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11197



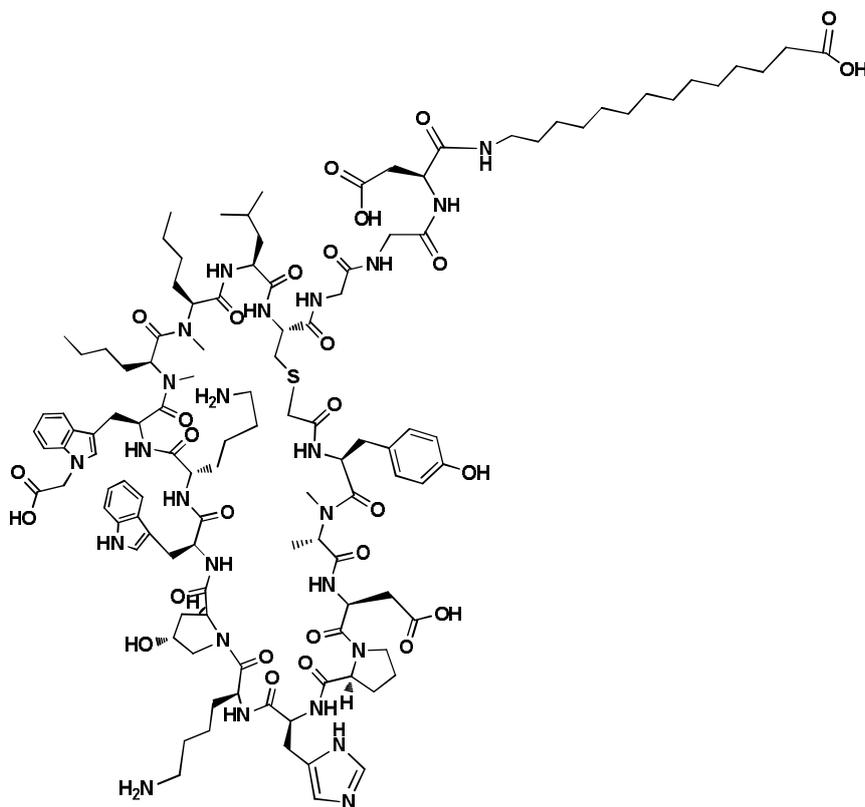
El Ejemplo 11197 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada C en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,73 min; IEN-EM(+) m/z 1064,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1064,5886 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11198



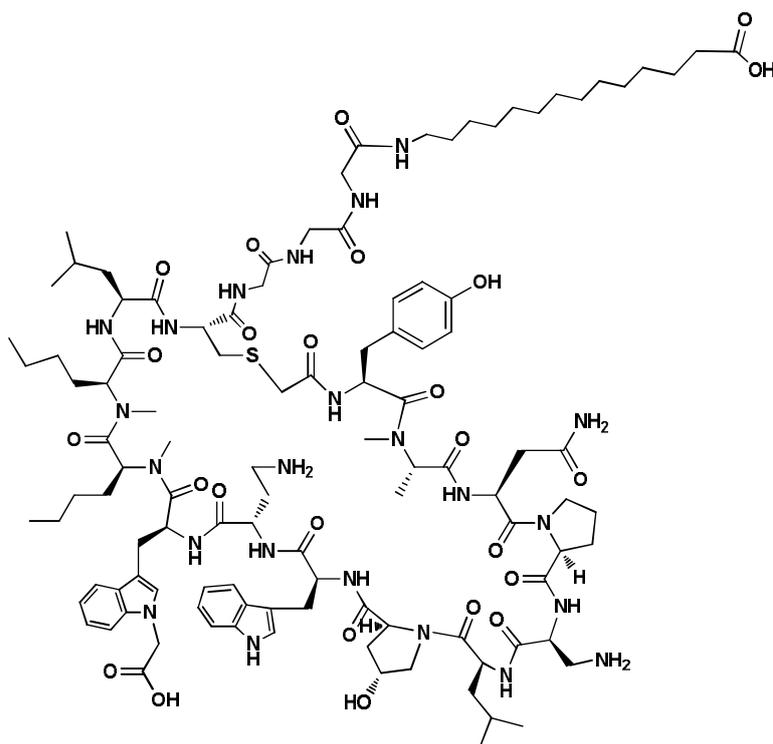
El Ejemplo 11198 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,25 min; IEN-EM(+) m/z 1162,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1162,6110 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11199



- El Ejemplo 11200 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-85 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 20,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,22 min; IEN-EM(+) m/z 1191,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1191,1218 (M+2H).

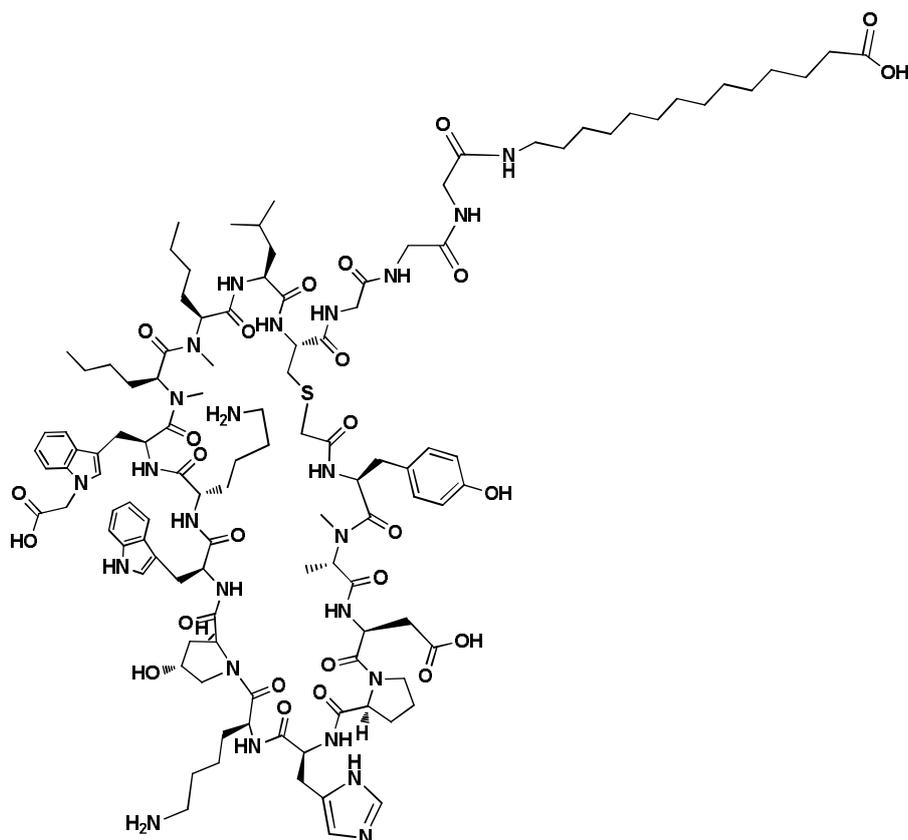
Preparación del Ejemplo 11201



El Ejemplo 11202 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min.

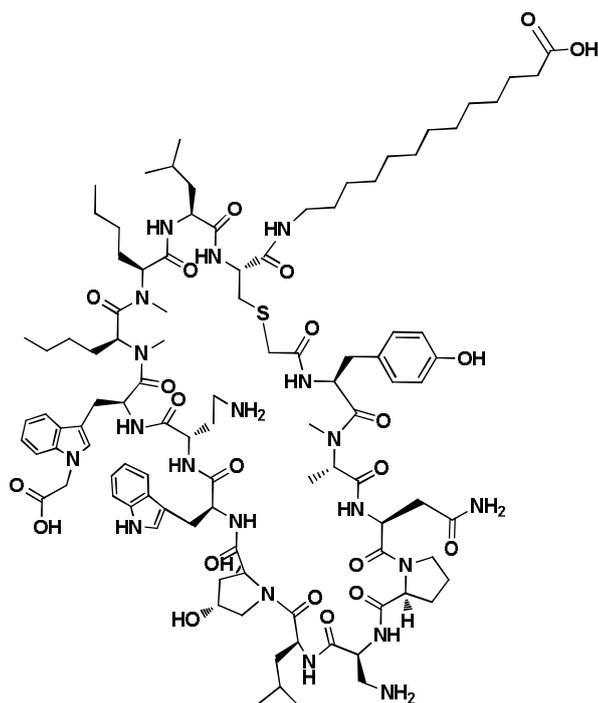
Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,57 min; IEN-EM(+) m/z 1114,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1114,6003 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11203



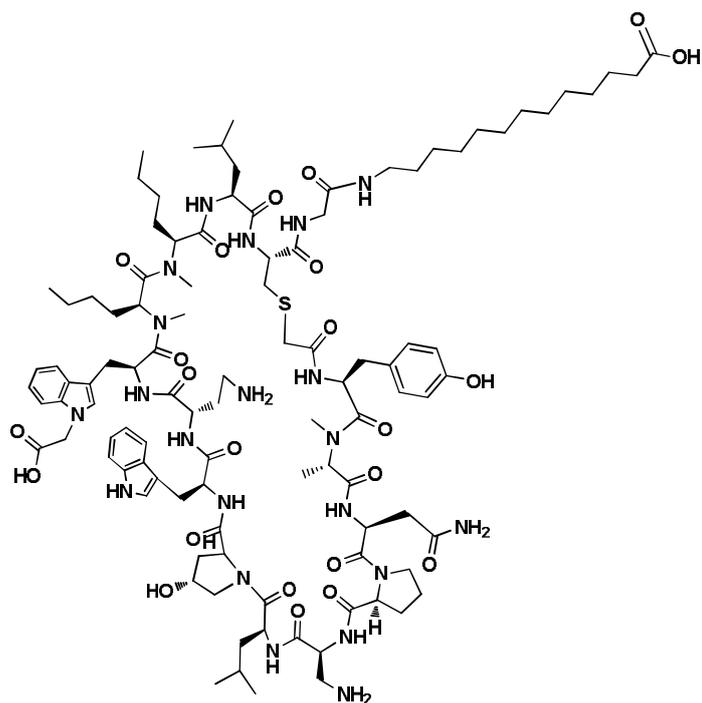
El Ejemplo 11203 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada D en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-85 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 19 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,44 min; IEN-EM(+) m/z 1162,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1162,1192 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11204



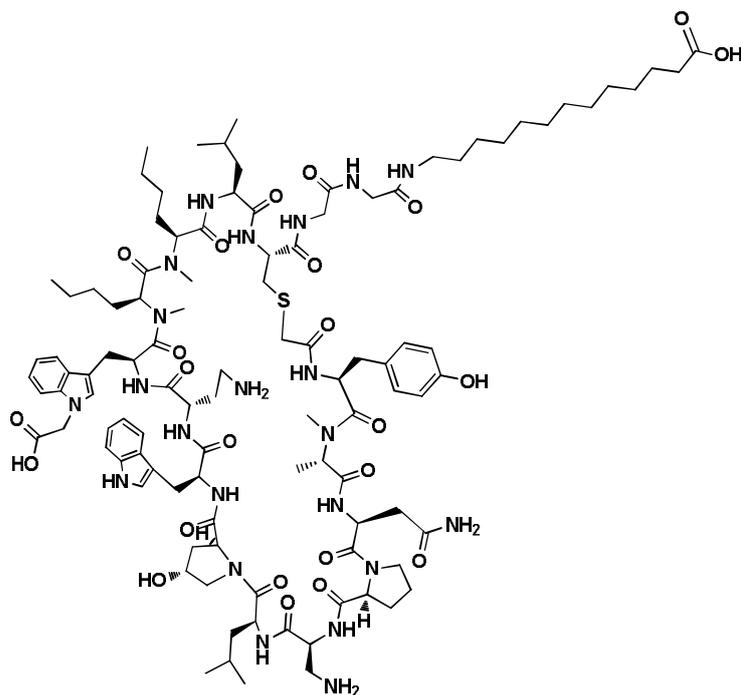
El Ejemplo 11204 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 20-60 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,94 min; IEN-EM(+) m/z 1022,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1022,0615 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11205



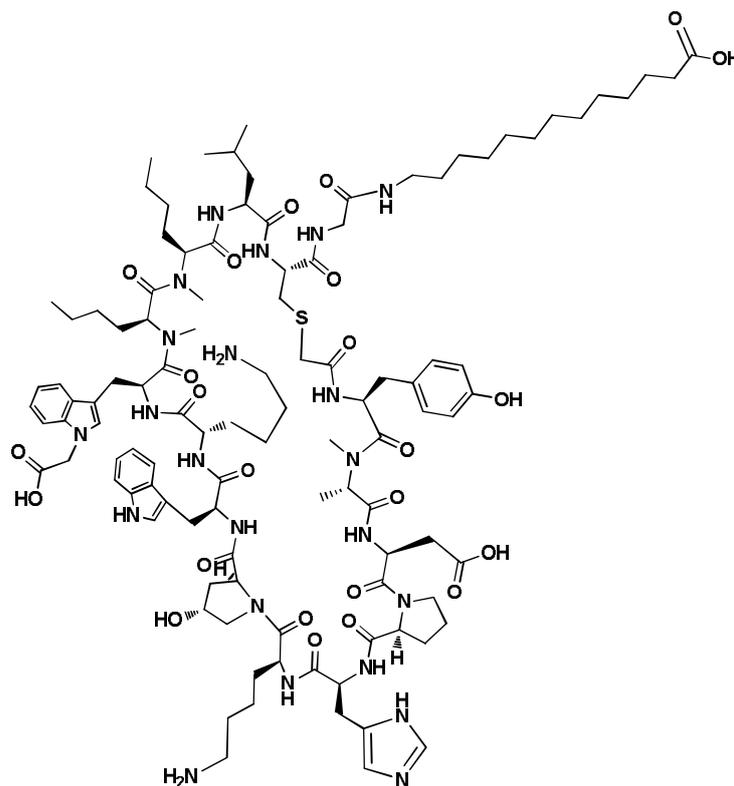
El Ejemplo 11205 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 20-60 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,87 min; IEN-EM(+) m/z 1050,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1050,5731 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11206



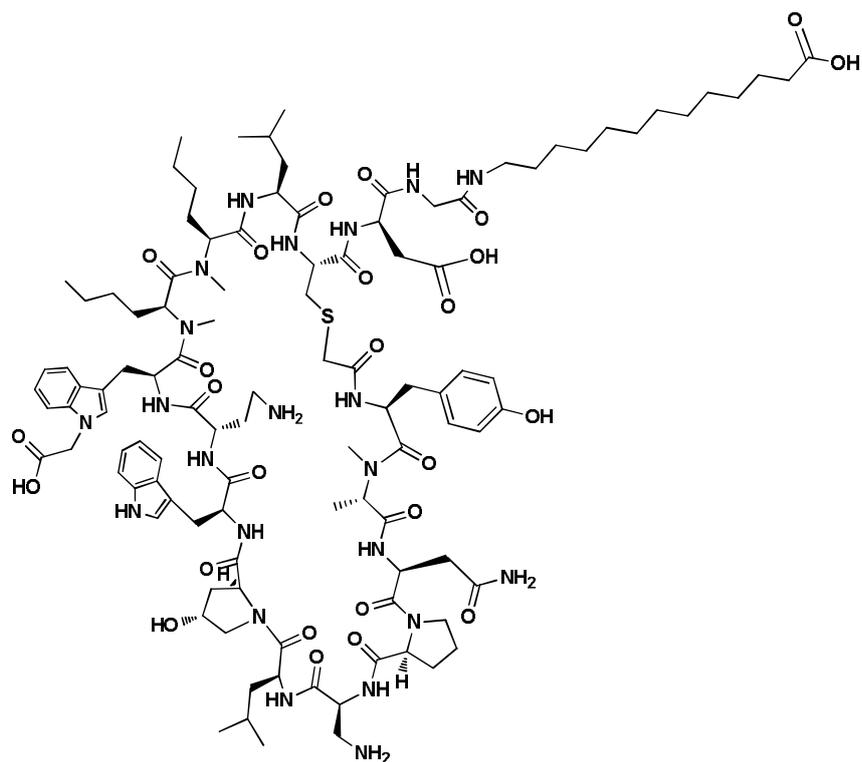
- El Ejemplo 11206 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,84 min; IEN-EM(+) m/z 1079,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1079,0823 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11207



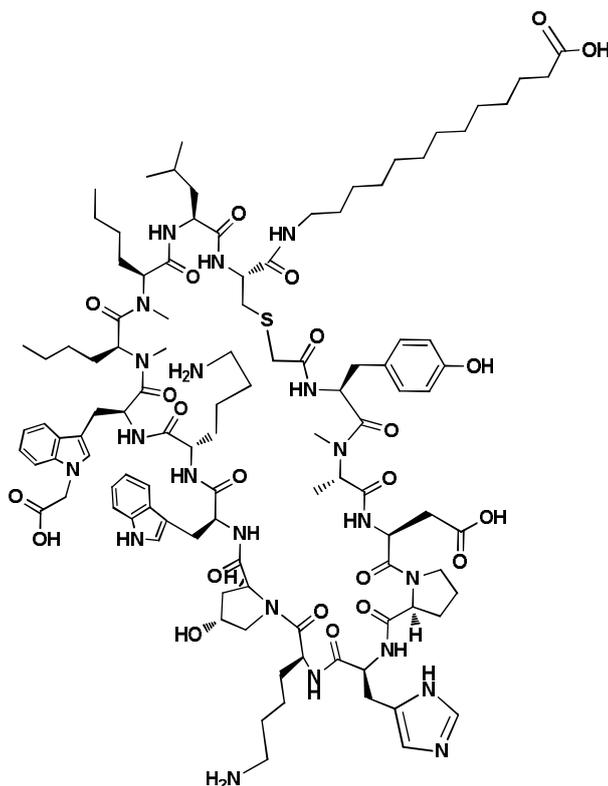
- El Ejemplo 11207 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,14 min; IEN-EM(+) m/z 1098,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1098,0917 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11208



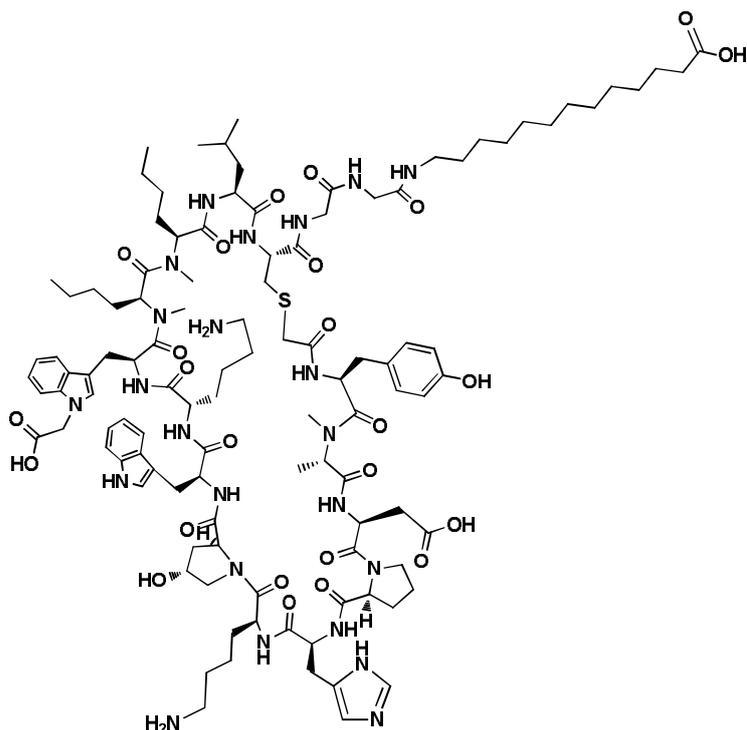
- El Ejemplo 11208 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ;
- 5 fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,41 min; IEN-EM(+) m/z 1108,5
- 10 15 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1108,0856 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11209



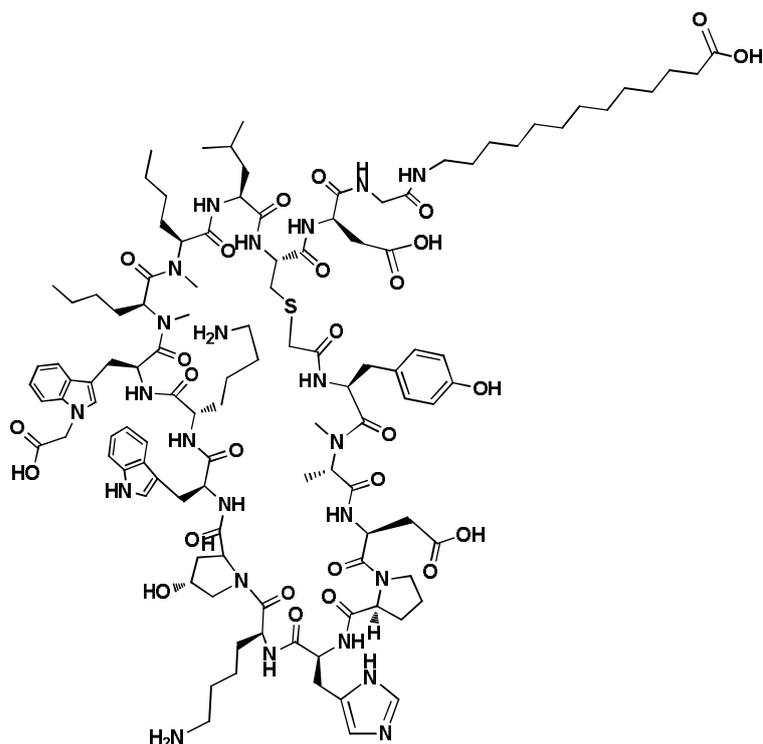
- El Ejemplo 11209 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición D del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,83 min; IEN-EM(+) m/z 1070,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1069,5802 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11210



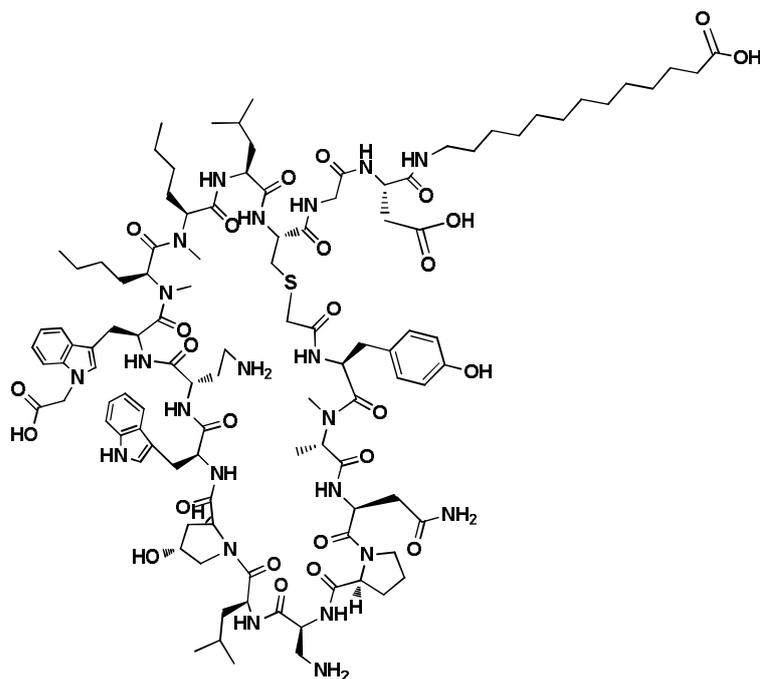
- El Ejemplo 11210 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,96 min; IEN-EM(+) m/z 1126,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1126,6015 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11211



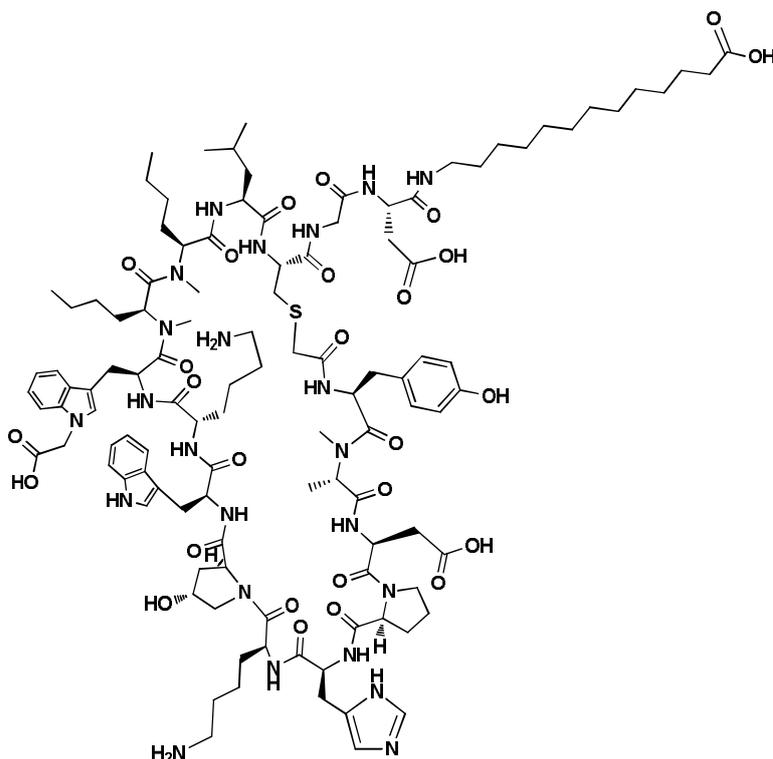
- El Ejemplo 11211 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición C del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 1,46 min; IEN-EM(+) m/z 1155,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1155,6043 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11212



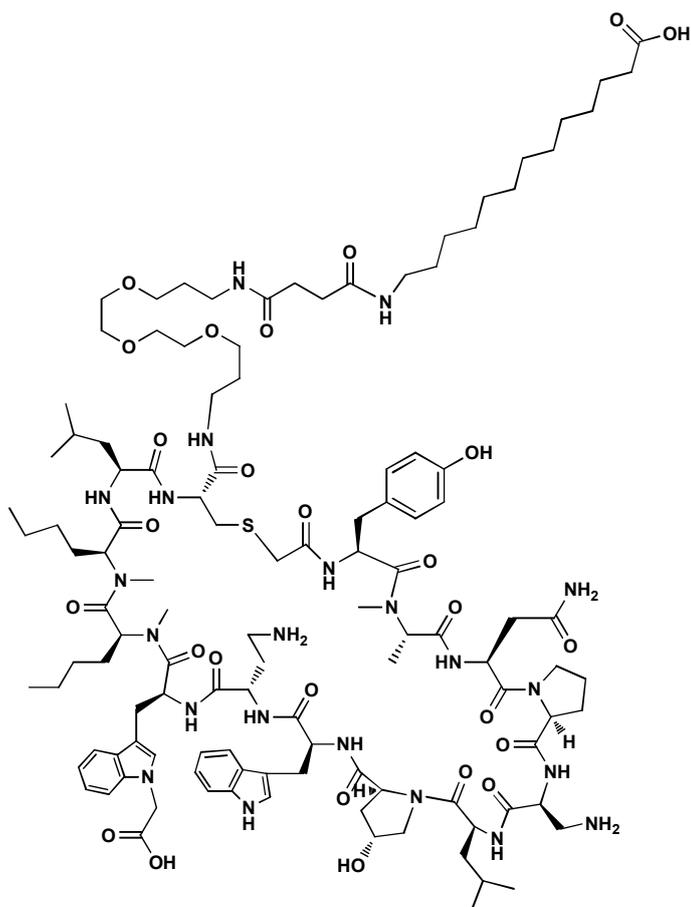
El Ejemplo 11212 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,97 min; IEN-EM(+) m/z 1108,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1108,0828 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11213



- El Ejemplo 11213 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,58 min; IEN-EM(+) m/z 1155,9 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1155,6020 (M+2H).

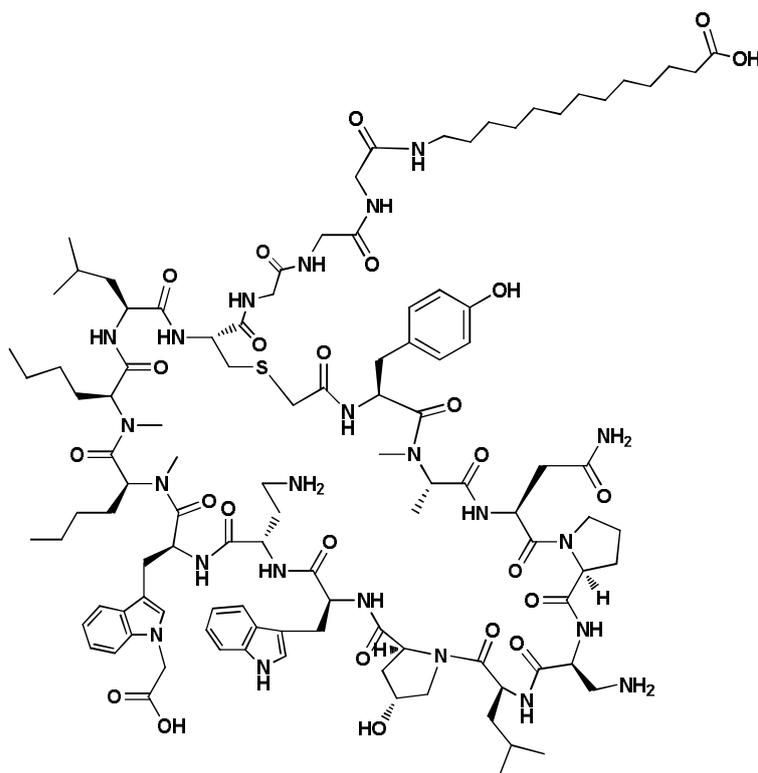
Preparación del Ejemplo 11214



El Ejemplo 11214 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.

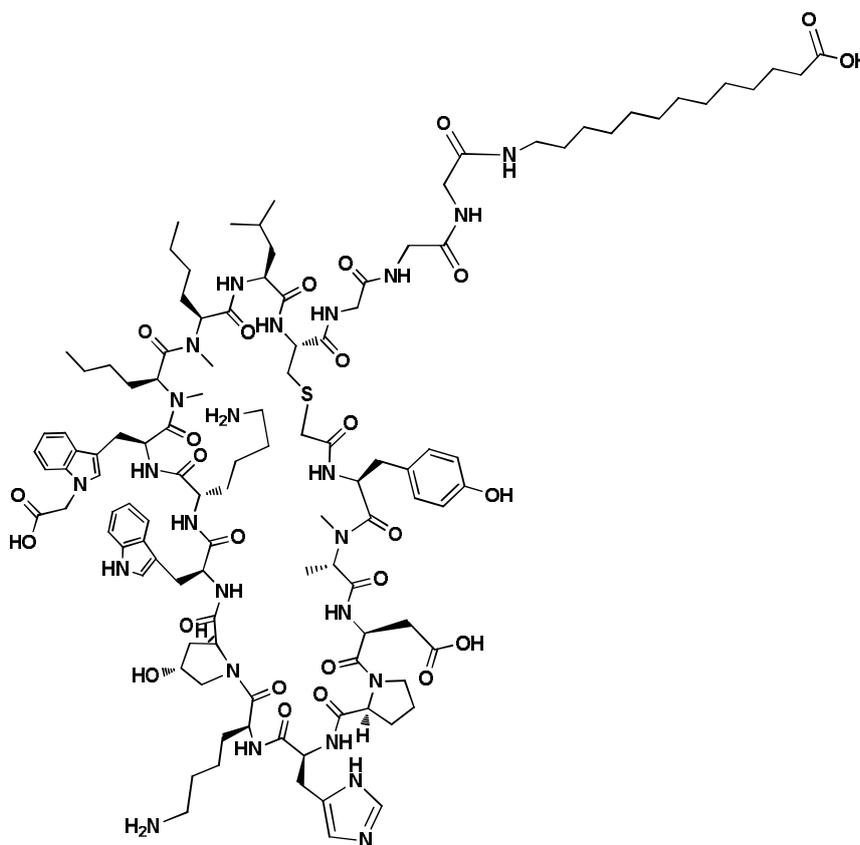
Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,34 min; IEN-EM(+) m/z 1173,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1173,1503 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11215



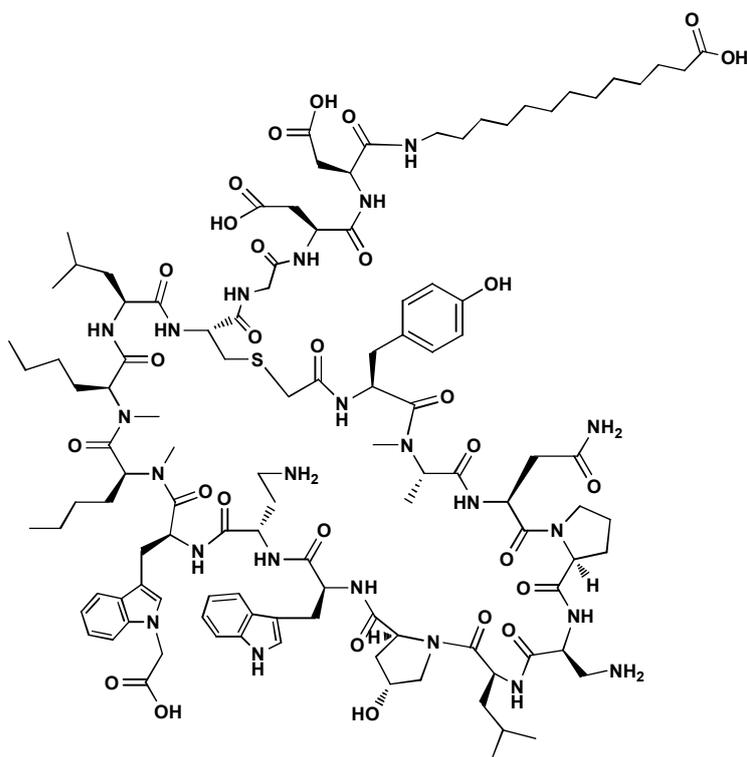
El Ejemplo 11215 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 13 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,02 min; IEN-EM(+) m/z 1108,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1107,5930 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11216



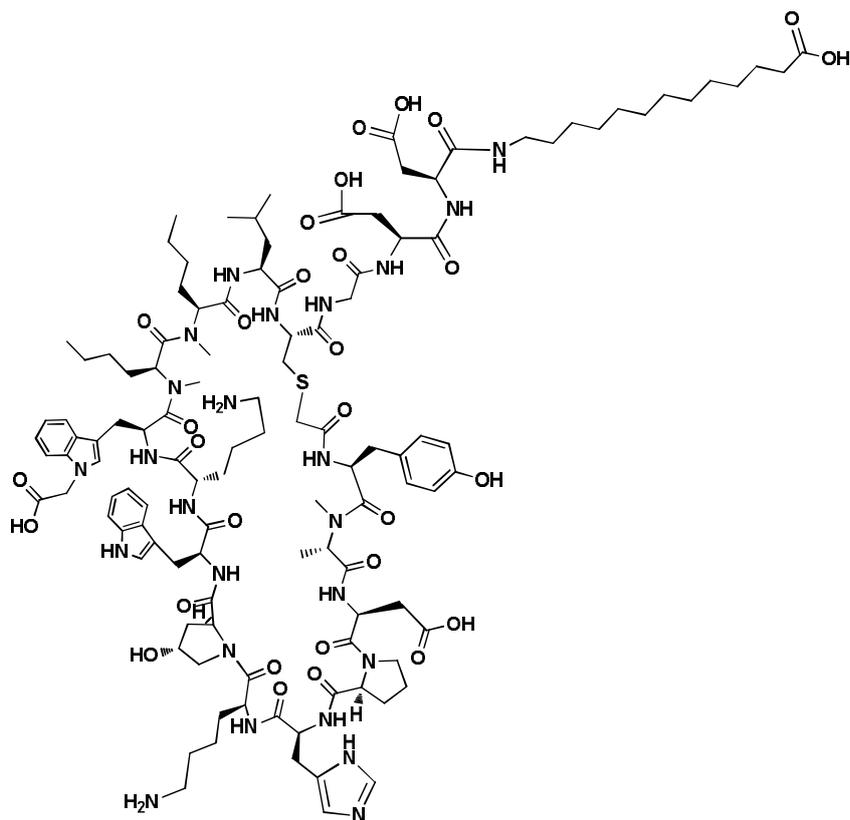
- El Ejemplo 11216 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,7mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,72 min; IEN-EM(+) m/z 1155,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1155,1126 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11217



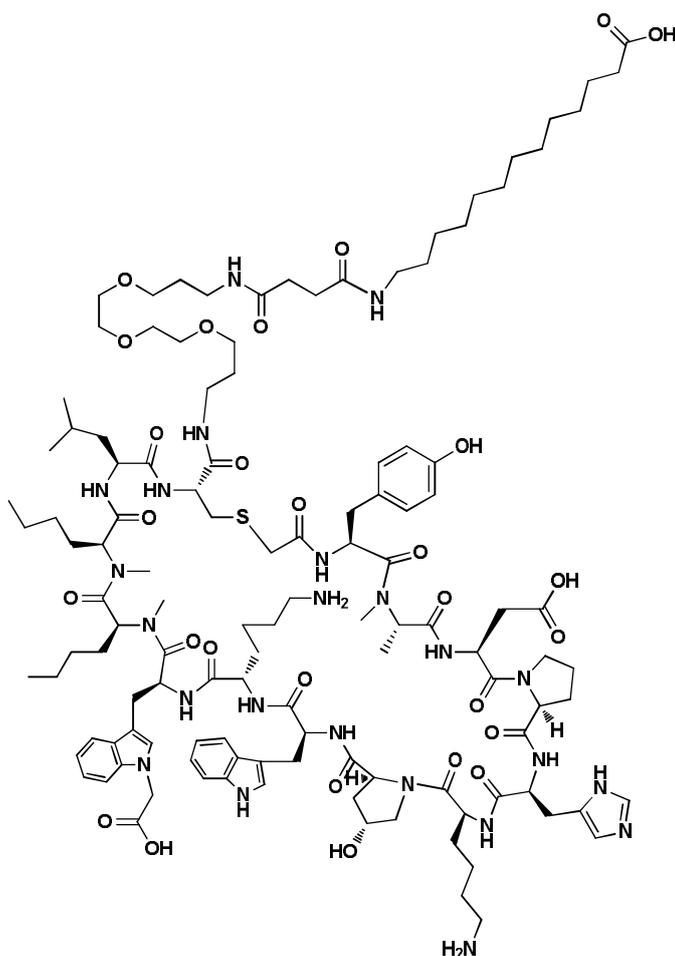
- El Ejemplo 11217 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,55 min; IEN-EM(+) m/z 1165,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1165,5995 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11218



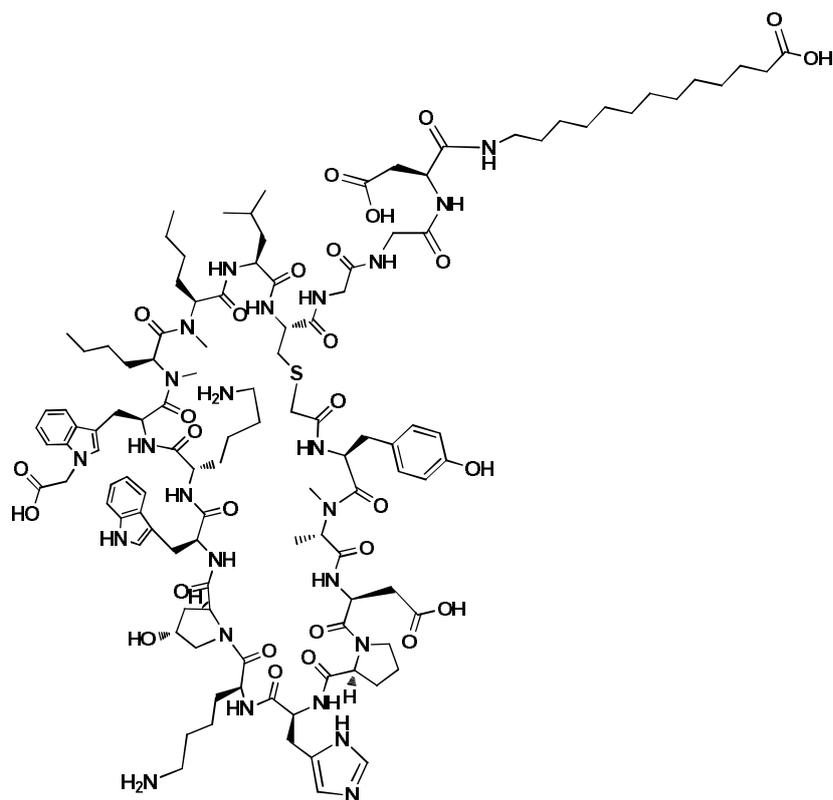
- El Ejemplo 11218 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,17 min; IEN-EM(+) m/z 1213,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1213,1169 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11219



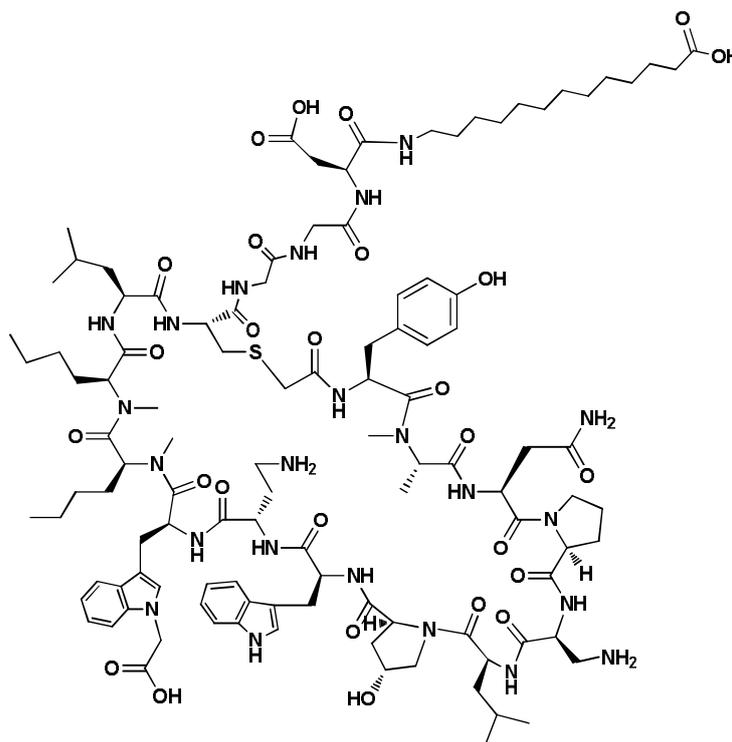
- El Ejemplo 11219 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,83 min; IEN-EM(+) m/z 1220,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1220,6713 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11220



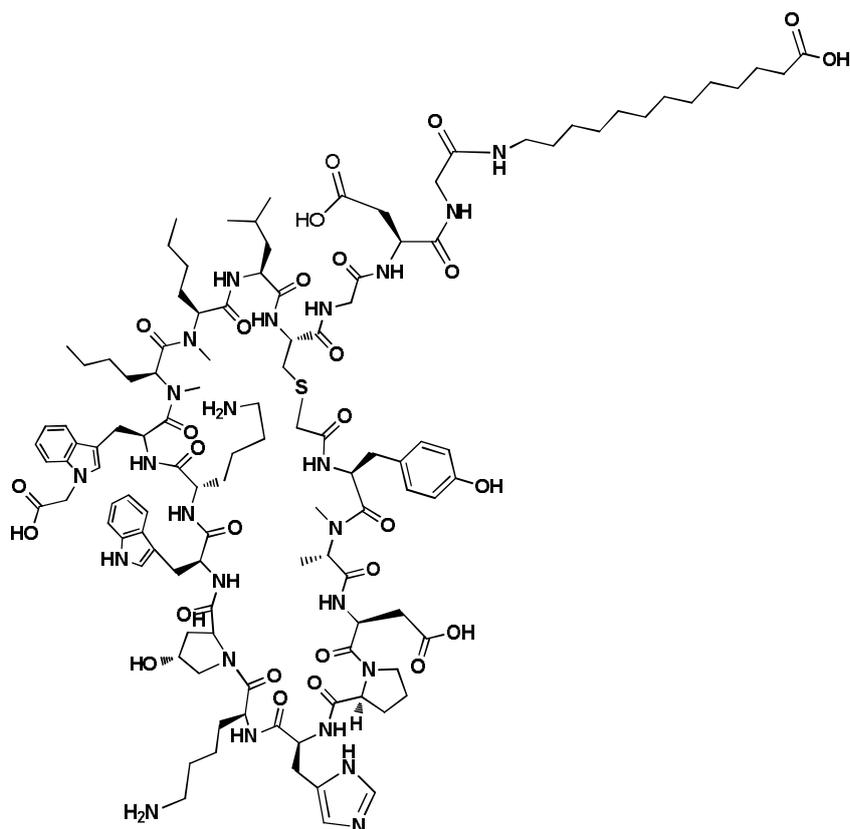
El Ejemplo 11220 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,49 min; IEN-EM(+) m/z 1184,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1184,1140 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11221



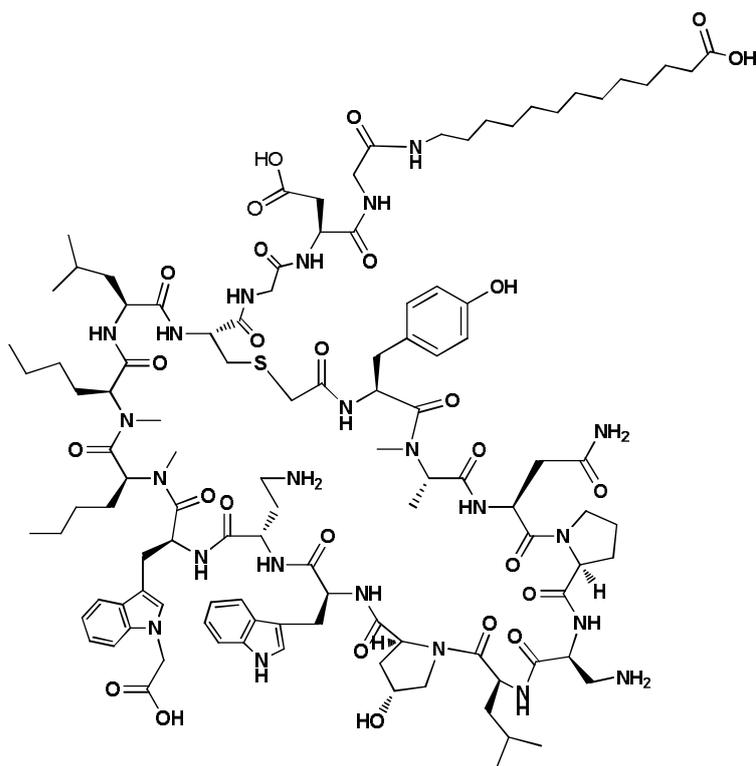
El Ejemplo 11221 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,79 min; IEN-EM(+) m/z 1136,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1136,5948 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11222



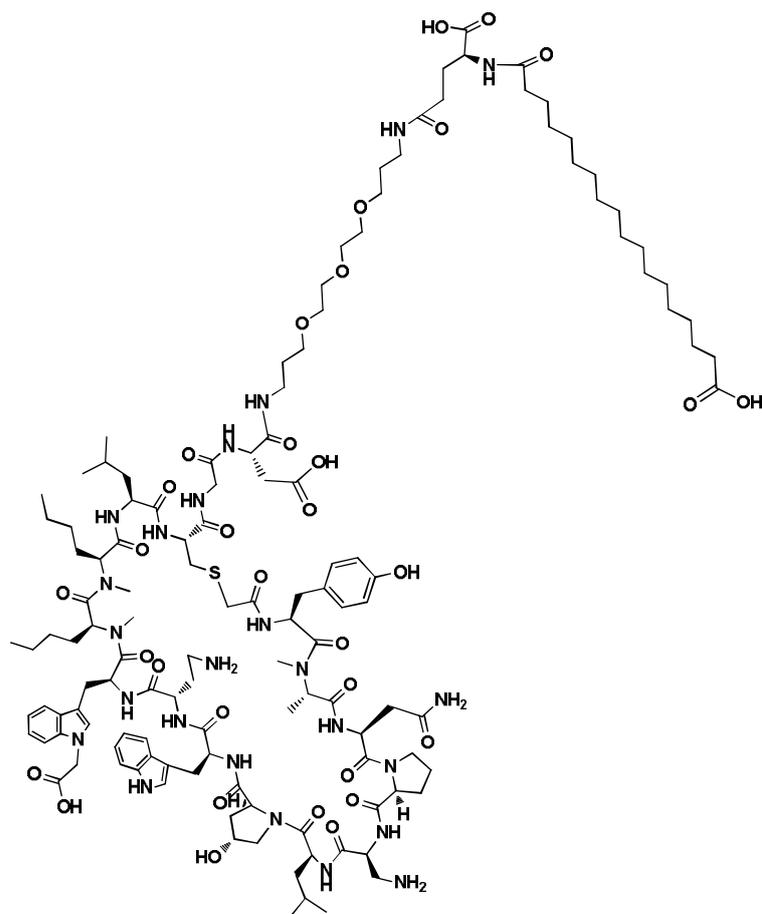
- El Ejemplo 11222 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- 5
- 10
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,47 min; IEN-EM(+) m/z 1184,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1184,1132 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11223



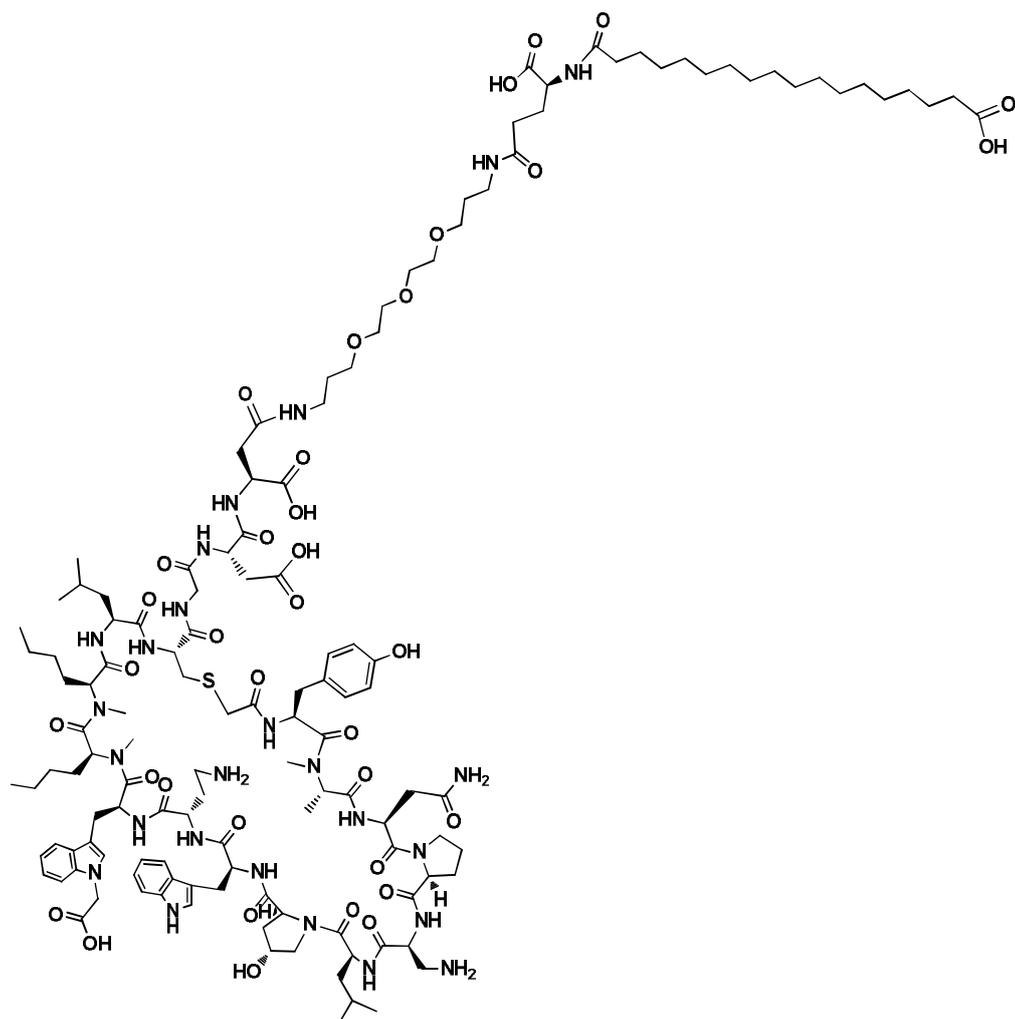
El Ejemplo 11223 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de cloruro de cloroacetilo", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada E en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,79 min; IEN-EM(+) m/z 1136,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1136,5948 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11224



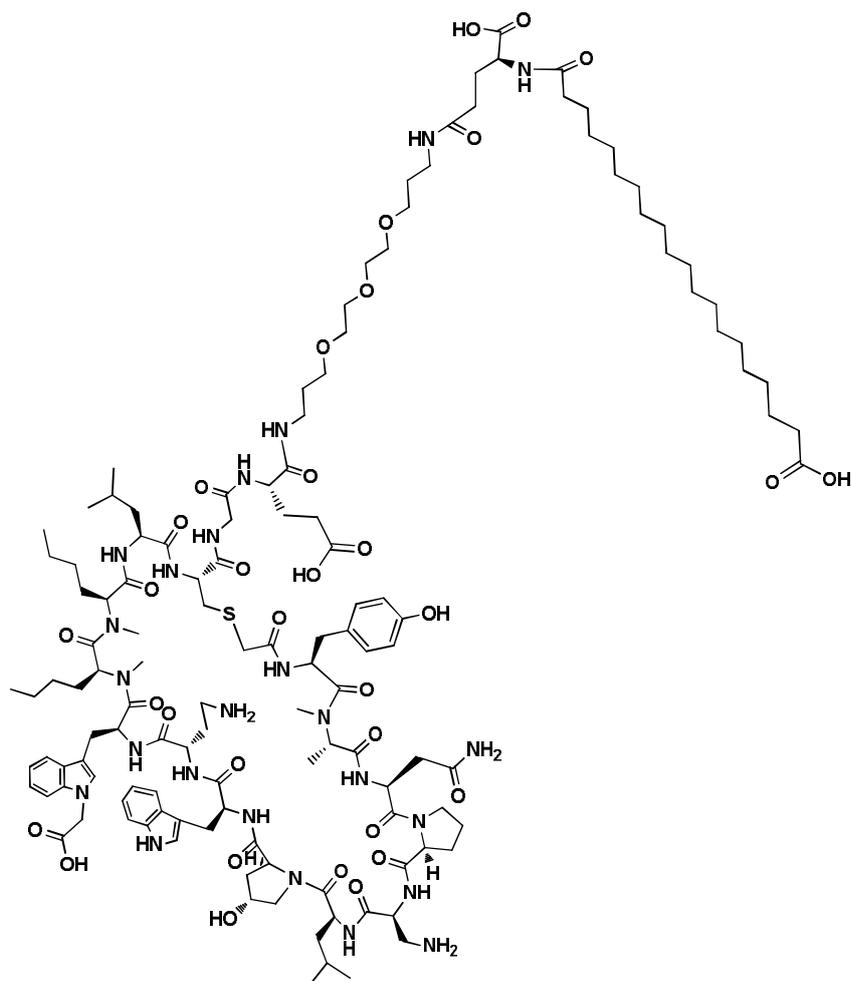
- El Ejemplo 11224 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,13 min; IEN-EM(+) m/z 1317,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1316,2122 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11225



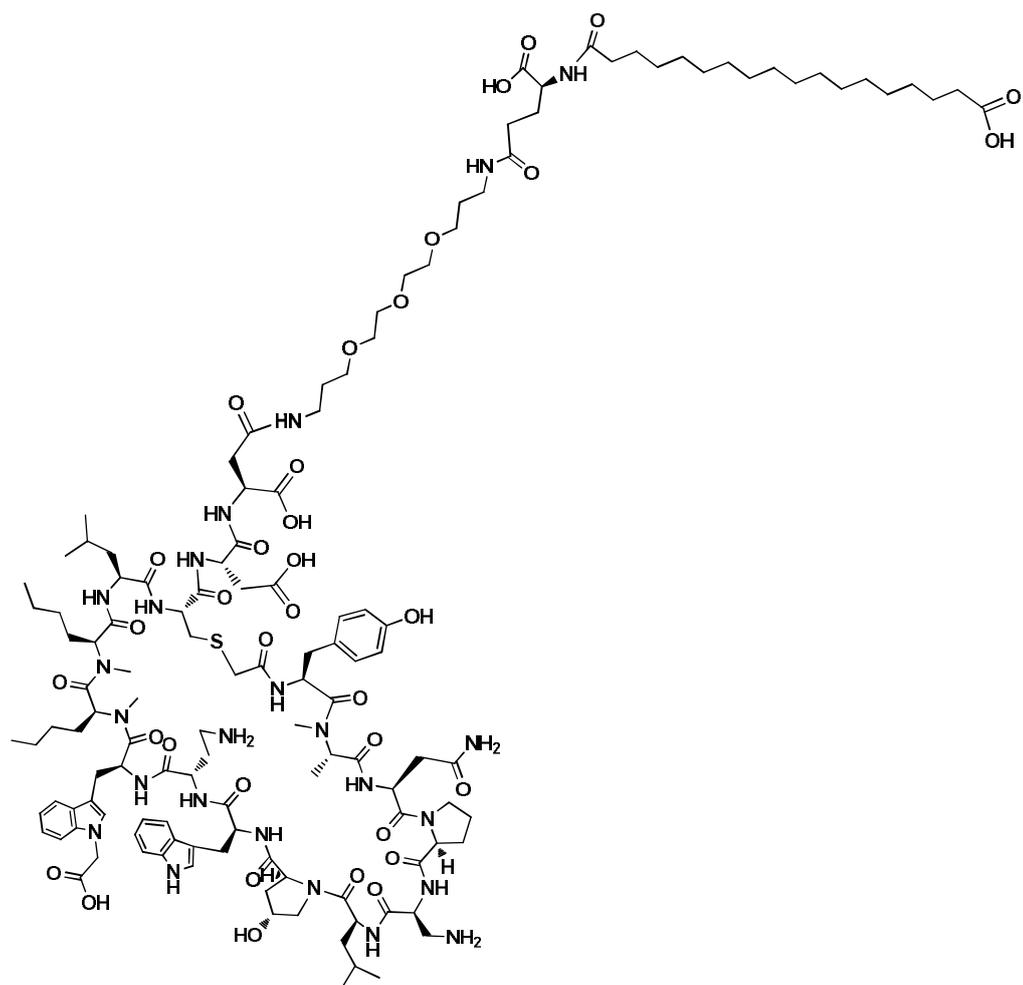
- El Ejemplo 11225 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 35,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,27 min; IEN-EM(+) m/z 1374,2 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1373,7259 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11226



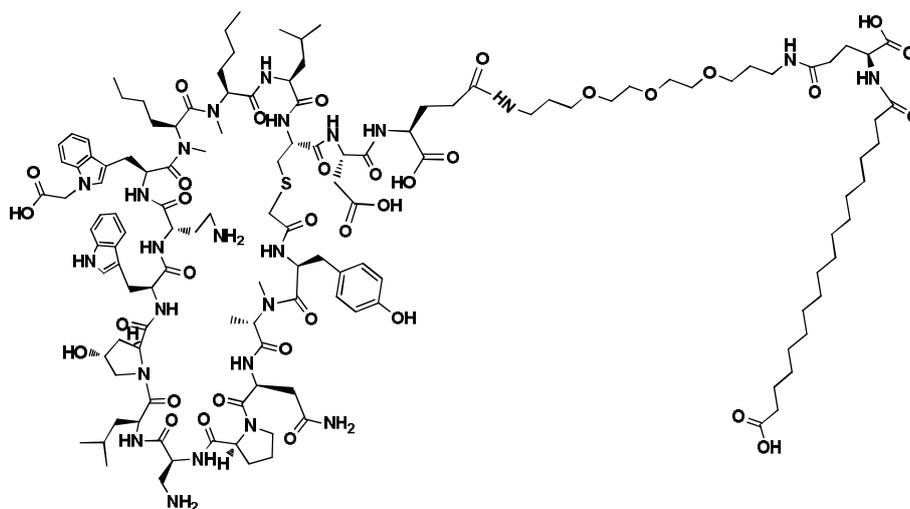
- El Ejemplo 11226 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,54 min; IEN-EM(+) m/z 1337,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1337,2332 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11227



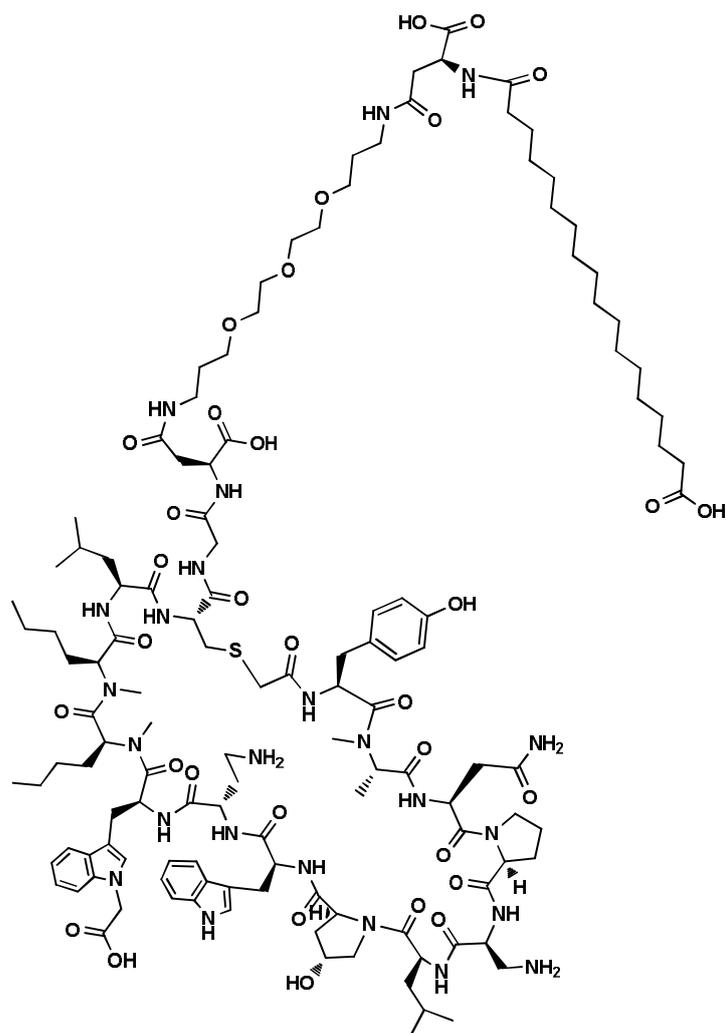
- El Ejemplo 11227 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,32 min; IEN-EM(+) m/z 1345,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1345,2147 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11228



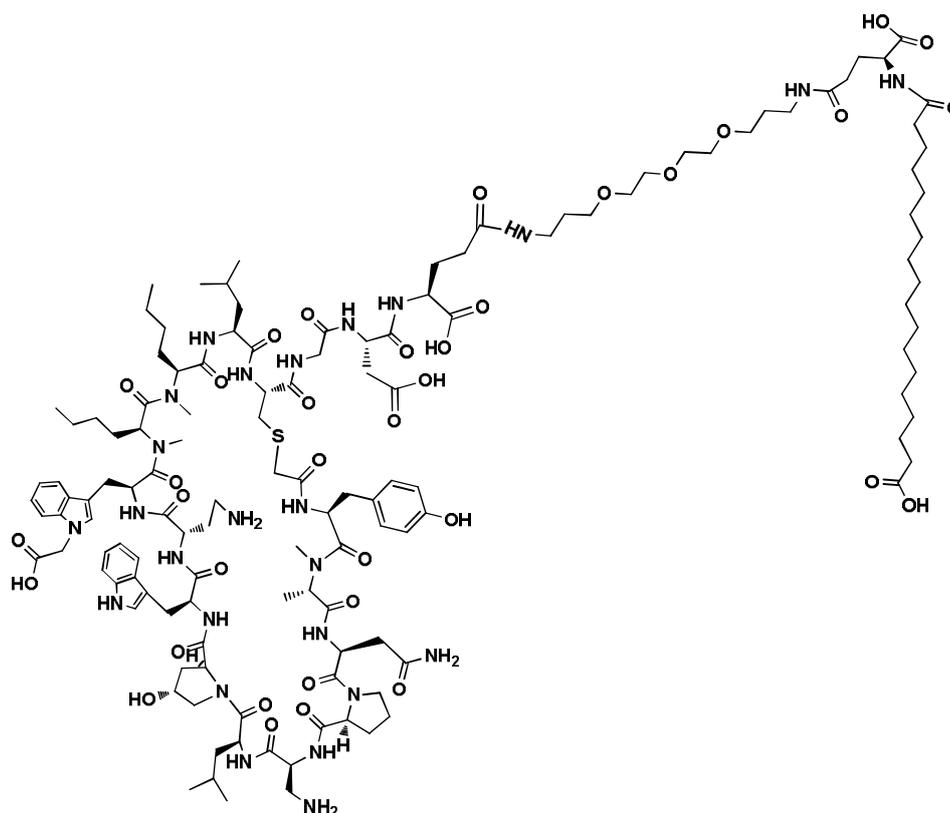
- El Ejemplo 11228 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,28 min; IEN-EM(+) m/z 1352,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1352,2227 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11229



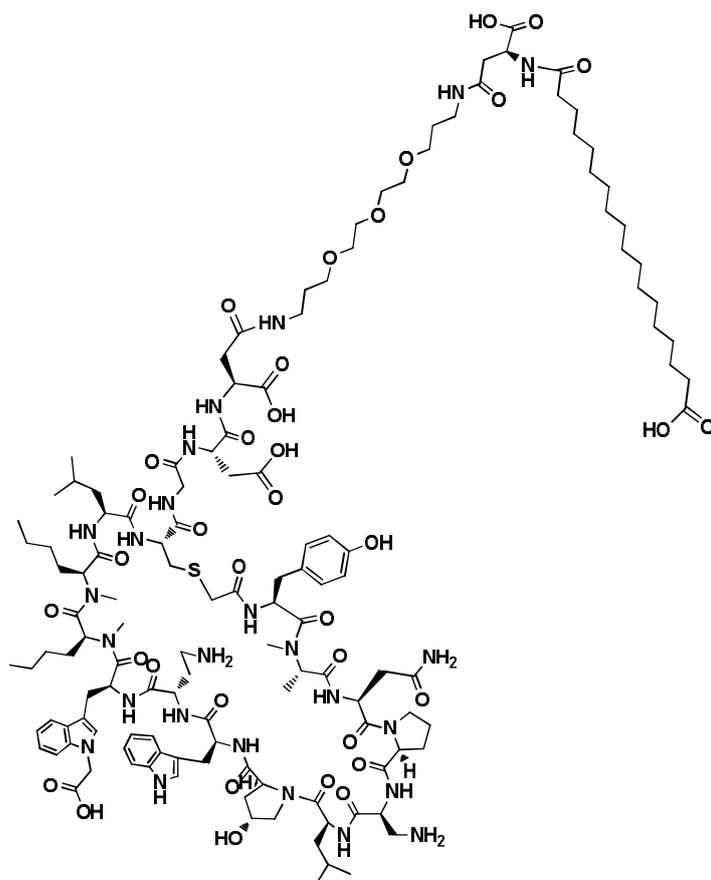
- El Ejemplo 11229 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- 5
- 10
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,35 min; IEN-EM(+) m/z 1309,8 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1309,2043 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11230



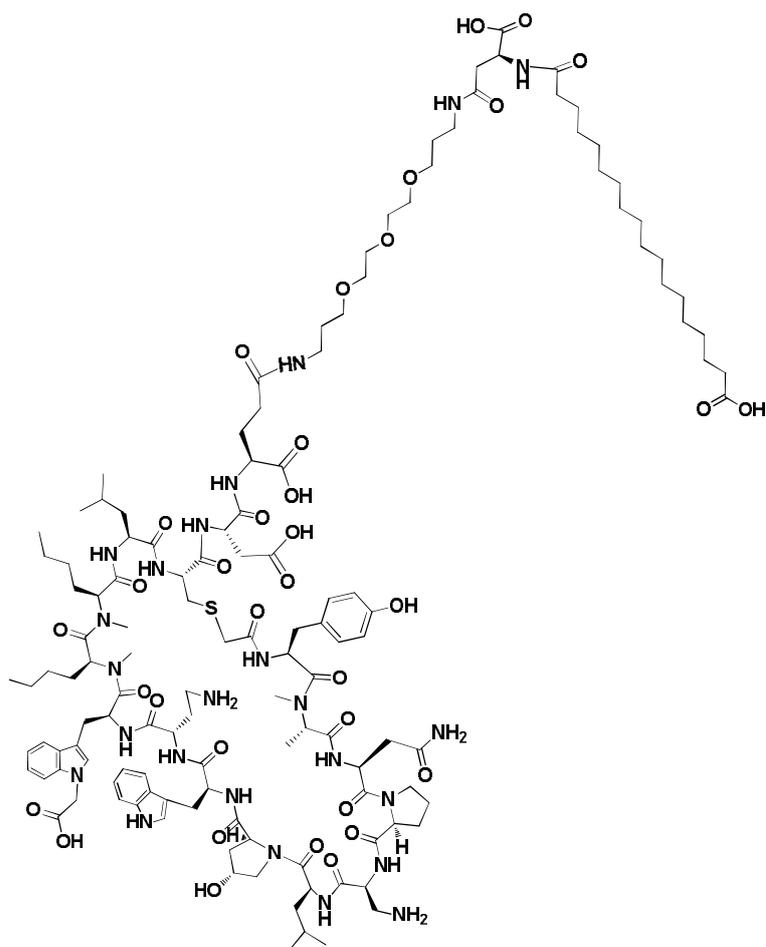
- El Ejemplo 11230 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada F en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,68 min; IEN-EM(+) m/z 1380,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1380,7350 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11231



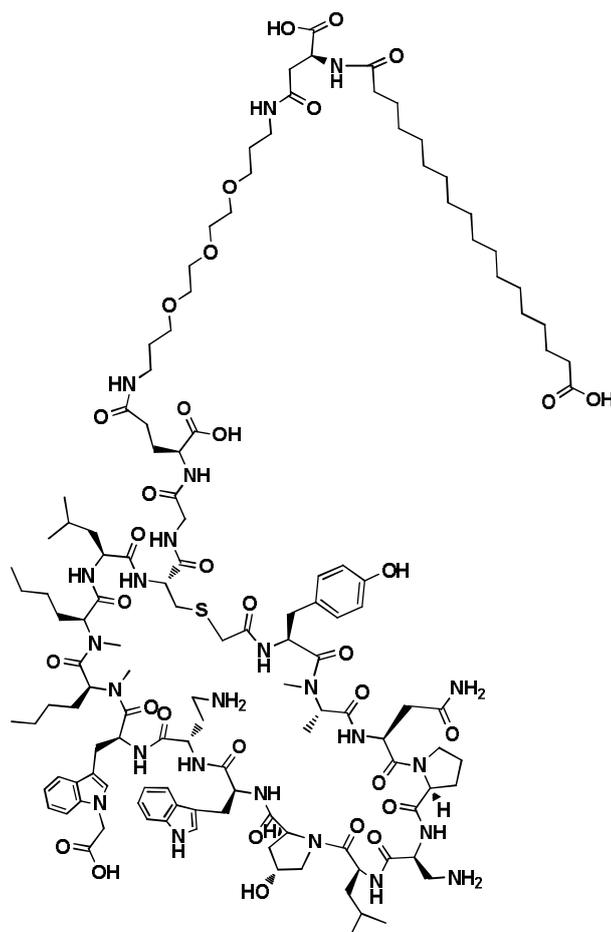
- El Ejemplo 11232 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,28 min; IEN-EM(+) m/z 1367,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1366,7180 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11233



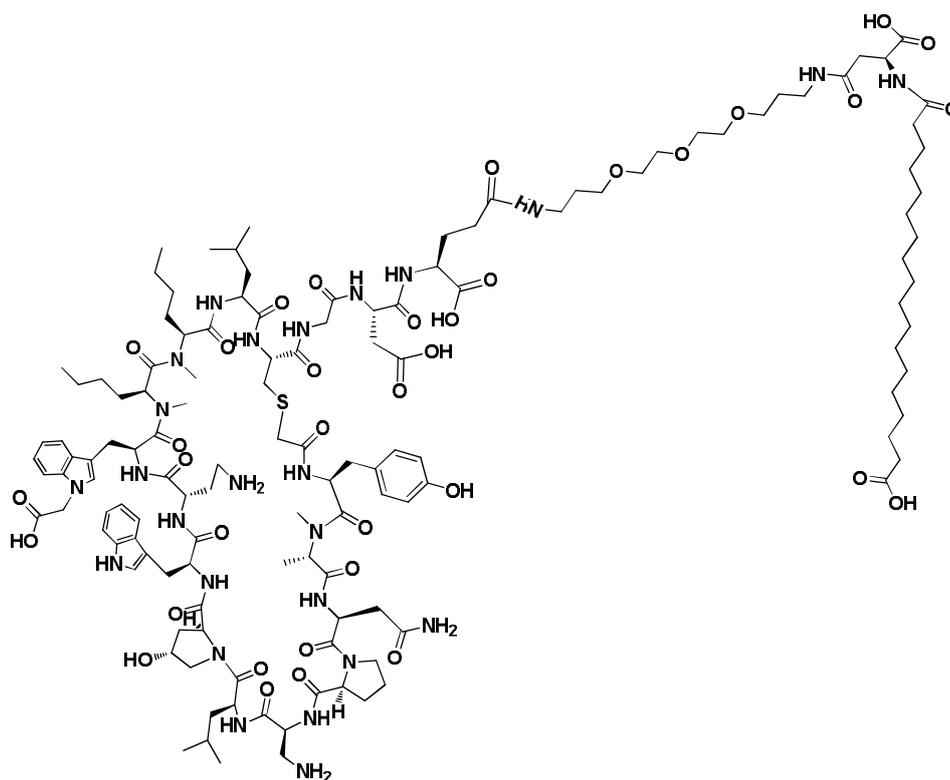
- El Ejemplo 11233 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,18 min; IEN-EM(+) m/z 1345,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1345,2151 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11234



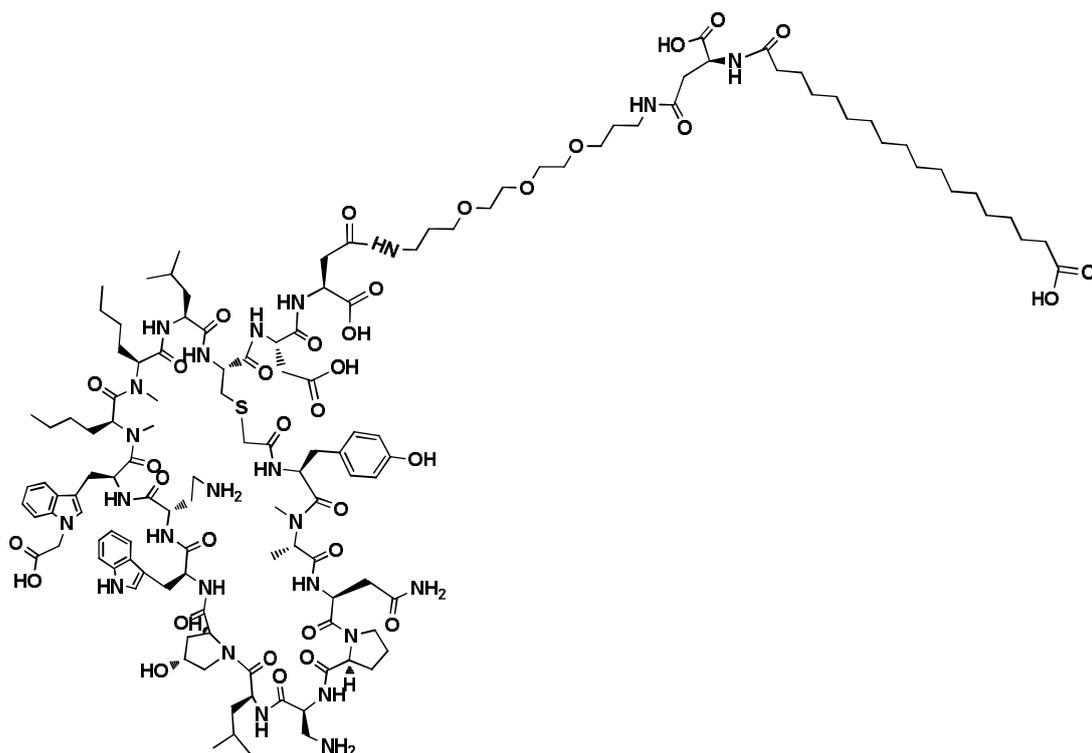
- El Ejemplo 11234 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 19,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- 5
- 10
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,35 min; IEN-EM(+) m/z 1317,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1316,2133 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11235



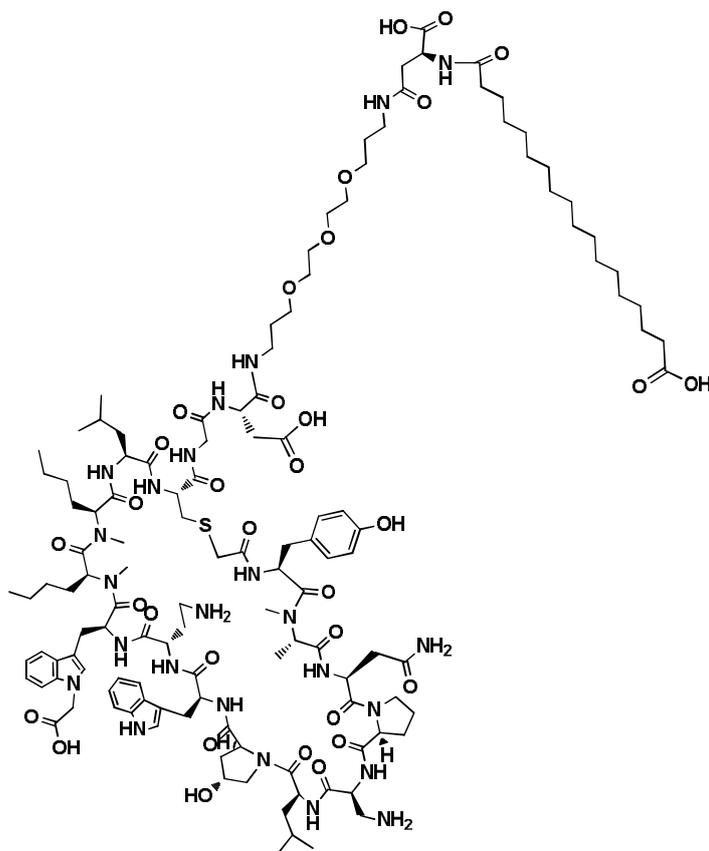
El Ejemplo 11235 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,26 min; IEN-EM(+) m/z 1374,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1373,7263 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11236



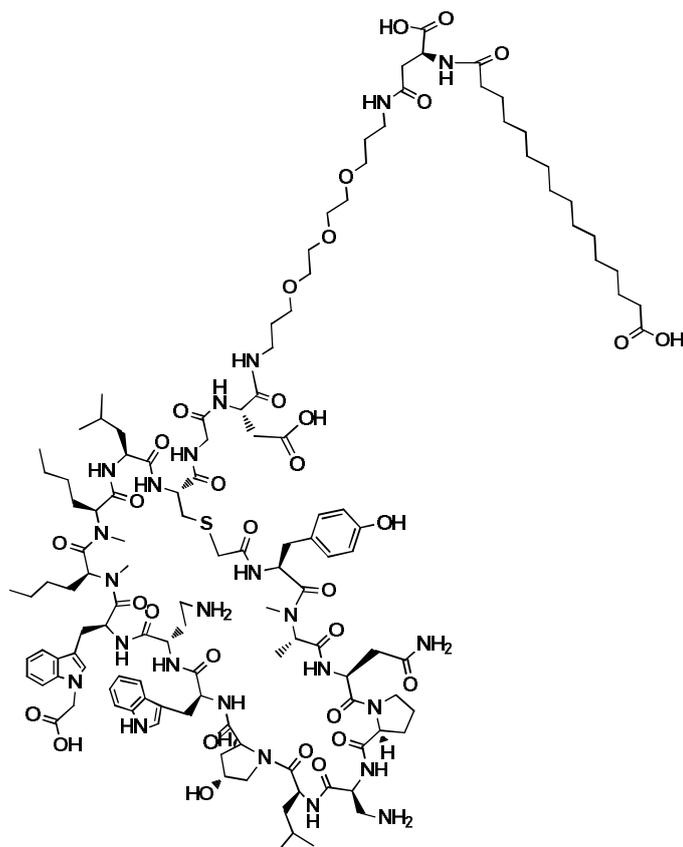
- El Ejemplo 11236 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,31 min; IEN-EM(+) m/z 1338,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1338,2058 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11237



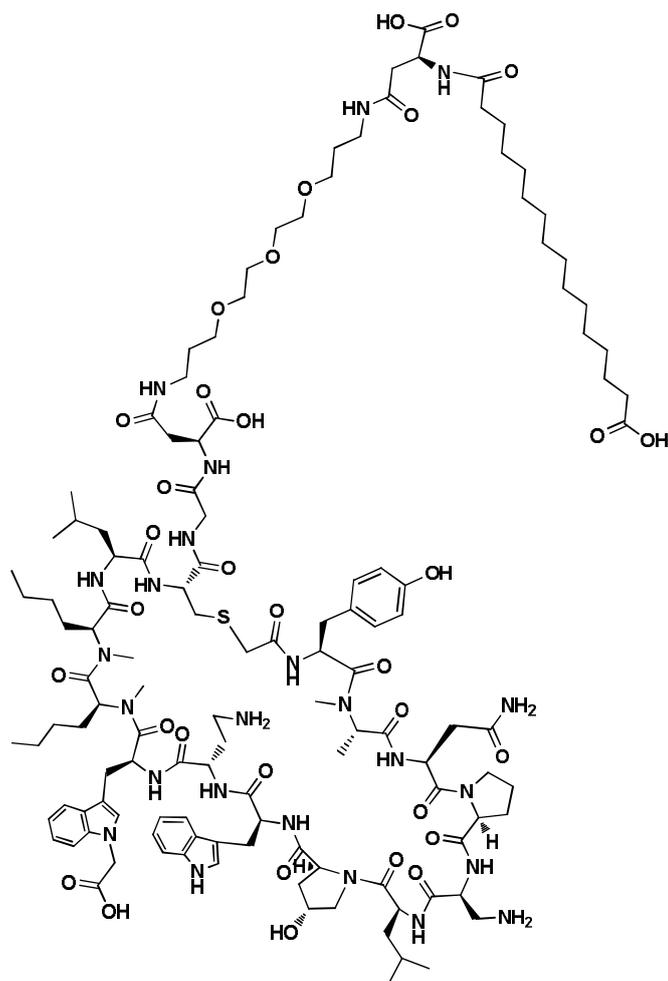
- El Ejemplo 11237 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada G en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- 5
- 10
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,45 min; IEN-EM(+) m/z 1309,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1309,2068 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11238



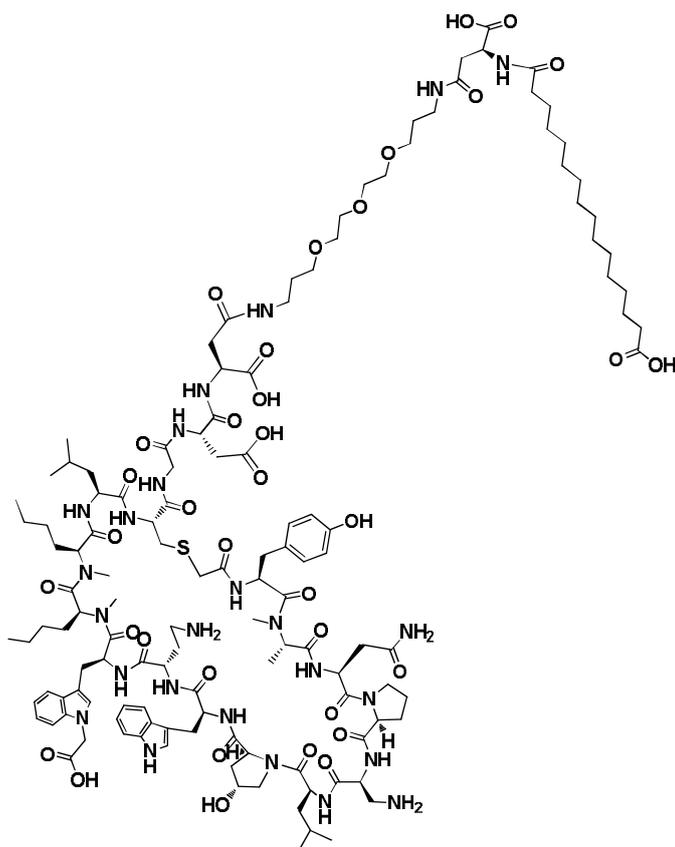
- El Ejemplo 11238 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,37 min; IEN-EM(+) m/z 1295,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1295,1866 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11239



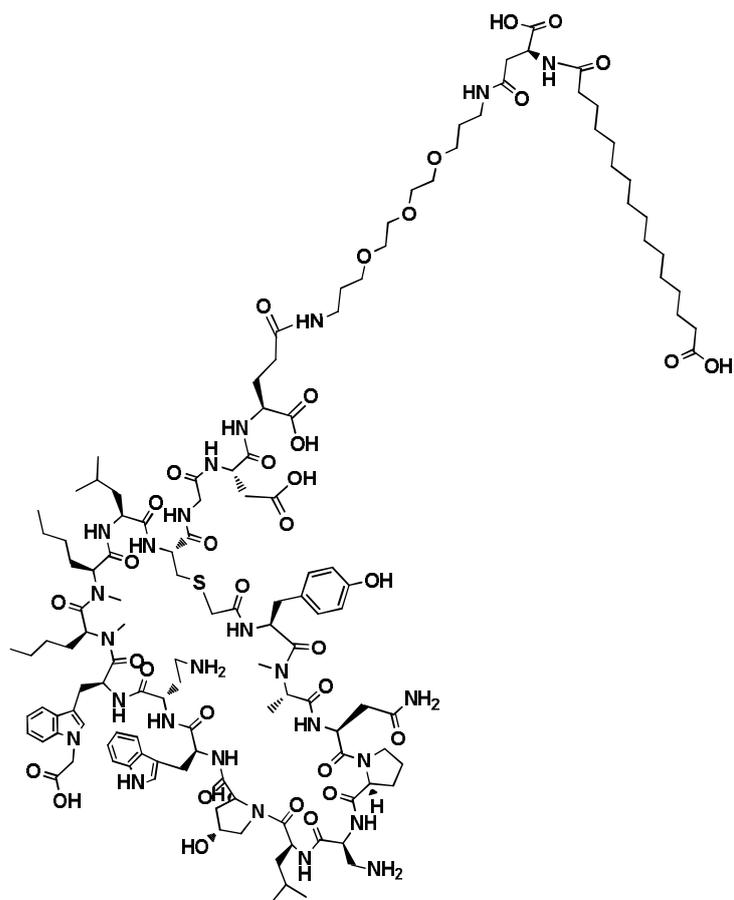
- El Ejemplo 11239 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,42 min; IEN-EM(+) m/z 1295,6 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1295,1864 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11240



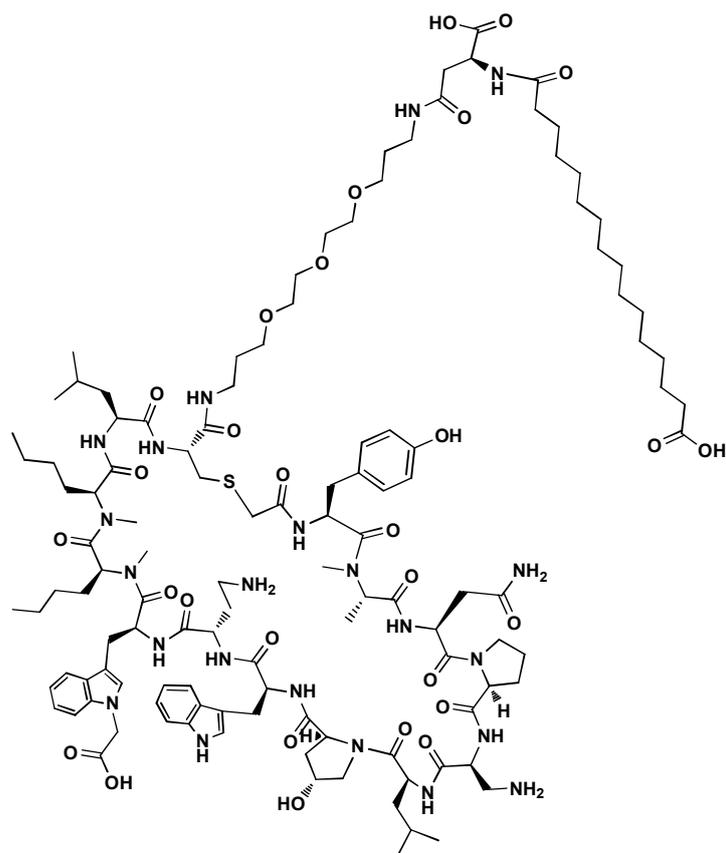
- El Ejemplo 11240 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,35 min; IEN-EM(+) m/z 1353,1 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1352,7005 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11241



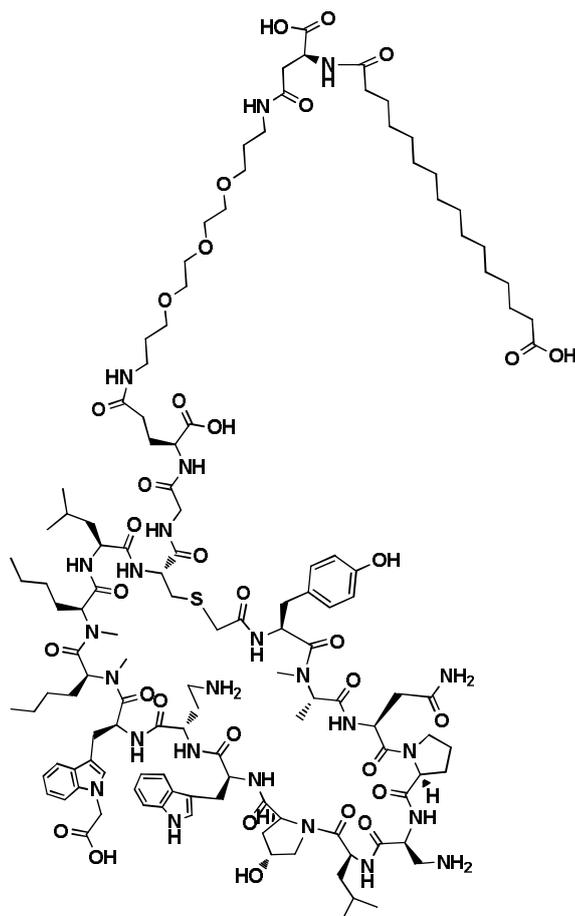
- El Ejemplo 11241 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 5
- 10
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,31 min; IEN-EM(+) m/z 1360,0 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1359,7091 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11242



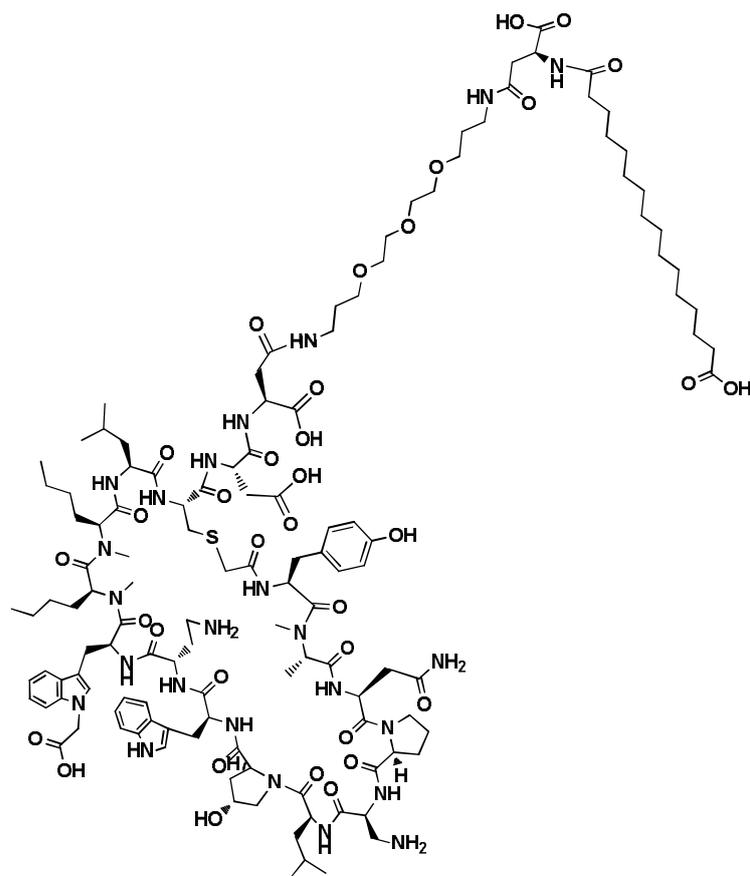
- El Ejemplo 11242 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-80 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 27,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,54 min; IEN-EM(+) m/z 1209,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1209,1651 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11243



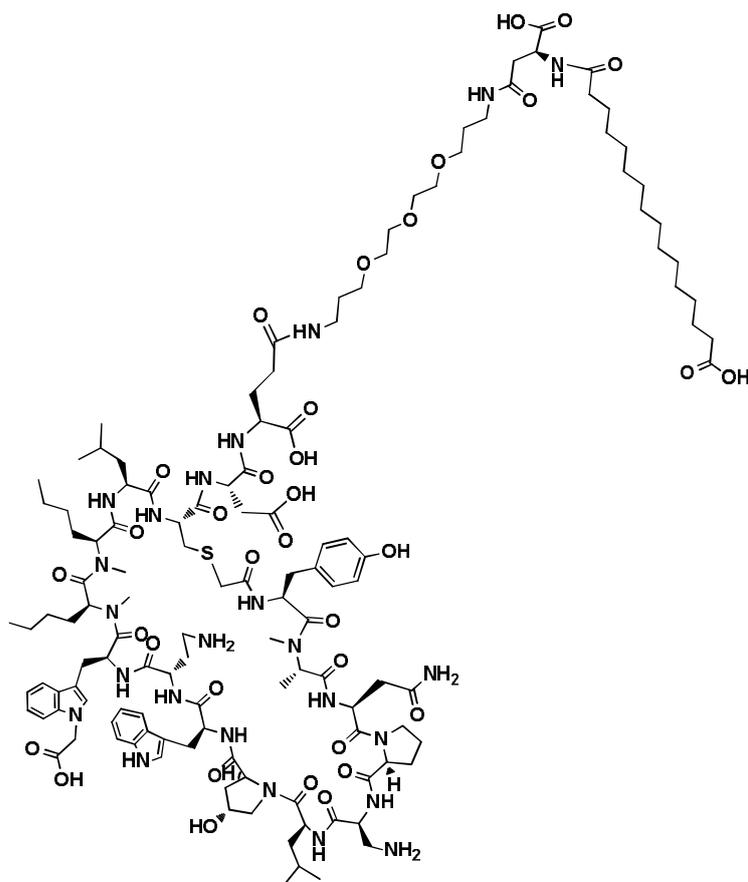
- El Ejemplo 11243 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,34 min; IEN-EM(+) m/z 1302,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1302,1978 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11244



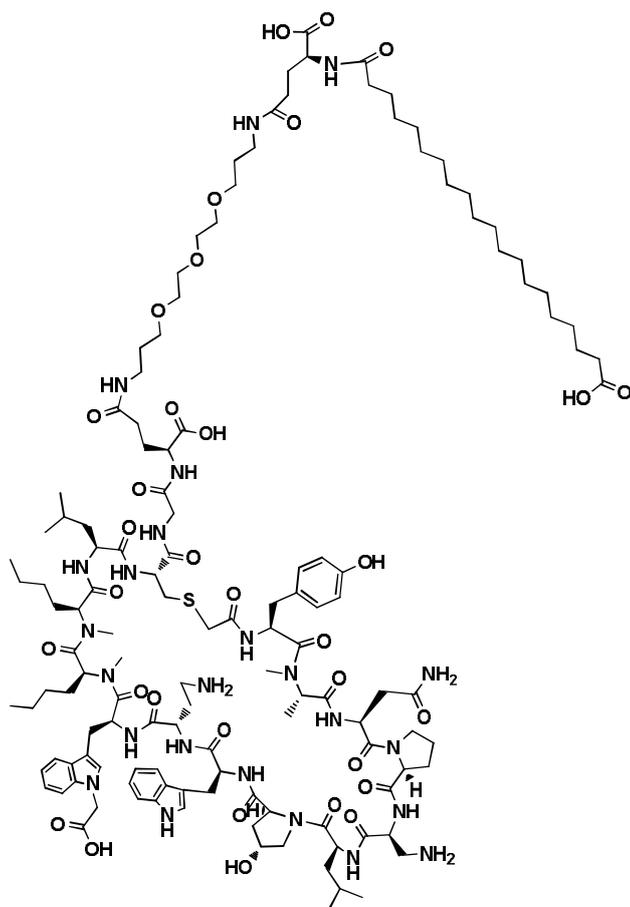
El Ejemplo 11244 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 33,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,14 min; IEN-EM(+) m/z 1324,3 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1324,1926 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11245



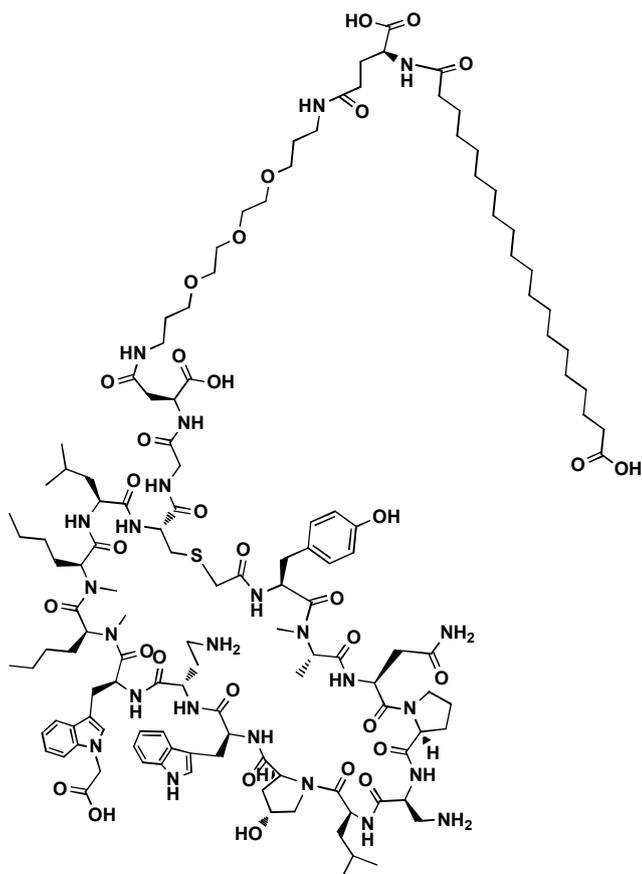
- El Ejemplo 11245 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada H en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 26,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,15 min; IEN-EM(+) m/z 1331,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1331,2001 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11246



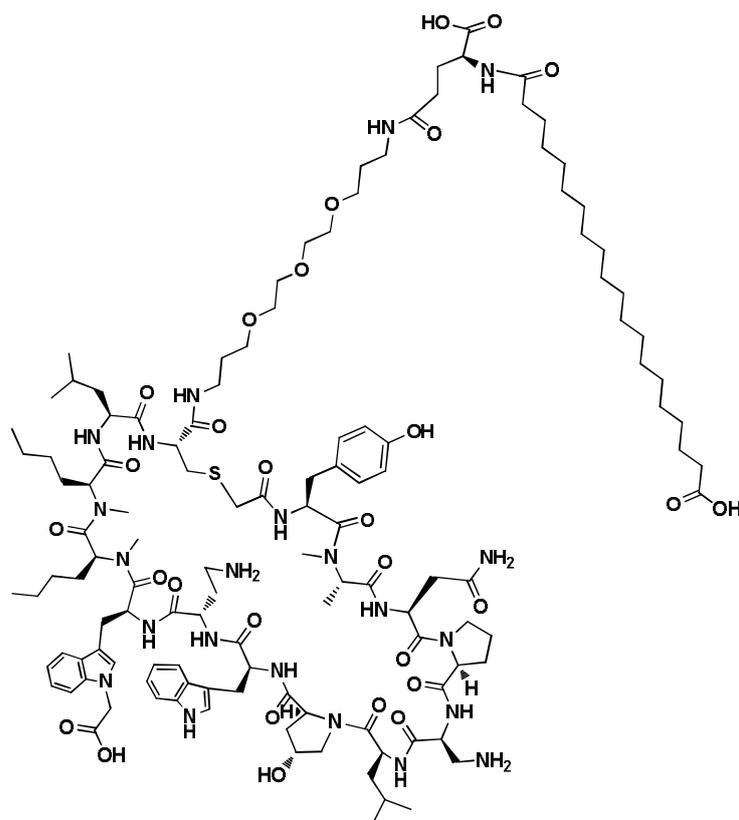
- El Ejemplo 11246 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada I en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,59 min; IEN-EM(+) m/z 1337,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1337,2369 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11247



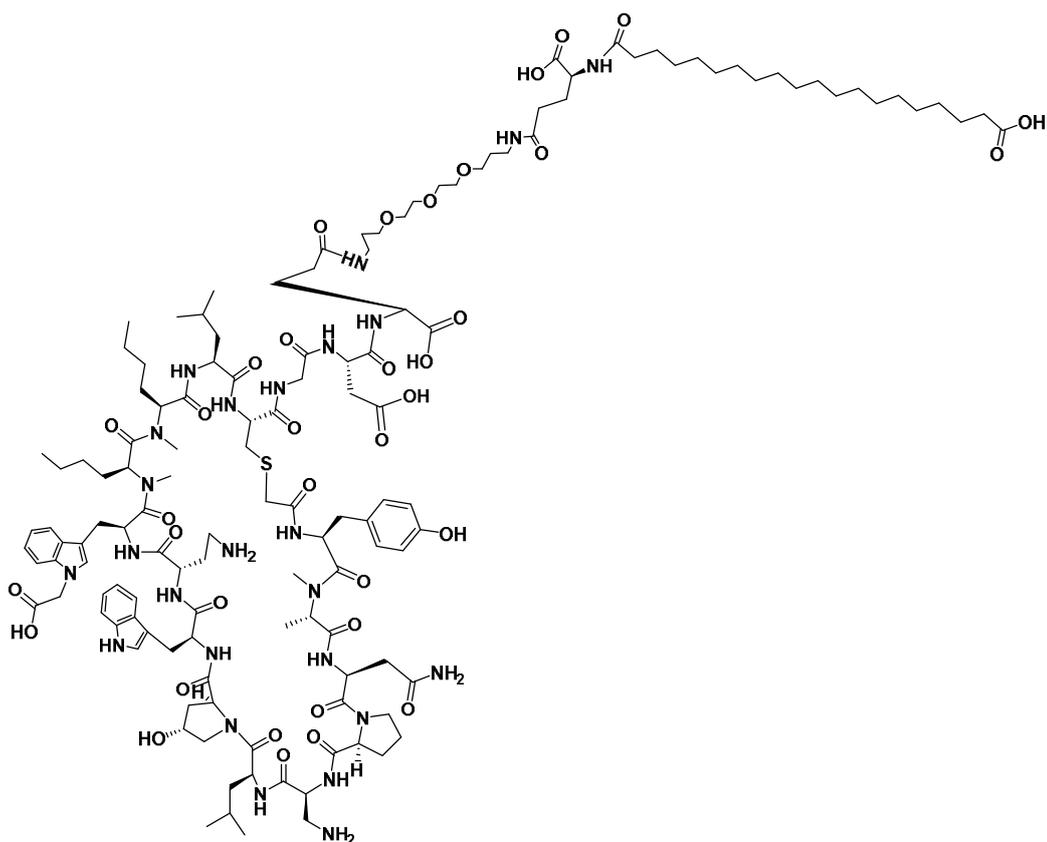
El Ejemplo 11247 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada I en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,61 min; IEN-EM(+) m/z 1330,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1330,2305 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11248



- El Ejemplo 11248 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada I en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 15-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 4,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,79 min; IEN-EM(+) m/z 1244,5 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1244,2027 (M+2H).

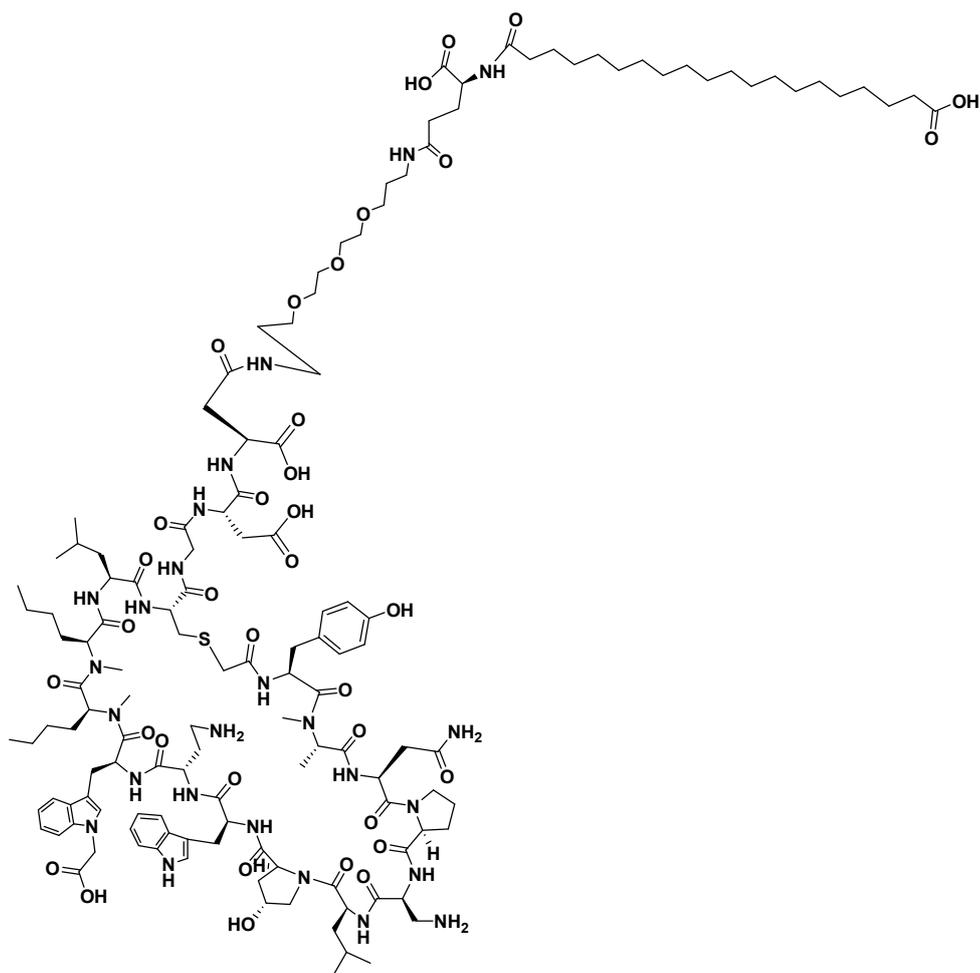
Preparación del Ejemplo 11249



El Ejemplo 11249 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada I en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,49 min; IEN-EM(+) m/z 1395,2.

15

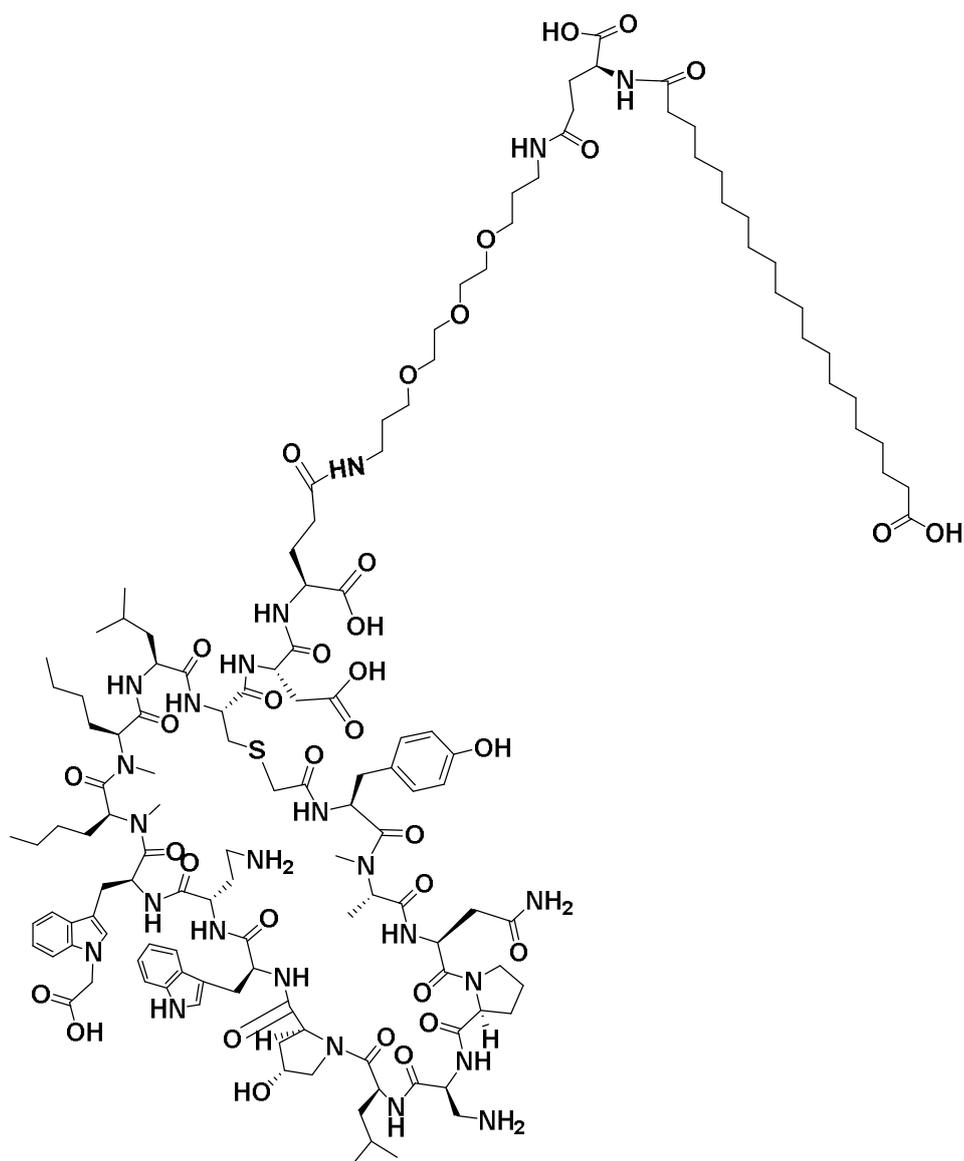
Preparación del Ejemplo 11250



El Ejemplo 11250 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada I en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,49 min; IEN-EM(+) m/z 1388,2.

15

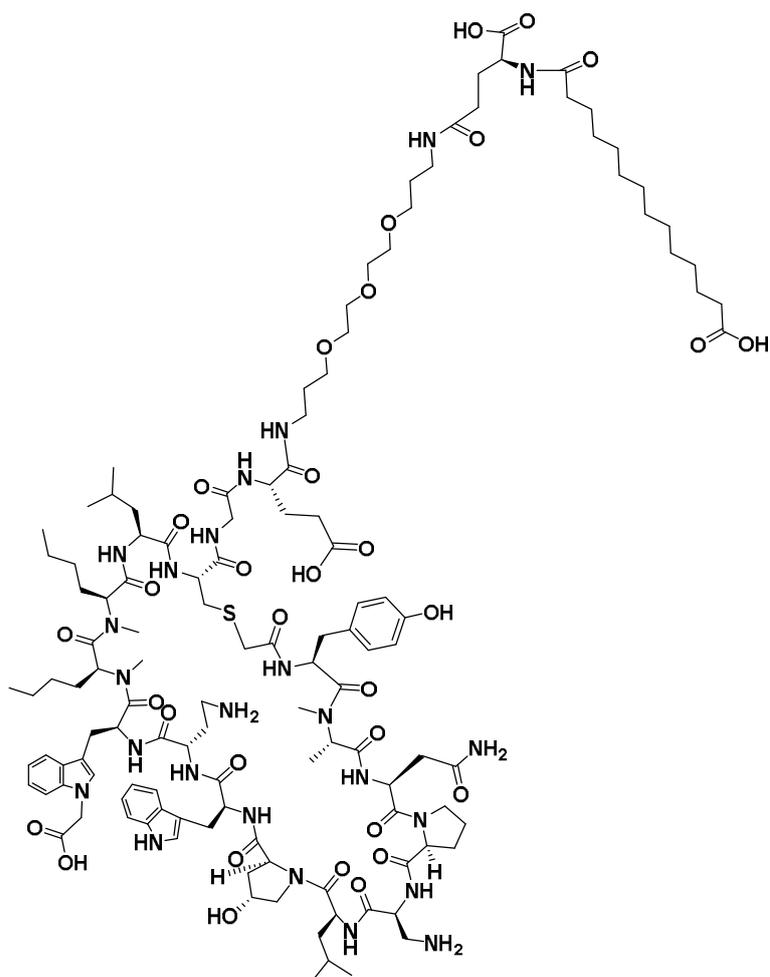
Preparación del Ejemplo 11251



El Ejemplo 11251 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada I en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.

15

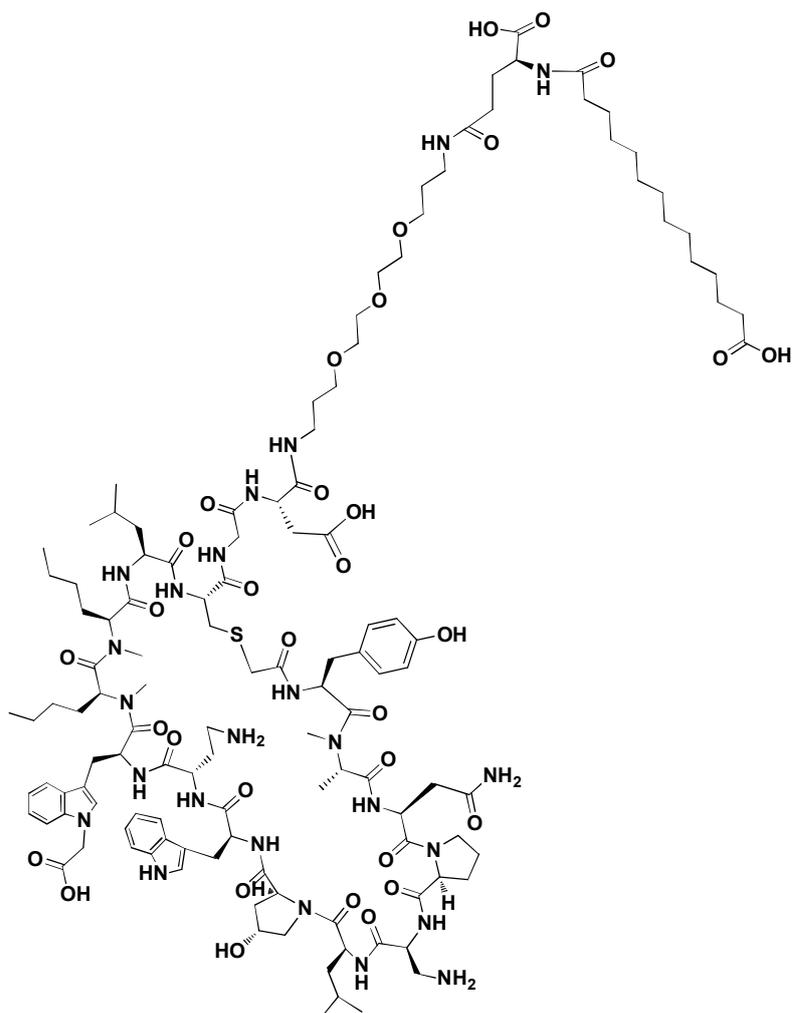
Preparación del Ejemplo 11252



5 El Ejemplo 11253 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada J en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 10 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,23 min; IEN-EM(+) m/z 1295,4.

15

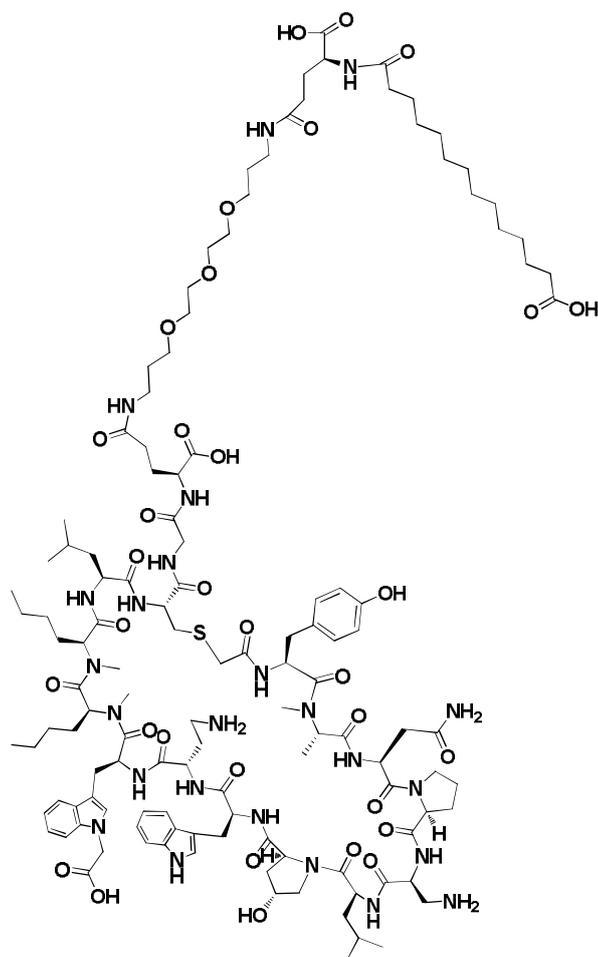
Preparación del Ejemplo 11254



El Ejemplo 11254 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada J en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 30,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,21 min; IEN-EM(+) m/z 1288,5.

15

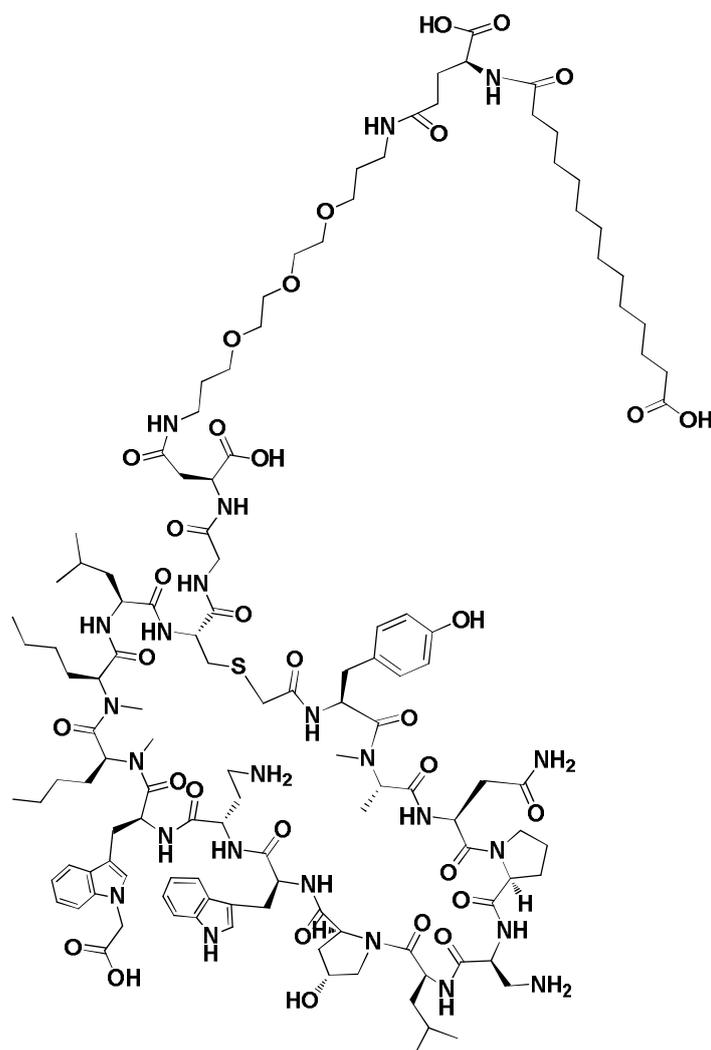
Preparación del Ejemplo 11255



5 El Ejemplo 11255 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada J en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 30 mm x 10 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,20 min; IEN-EM(+) m/z 1295,4.

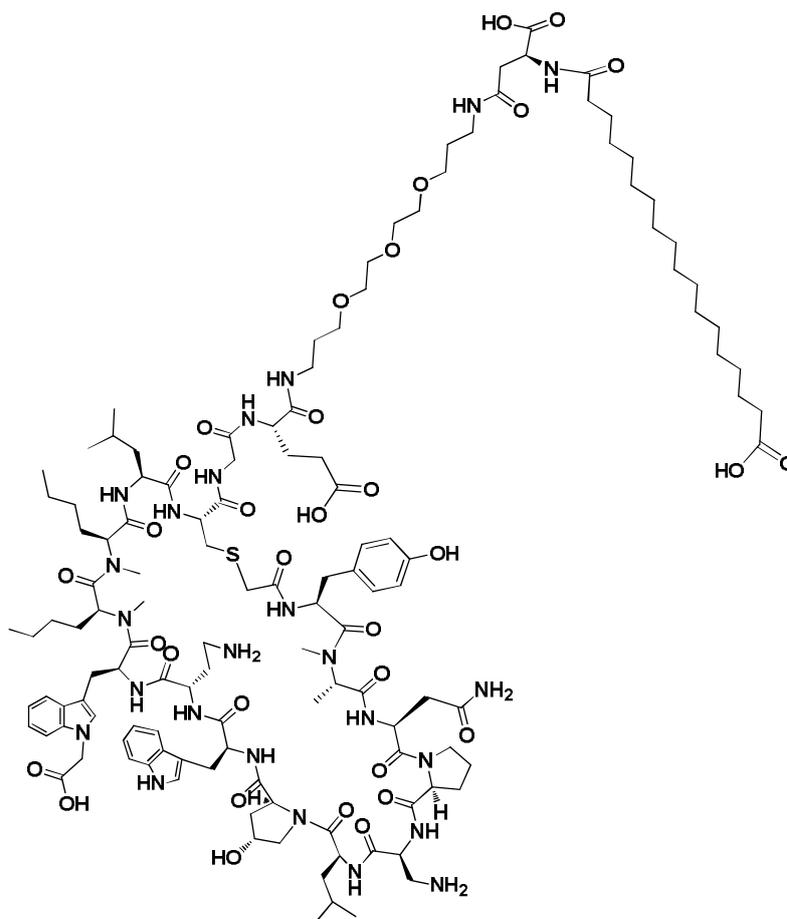
15

Preparación del Ejemplo 11256



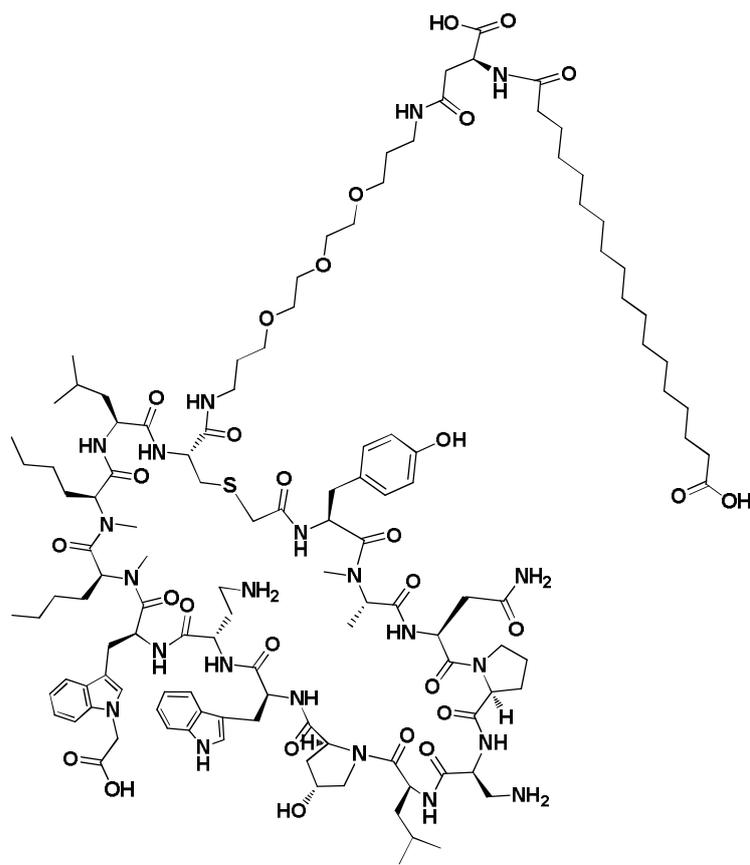
El Ejemplo 11256 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada J en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-70 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,20 min; IEN-EM(+) m/z 1288,5.

Preparación del Ejemplo 11257



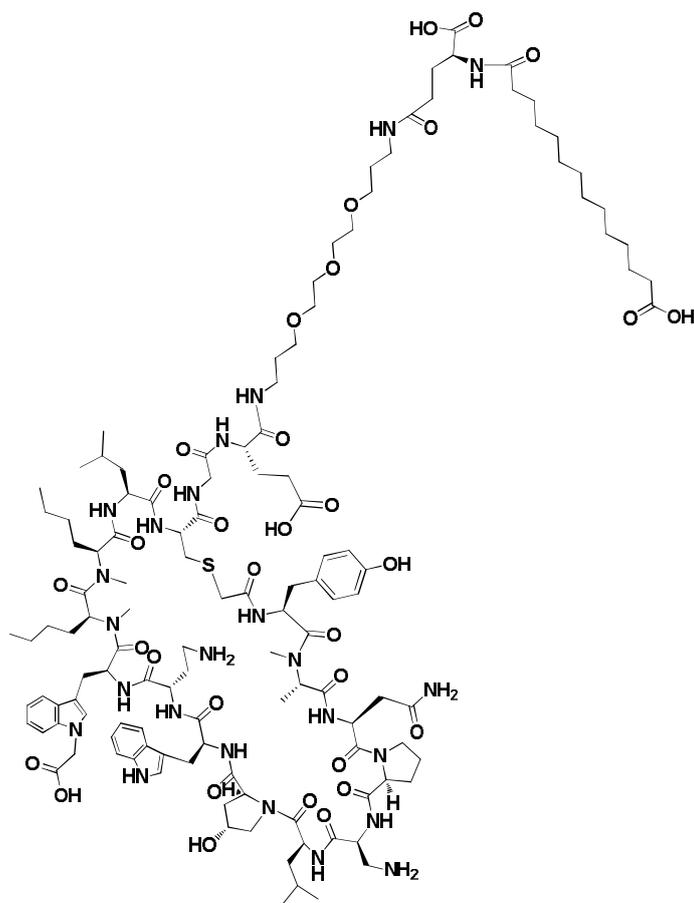
- El Ejemplo 11257 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada N en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 22,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,38 min; IEN-EM(+) m/z 1316,7 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1316,2101 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11258



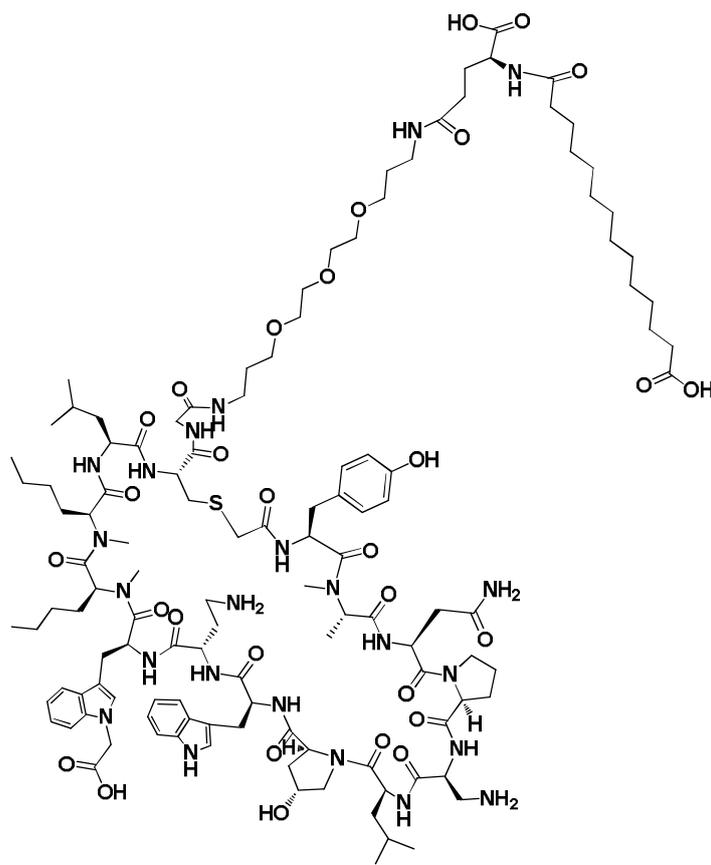
- El Ejemplo 11258 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada N en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-75 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,66 min; IEN-EM(+) m/z 1223,4 (M+2H); IEN-HRMS(+) m/z: 1223,1770 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11259



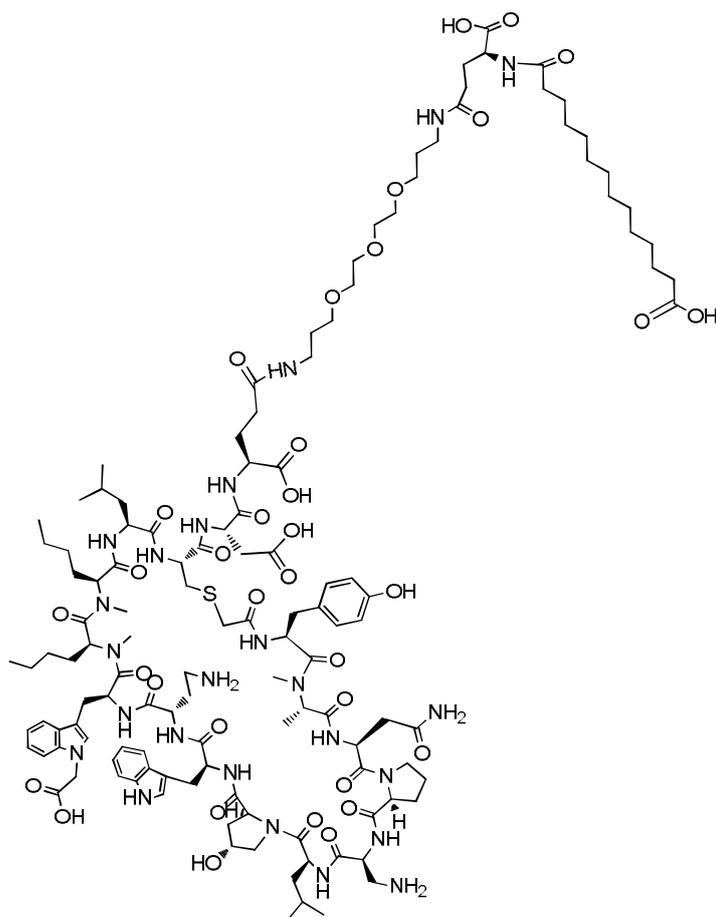
El Ejemplo 11259 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada Q en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 µm OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 4,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,40 min; IEN-EM(+) m/z 1202,5.

Preparación del Ejemplo 11260



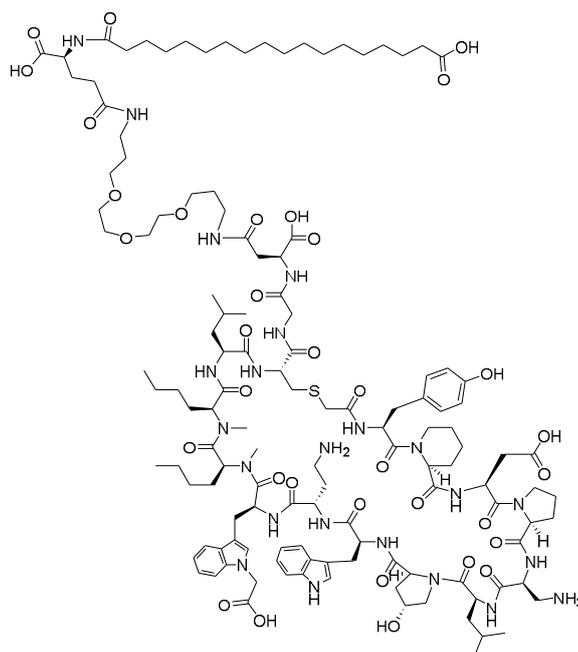
- El Ejemplo 11260 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada Q en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,34 min; IEN-EM(+) m/z 1231,1

Preparación del Ejemplo 11261



- El Ejemplo 11261 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento B de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de cloruro de 2-clorotritilo modificada Q en esta síntesis. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 30 mm x 250 mm; fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 25-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- 15 Condición B del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 2,11 min; IEN-EM(+) m/z 1324,7

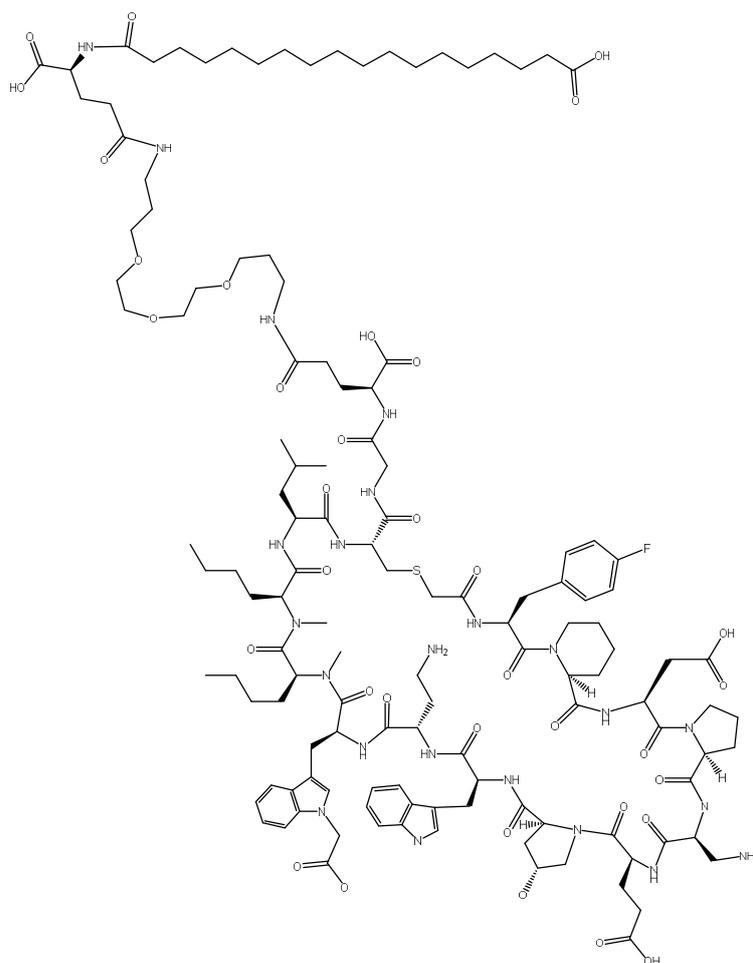
Preparación del Ejemplo 11262



- 5 El Ejemplo 11262 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.
- 10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación
- 15 centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90,9 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,83 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1329,7089 (M+2H)

Preparación del Ejemplo 11263

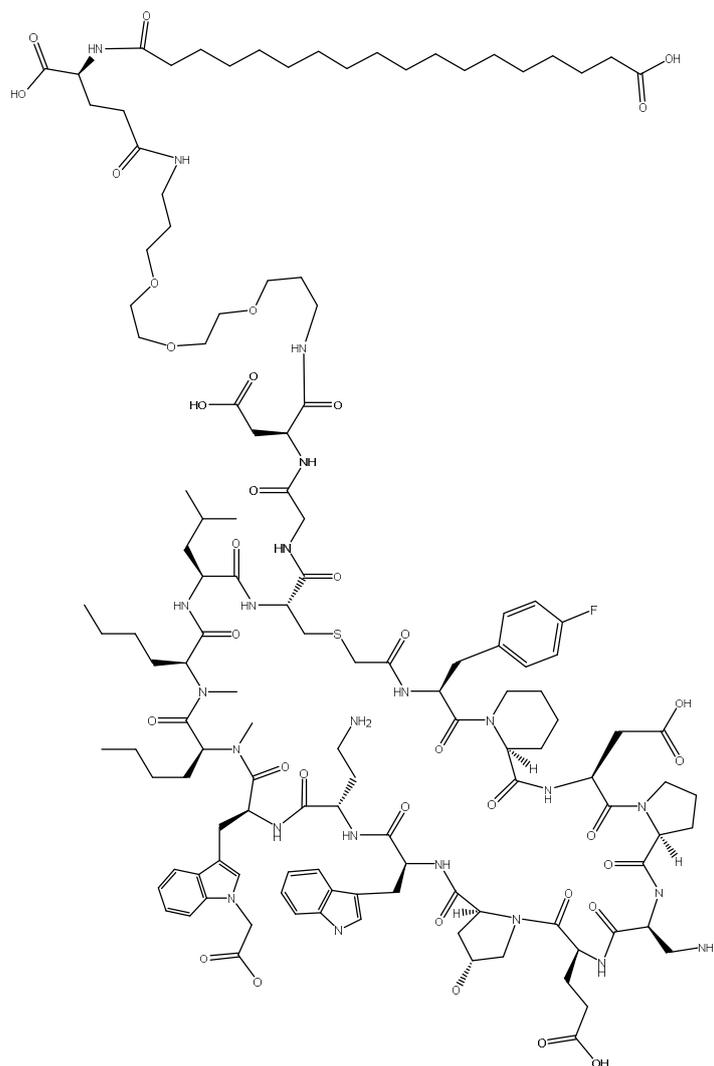
20



- 5 El Ejemplo 11263 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.
- 10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación
- 15 centrífuga. El rendimiento del producto fue de 19 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,7 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,17 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1345,6943 (M+2H)

Preparación del Ejemplo 11264

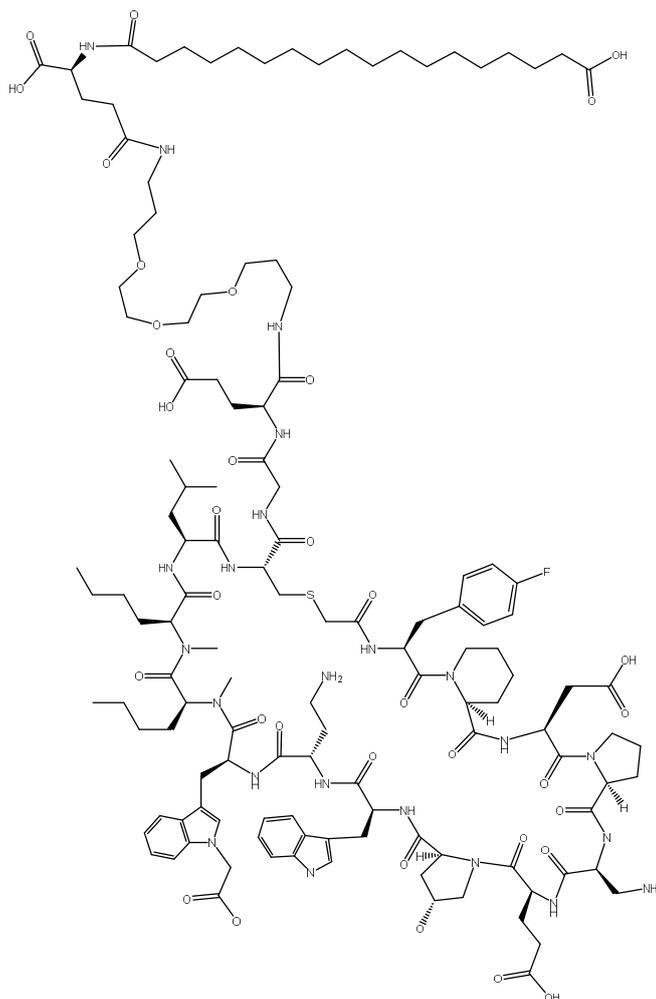
20



- 5 El Ejemplo 11264 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.
- 10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,3 %.
- 15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,23 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1338,6835 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11265

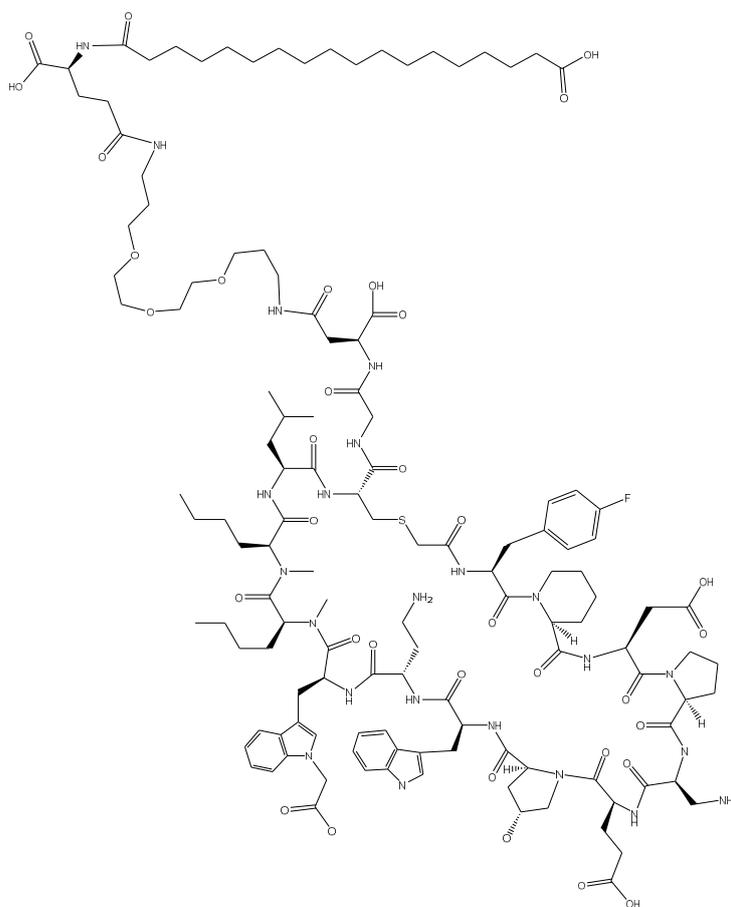
20



- El Ejemplo 11265 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.
- 5
- 10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación
- 15 centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,4 %.
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,23 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1345,6946 (M+2H)

Preparación del Ejemplo 11266

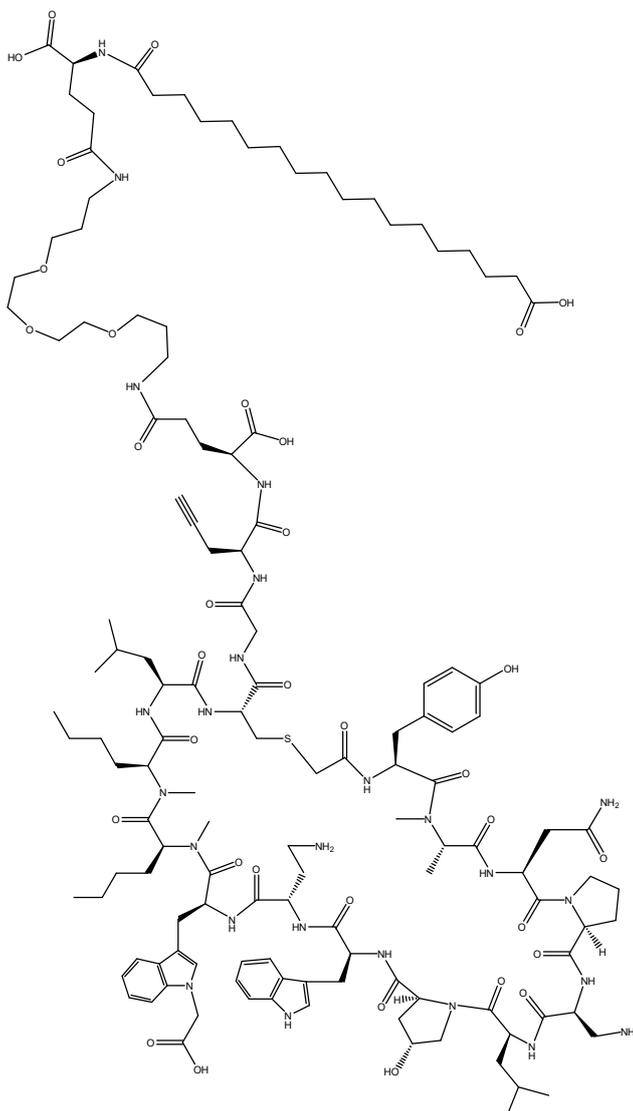
20



- El Ejemplo 11266 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.
- 5
- 10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 24 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,0 %.
- 15
- Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,19 min

Preparación del Ejemplo 11267

20

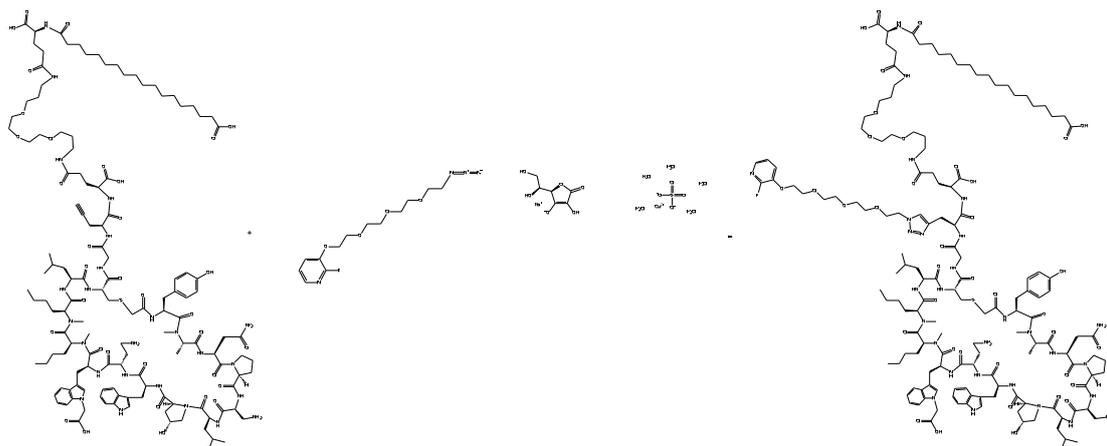


5 El Ejemplo 11267 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001 (excepto porque la reacción se hizo correr a una escala de 0,6 mmol) compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.

10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 280 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95,6 %.

Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 3,98 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1370,7382 (M+2H).

20 Preparación del Ejemplo 11268



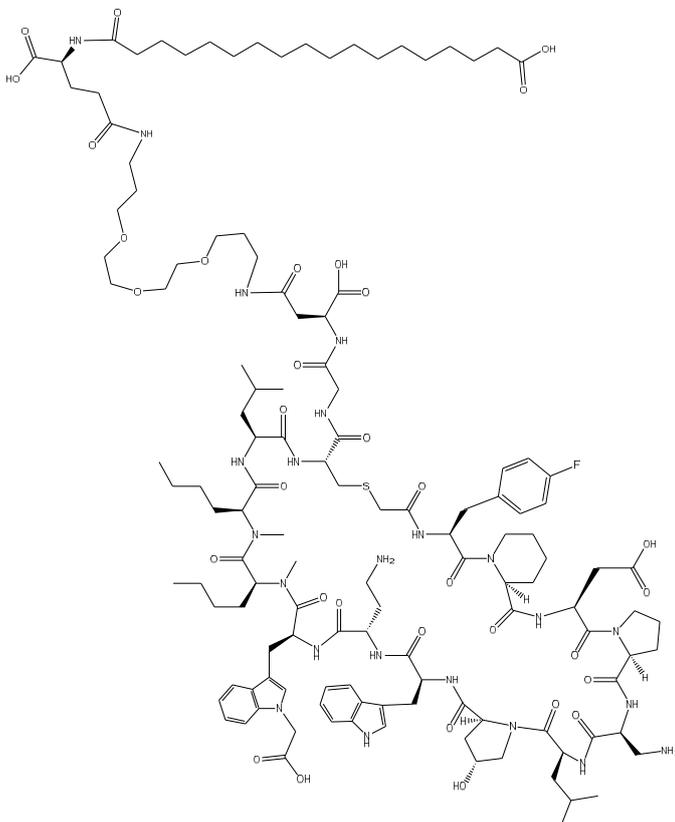
5 El Ejemplo 11268 se preparó de la siguiente manera. A un vial de 1 dram se le añadió Ejemplo 11267 (30 mg, 10,11 μmol) en agua (,5 ml). A esto se le añadió t-BuOH (,5 ml) y 3-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-2-fluoropiridina (6,35 mg, 0,020 mmol). La solución se agitó y después se añadieron ascorbato de sodio (2,60 mg, 0,013 mmol) y una solución de sulfato de cobre(II) pentahidrato (0,015 ml, 3,03 μmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se verificó mediante CL/EM y estaba completa. La mezcla de reacción en bruto se inyectó directamente en una columna de cromatografía de fase inversa.

10 El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μm OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98,7 %.

15 Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,01 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1528,6 (M+2H)

Preparación del Ejemplo 11269

20

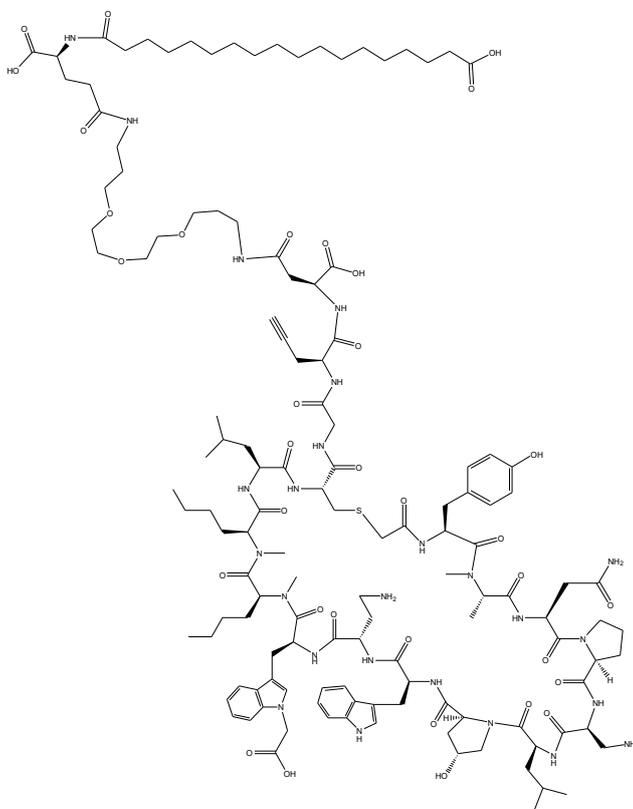


El Ejemplo 11269 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001, compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.

El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 21 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90,6 %.

Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,25 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1330,7059 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11270

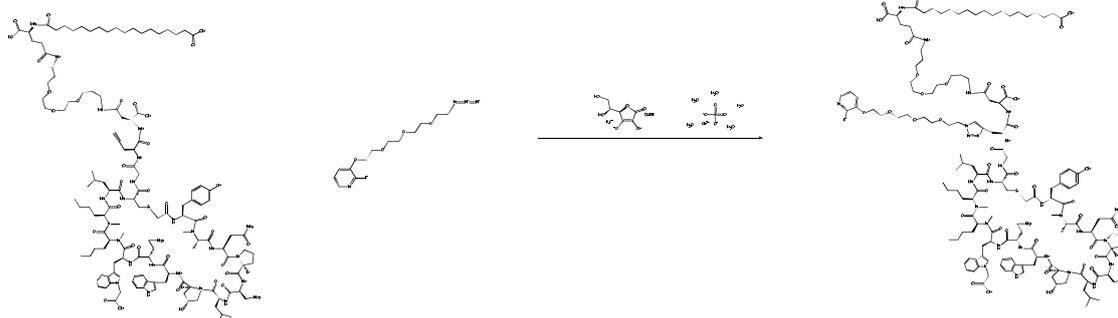


El Ejemplo 11270 se preparó de acuerdo con la secuencia sintética general descrita para la preparación del Ejemplo 0001 (excepto porque se hizo correr a una escala de 0,8 mmol), compuesta por los siguientes procedimientos generales: "Método A de Symphony: Procedimiento de expansión de resina", "Método A de Symphony: Procedimiento de acoplamiento estándar", "Método A de Symphony: Procedimiento A de acoplamiento a la amina secundaria", "Procedimiento de acoplamiento de aminoácidos a medida", "Procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético", "Método A de desprotección global" y "Método A de ciclación". Se usó resina de clorotritilo modificada W en esta síntesis.

El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 140 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97,4 %.

Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,07 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1363,7277 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 11271



El Ejemplo 11271 se preparó de la siguiente manera. A un vial de 1 dram se le añadió Ejemplo 11270 (40 mg, 0,015 mmol) en agua (,5 ml). A esto se le añadió t-BuOH (,5 ml) y 3-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-2-fluoropiridina (9,22 mg, 0,029 mmol). La solución se agitó y después se añadieron ascorbato de sodio (3,78 mg, 0,019 mmol) y una solución de sulfato de cobre(II) pentahidrato (0,022 ml, 4,40 μ mol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se verificó mediante CL/EM y estaba completa. La mezcla de reacción en bruto se inyectó directamente en una columna de cromatografía de fase inversa.

El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: El material en bruto se purificó mediante LC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XSelect CSH Prep C18, 5 μ m OBD, 19 mm x 250 mm. Fase móvil A: 10:90 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 90:10 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 20-65 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 17,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 93,0 %.

Condición A del análisis de CLEM: Tiempo de retención = 4,24 min; IEN-HRMS(+) m/z: 1520,7970 (M+2H).

Datos analíticos:

Espectrometría de masa: "IEN-EM(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion positivo; "IEN-EM(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion negativo; "IEN-HRMS(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion positivo; "IEN-HRMS(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion negativo. Las masas detectadas se informan de acuerdo con la designación de unidad "m/z". En general, los compuestos con masas exactas mayores de 1000 se detectaron como iones de doble carga o de triple carga.

Condición A de análisis:

Columna: Waters BEH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 $^{\circ}$ C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición B de análisis:

Columna: Waters BEH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 $^{\circ}$ C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición C de análisis:

Columna: Waters Aquity UPLC BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 μ m; fase móvil A: 100 % de agua:0,05 % de TFA; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo:0,05 % de TFA; temperatura: 40 $^{\circ}$ C; gradiente: 2-98 % de B durante 1,5 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición D de análisis:

Columna: PHENOMENEX-LUNA 2,0 X 30 mm 3 μ m; fase móvil A: 90 % de agua - 10 % de metanol - 0,1 % de TFA; fase móvil B: 10 % de agua - 90 % de metanol - 0,1 % de TFA; gradiente: 0-100 % de B durante 2 minutos, después un mantenimiento de 1 a 4 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición E de análisis:

5 Columna: Xbridge Phenyl, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B en 15 minutos; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición F de análisis:

10 Columna: XBridge C18, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-100 % de B en 30 minutos; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición G de análisis:

15 Columna: Waters CSH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; temperatura: 50 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición H de análisis:

20 Columna: Xbridge C18, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-100 % de B en 18 minutos; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición I de análisis:

25 Columna: XSelectCSH C18, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-100 % de B en 15 minutos; flujo: 1,0 ml/min; detección: UV a 220 nm.

30

Condición J de análisis:

35 Columna: Zorbax Bonus RP, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-100 % de B en 15 minutos; flujo: 1,0 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Condición K de análisis:

40 Columna: Waters Aquity UPLC BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 100 % de agua:0,05 % de TFA; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo:0,05 % de TFA; temperatura: 50 °C; gradiente: 2-98 % de B durante 3,0 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

Procedimientos generales para los ejemplos de Intermediarios 1300A-1400L:

45 Todas las manipulaciones se realizaron mediante automatización en un sintetizador de péptidos Symphony X (Protein Technologies). A menos que se indique lo contrario, todos los procedimientos se realizaron en un tubo de polipropileno de 10 ml equipado con una frita en la parte inferior. El tubo se conecta con el sintetizador de péptidos Prelude a través de la parte inferior y superior del tubo. Se pueden añadir DMF y DCM a través de la parte superior del tubo, lo que produce el lavado parejo de los laterales del tubo. Los reactivos restantes se añaden a través de la parte inferior del tubo y se hacen pasar a través de la frita para entrar en contacto con la resina. Todas las soluciones se retiran a través de la parte inferior del tubo. La "agitación periódica" describe un impulso breve de gas de N₂ a través de la frita de la parte inferior; el impulso dura aproximadamente 5 segundos y se produce cada 30 segundos. Las soluciones de cloruro de cloroacetilo en DMF se usaron dentro de las 24 h de la preparación. En general, no se usaron soluciones de aminoácidos de más de tres semanas desde de la preparación. Se usó solución HATU dentro de los 5 días de preparación. DMF = dimetilformamida; HATU = hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido; DIPEA = diisopropiletilamina; Rink = (2,4-dimetoxifenil)(4-alcoxifenil)metanamina, en donde "4-alcoxi" describe la posición y el tipo de conectividad de la resina de poliestireno. La resina usada es polímero Merrifield (poliestireno) con un ligador Rink (protegido por Fmoc en el nitrógeno); malla de 100-200, 1 % de DVB, 0,56 mmol/g de carga. Los aminoácidos comunes usados se enumeran a continuación con grupos protectores de cadenas laterales que se indican entre paréntesis. Fmoc-Ala-OH; Fmoc-Arg(Pbf)-OH; Fmoc-Asn(Trt)-OH; Fmoc-Asp(OtBu)-OH; Fmoc-Bzt-OH; Fmoc-Cys(Trt)-OH; Fmoc-Dab(Boc)-OH; Fmoc-Dap(Boc)-OH; Fmoc-Gln(Trt)-OH; Fmoc-Gly-OH; Fmoc-His(Trt)-OH; Fmoc-Hyp(tBu)-OH; Fmoc-Ile-OH; Fmoc-Leu-OH; Fmoc-Lys(Boc)-OH; Fmoc-Nle-OH; Fmoc-Met-OH; Fmoc-[N-Me]Ala-OH; Fmoc-[N-Me]Nle-OH; Fmoc-Phe-OH; Fmoc-Pra-OH; Fmoc-Pro-OH; Fmoc-Sar-OH; Fmoc-Ser(tBu)-OH; Fmoc-Thr(tBu)-OH; Fmoc-Trp(Boc)-OH; Fmoc-Tyr(tBu)-OH; Fmoc-Val-OH.

65

Para productos de carboxamida: los procedimientos describen un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol,

en donde la escala se determina en función de la cantidad de ligador Rink unido a la resina. Esta escala corresponde aproximadamente a 178 mg de la resina Rink-Merrifield descrita anteriormente. Antes del acoplamiento de los aminoácidos, todas las secuencias de síntesis de péptidos comenzaron con un procedimiento de expansión de resina, descrito a continuación como "procedimiento de expansión de resina". En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina primaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento simple" descrito a continuación. En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina secundaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento doble" descrito a continuación. El acoplamiento de cloroacetilcloruro al terminal N del péptido se describe mediante el "procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo" que se detalla a continuación.

10 *Procedimiento de expansión de resina:*

A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 10 ml, se le añadió resina Merrifield:Rink (178 mg, 0,100 mmol). La resina se lavó (expandió) tres veces de la siguiente manera: al recipiente de reacción, se añadió DMF (2,0 ml), después de lo cual la mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.

Procedimiento de acoplamiento simple:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Acoplamiento simple para el ácido -(S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico:

El acoplamiento se realizó como se describió anteriormente, solo se usó un tiempo de agitación de 30 min.

40 *Procedimiento de acoplamiento doble:*

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución se drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución se drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La

mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción se le añadió DIPEA (0,4 M en DMF, 3,0 ml, 24 eq), después cloruro de cloroacetilo (0,8 M en DMF, 1,5 ml, 13,2 eq). La mezcla se agitó periódicamente durante 30 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH₂Cl₂ (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se colocó en un flujo de N₂ durante 15 minutos, después de lo cual la resina se tornó rígida y fácilmente manipulable.

Para productos del terminal C del ácido carboxílico:

Los procedimientos describen un experimento realizado a una escala de 0,100 mmol, en donde la escala se determina de acuerdo con la cantidad de ligador de 2-clorotritilo unido a la resina. Se usó resina de Fmoc-Gly-2-clorotritilo comercial, generalmente como una carga de 0,92 meq/g. Esta escala corresponde aproximadamente a 109 mg de la resina Fmoc-Gly-2-clorotritilo descrita anteriormente. Antes del acoplamiento de los aminoácidos, todas las secuencias de síntesis de péptidos comenzaron con un procedimiento de expansión de resina, descrito a continuación como "procedimiento de expansión de resina". En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina primaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento simple" descrito a continuación. En el acoplamiento de los aminoácidos al terminal N de la amina secundaria, se usó el "procedimiento de acoplamiento doble" descrito a continuación. El acoplamiento de cloroacetilcloruro al terminal N del péptido se describe mediante el "procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo" que se detalla a continuación.

Procedimiento de expansión de resina:

A un recipiente de reacción de polipropileno en fase sólida de 10 ml, se le añadió resina Merrifield:Rink (178 mg, 0,100 mmol). La resina se lavó (expandió) tres veces de la siguiente manera: al recipiente de reacción, se añadió DMF (2,0 ml), después de lo cual la mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos antes de que el disolvente drenara a través de la frita.

Procedimiento de acoplamiento simple:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción se le añadió DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq), después anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Acoplamiento simple para el ácido -(S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico:

El acoplamiento se realizó como se describió anteriormente, solo se usó un tiempo de agitación de 30 min.

Procedimiento de acoplamiento doble:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior),

y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió el aminoácido (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.), después HATU (0,2 M en DMF, 1,0 ml, 2 eq.) y finalmente DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq.). La mezcla se agitó periódicamente durante 15 minutos, y después la solución de reacción drenó a través de la frita. La resina se lavó dos veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción se le añadió DIPEA (0,4 M en DMF, 1,0 ml, 4 eq), después anhídrido acético (2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 10 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

Procedimiento de acoplamiento a cloruro de cloroacetilo:

Al recipiente de reacción que contenía la resina de la etapa previa, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. Al recipiente de reacción, se le añadió piperidina:DMF (20:80 v/v, 2,0 ml). La mezcla se agitó periódicamente durante 3 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente seis veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 30 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. Al recipiente de reacción se le añadió DIPEA (0,4 M en DMF, 3,0 ml, 24 eq), después cloruro de cloroacetilo (0,8 M en DMF, 1,5 ml, 13,2 eq). La mezcla se agitó periódicamente durante 30 minutos, y después la solución drenó a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente tres veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió DMF (2,0 ml) a la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina se lavó sucesivamente cuatro veces de la siguiente manera: para cada lavado, se añadió CH_2Cl_2 (2,0 ml) a través de la parte superior del recipiente (no a través de la frita de la parte inferior), y la mezcla resultante se agitó periódicamente durante 90 segundos antes de que la solución drenara a través de la frita. La resina resultante se colocó en un flujo de N_2 durante 15 minutos, después de lo cual la resina se tornó rígida y fácilmente manipulable.

Procedimiento de desprotección global:

Se preparó una "solución de desprotección" combinando, en un vial de vidrio de 40 ml, ácido trifluoroacético (22 ml), fenol (1,325 g), agua (1,25 ml) y trisopropilsilano (0,5 ml). La resina se retiró del recipiente de reacción y se transfirió a un vial de vidrio de 4 ml. Al vial se le añadió la "solución de desprotección" (2,0 ml). La mezcla se mezcló vigorosamente en un agitador (1000 RPM durante 1 minuto, después 500 RPM durante 1,5 horas). La mezcla se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,2 micrómetros en un tubo de ensayo de 18 X 150 mm, y los sólidos se extrajeron con una segunda porción de la "solución de desprotección" (1,0 ml). Los filtrados combinados, en el tubo de ensayo de 18 X 150 mm, se diluyeron con Et_2O (15 ml), después de lo cual precipitó una cantidad considerable de un sólido blanco. La mezcla se centrifugó durante 2 minutos, después una solución se decantó. Los sólidos se suspendieron en Et_2O (20 ml); la mezcla se centrifugó durante 5 minutos; y la solución se decantó. Durante un tiempo final, los sólidos se suspendieron en Et_2O (20 ml); la mezcla se centrifugó durante 5 minutos; y la solución se decantó.

Procedimiento de ciclación:

Los sólidos se disolvieron en 20 ml de $\text{MeCN}:\text{NH}_4\text{OAc}$ 0,1 M (1:1), y la solución se ajustó cuidadosamente a pH = 8,5-9,0 usando NaOH ac. (1,0 M). La solución después se dejó reposar (no fue necesario agitar) durante la noche (aplic. 18 h). Se añadió 1 ml de DMSO, y la solución de reacción se concentró en un evaporador centrífugo SpeedVac durante la noche con calentamiento leve. Se añadió aproximadamente 1 ml de MeOH al residuo, y la solución resultante se purificó mediante el método descrito en los ejemplos individuales. Como un procedimiento de ciclación alternativo, el material obtenido de una reacción a escala de 0,1 mmol se absorbió en ~20 ml de MeOH que contenía ~5 gotas de base de Hunig (pH ~10). Esto se dejó reposar a temperatura ambiente sin agitación durante la noche. Los disolventes se eliminaron al vacío, y el residuo se purificó como se describió en los ejemplos individuales.

Procedimiento general para la formación de triazol para los Ejemplos 13051-13077, 13120-13128, 13141-13164 y 14121-14126:

A una solución (o en algunos casos, una suspensión) de los componentes alquino y azida en 1:1 de agua:tBuOH (~0,016 M) se le añadieron 1,3 eq. (vs. péptido) de sodio (R)-2-((S)-1,2-dihidroxietil)-4-hidroxi-5-oxo-2,5-dihidrofuran-3-olato. Después se añadieron 0,2 eq. (vs. péptido) de CuSO_4 (como 0,05 mg/ μl de una solución acuosa), y la solución

resultante se agitó a temperatura ambiente durante ~18 h. La mezcla se inyectó directamente en una HPLC preparativa, como se describió en los ejemplos específicos.

Procedimiento general de formación de triazol para los Ejemplos 14051-14102:

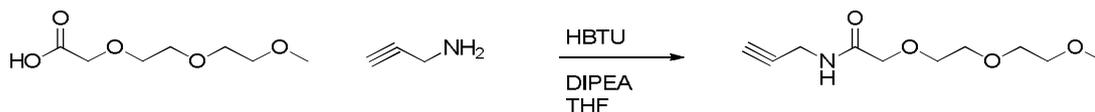
La mezcla de INT-1400J (48 mg, 0,023 mmol), 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (17,64 mg, 0,028 mmol), (R)-2-((S)-1,2-dihidroxietil)-4-hidroxi-5-oxo-2,5-dihidrofuran-3-olato de sodio (6,39 mg, 0,032 mmol) y sulfato de cobre(II) pentahidrato (2,290 mg, 9,17 μ mol) en t-BuOH (459 μ l) / agua (459 μ l) se agitó a temperatura ambiente durante la noche.

Preparación de resina de Fmoc-(S)-propargilglicin-2-clorotritilo

A una solución de ácido 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)pent-4-inoico (0,671 g, 2,000 mmol) en 3 ml de DMF y 20 ml de DCM, se le añadió DIPEA (1,397 ml, 8,00 mmol). La solución resultante se añadió a 2,0 g de resina de cloruro de clorotritilo (1,2 meq/g), y la mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Los disolventes se filtraron, y la resina se tapó con 17:2:1 de DCM/MeOH/DIPEA (que se agitó con 10 ml de la solución durante 15 minutos, y después se filtró). Esto se repitió dos veces más. La resina se lavó dos veces con DCM, 4 veces con DMF y 6 veces con DCM. (cada ciclo fue de ~10 min, seguido de filtración (embudo Buchner). La resina se secó en N₂, lo cual produjo 2,2 g de resina, 0,9 mmol/g de carga estimada.

Preparación de 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)-N-(prop-2-in-1-il)acetamida

Esquema:



A una solución de ácido 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acético (1,53 g, 8,59 mmol) en THF (28,6 ml), se le añadieron prop-2-in-1-amina (0,660 ml, 10,30 mmol) y DIPEA (3,00 ml, 17,17 mmol). Después se añadió HBTU (3,91 g, 10,30 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de ~1,5 h, la CL/EM indicó que la reacción había avanzado hasta casi completarse. El disolvente decantó del precipitado blanco y se concentró al vacío. El residuo se absorbió en EtOAc, después se extrajo con NaHCO₃ para retirar cualquier ácido sin reaccionar. La capa orgánica después se extrajo dos veces con HCl 0,1 M para retirar el exceso de base. Los extractos orgánicos después se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se aplicó a gel de sílice (40 g) y se eluyó con CH₂Cl₂ (60 ml), después un gradiente a 25 % de acetona/ CH₂Cl₂ durante 600 ml, y finalmente un mantenimiento a 25 % de acetona/ CH₂Cl₂ durante 300 ml. Las fracciones adecuadas se combinaron para obtener 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)-N-(prop-2-in-1-il)acetamida (102,2 mg, 0,475 mmol, 5,53 % de rendimiento). RMN ¹H (500 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,41 (s a, 1H), 4,11 (dd, J=5,6, 2,6 Hz, 2H), 4,05 (s, 2H), 3,74 - 3,67 (m, 6H), 3,63 - 3,60 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 2,23 (t, J=2,5 Hz, 1H).

Preparación de N-(prop-2-in-1-il)estearamida

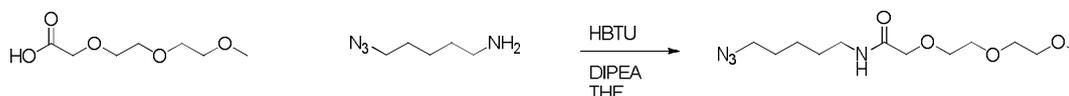
Esquema:



A una solución de cloruro de tetradecanoilo (200 mg, 0,810 mmol) en tetrahidrofurano (2026 μ l), se le añadió prop-2-in-1-amina (208 μ l, 3,24 mmol). Después del fin de semana, el producto deseado se descubrió mediante CL/EM. El exceso de disolvente se retiró al vacío, y se añadió agua. El pH se ajustó a ~10 con NaOH 1 M, y la mezcla se extrajo 3 veces en CH₂Cl₂. Los extractos orgánicos combinados se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La cromatografía con un gradiente de EtOAc/hexano produjo el material deseado. RMN ¹H (500 MHz, CLOROFORMO-d) δ 5,57 (s a, 1H), 4,08 (dd, J=5,3, 2,5 Hz, 2H), 2,25 (t, J=2,6 Hz, 1H), 2,23 - 2,19 (m, 2H), 1,65 (m, 6H), 1,31 (m, 24H), 0,92 - 0,87 (m, 3H).

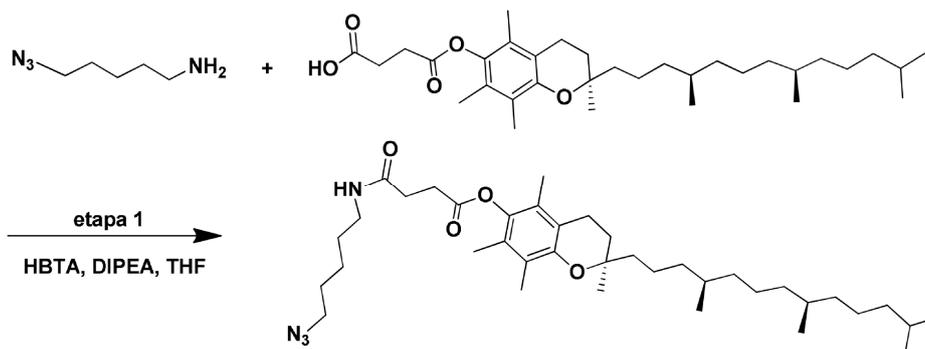
Preparación de N-(5-azidopentil)-2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acetamida

Esquema:



A una solución de ácido 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)acético (400 mg, 2,245 mmol) en THF (7483 µl), se le añadieron 5-azidopentan-1-amina (317 mg, 2,469 mmol) y DIPEA (784 µl, 4,49 mmol). Después se añadió HBTU (936 mg, 2,469 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de ~1,5 h, la CL/EM indicó que la reacción había avanzado hasta casi completarse. El disolvente decantó del precipitado blanco y se concentró al vacío. El residuo se absorbió en EtOAc, después se extrajo con NaHCO₃ para retirar cualquier ácido sin reaccionar. La capa orgánica después se extrajo dos veces con HCl 0,1 M para retirar el exceso de base. Los extractos orgánicos después se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El material se usó en el estado en el cual se encontraba para otros procesos químicos. CL/EM: (M+H)⁺ = 289,15.

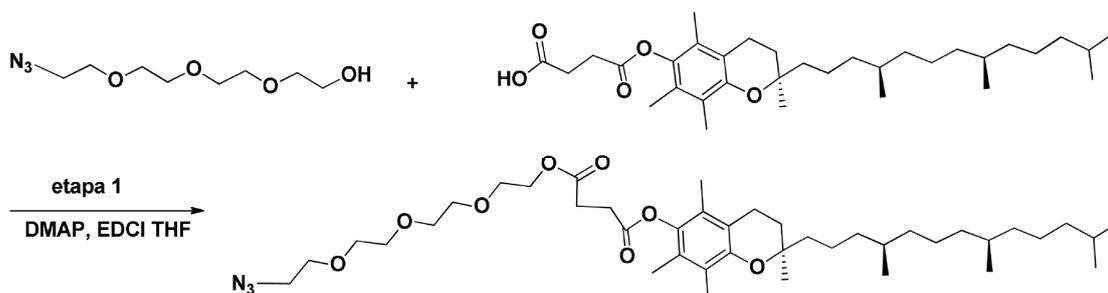
10 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo



Etapa 1: Preparación de 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo

15 La mezcla de 5-azidopentan-1-amina (0,320 g, 2,419 mmol), succinato de vitamina E (1,07 g, 2,016 mmol), DIPEA (0,704 ml, 4,03 mmol) y HBTU (0,765 g, 2,016 mmol) en THF (6,72 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (gel de sílice, 300 g, 0 a 20 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (1,29 g, 2,013 mmol, 100 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 4,87 min; IEN-EM(+) *m/z* 641,4 (M + H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 3,26 - 3,15 (m, 4H), 2,95 (t, *J*=6,7 Hz, 2H), 2,62 (dt, *J*=12,8, 6,6 Hz, 4H), 2,13 - 2,06 (m, 3H), 1,99 - 1,96 (m, 3H), 1,84 - 1,81 (m, 3H), 1,90 - 1,76 (m, 2H), 1,69 - 1,02 (m, 30H), 0,98 - 0,79 (m, 12H)

25 ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il)succinato de 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etilo

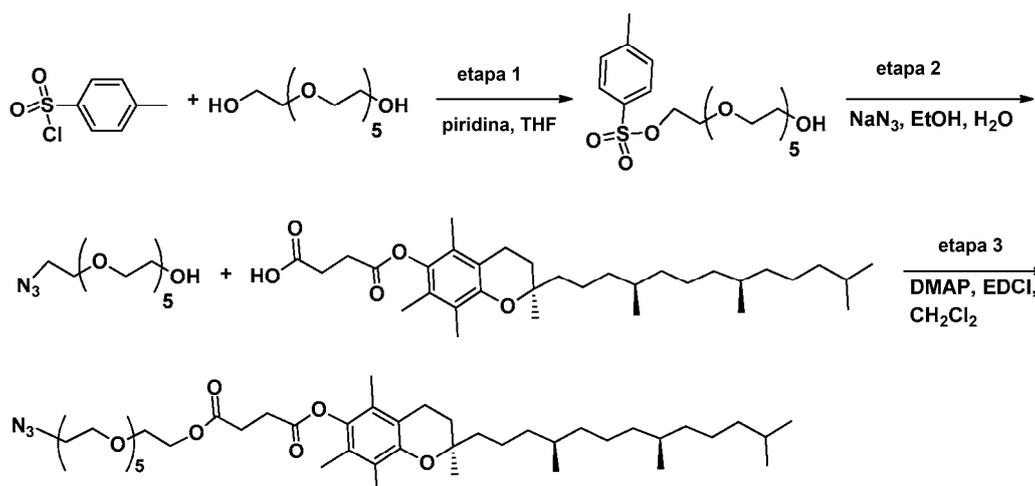


30 Etapa 1: Preparación de ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato de 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etilo

35 La mezcla de 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etanol en *t*-butilmetil éter (3,77 ml, 1,884 mmol), succinato de vitamina E (1,0 g, 1,884 mmol), DMAP (0,092 g, 0,754 mmol) y EDCI (1,138 g, 5,93 mmol) en CH₂Cl₂ (11,35 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (gel de sílice, 300 g, 0 a 20 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (1,37 g, 1,872 mmol, 99 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,18 min; IEN-EM(+) *m/z* 732,5 (M + H)⁺ RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,31 - 4,21 (m, 2H), 3,74 - 3,60 (m, 12H), 3,38 - 3,34 (m, 2H), 2,95 (dd, *J*=7,5, 5,3 Hz, 2H), 2,78 (dd, *J*=7,4, 5,4 Hz, 2H), 2,64 (t, *J*=6,8 Hz, 2H), 2,12 - 2,07 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,99 - 1,94 (m, 3H), 1,90 - 1,75 (m, 2H), 1,66 - 1,03 (m, 24H), 0,94 - 0,83 (m, 12H)

((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il)succinato de 17-azido-3,6,9,12,15-

pentaoxaheptadecilo

5 *Etapa 1: Preparación de 4-metilbencensulfonato de 17-hidroxi-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecilo:*

Se disolvió 3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1,17-diol (8 g, 28,3 mmol) en THF (30 ml). Se añadió piridina (7,13 ml, 88 mmol) a la mezcla, y después cloruro de 4-metilbencen-1-sulfonilo (5,41 g, 28,4 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla se concentró mediante un evaporador giratorio. El residuo resultante se disolvió en diclorometano, se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Las capas acuosas combinadas se volvieron a extraer con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron dos veces con ácido clorhídrico 1 N y una vez con salmuera. Los orgánicos se secaron en MgSO₄, se filtraron, se concentraron hasta secarse para obtener 4-metilbencensulfonato de 17-hidroxi-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecilo (5,10 g, 11,68 mmol, 41,2 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 1,37 min; IEN-EM(+) *m/z* 437,3 (M + H)⁺

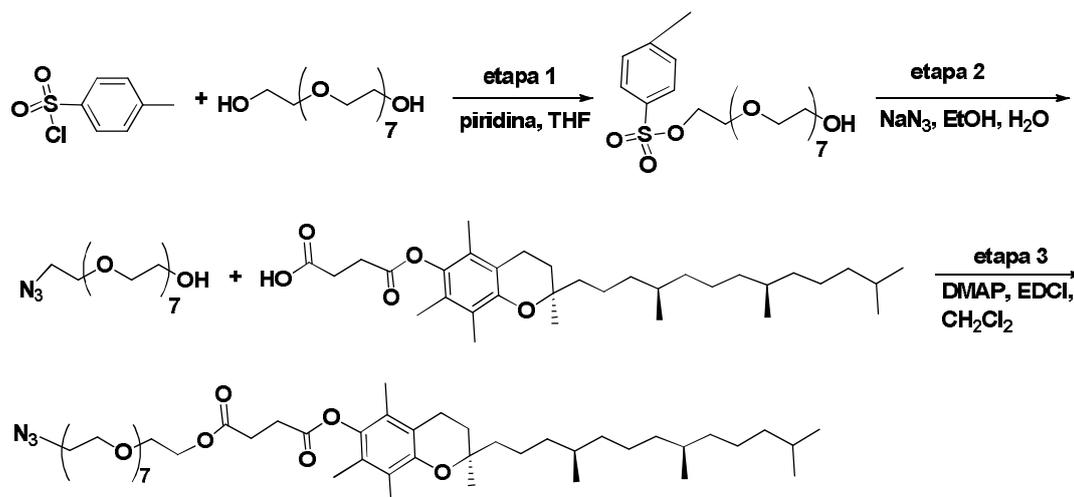
Etapa 2: Preparación de 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol

Se disolvió 4-metilbencensulfonato de 17-hidroxi-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecilo (5,10 g, 11,68 mmol) en EtOH (37,4 ml). Se añadió azida de sodio (2,97 g, 45,7 mmol) a la mezcla, y después agua (1,498 ml). La mezcla se calentó a reflujo y se mantuvo en agitación durante 15 horas. La mezcla de reacción turbia se concentró mediante un evaporador giratorio. El residuo se trató con agua. La mezcla se extrajo dos veces con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron dos veces con bicarbonato de sodio acuoso. Los orgánicos se secaron en MgSO₄, se filtraron y después se concentraron hasta secarse. El residuo se purificó mediante Biotage (Silíce; 300 g; 0 a 9 % D MeOH / diclorometano durante 2400 ml). Todo el efluente se recolectó en tubos de cultivo de 16 x 150. Las fracciones de los picos principales, determinadas mediante TLC (silíce; 5 % de MeOH-CH₂Cl₂; cámara de yodo), se aislaron y se concentraron hasta secarse. Se obtuvo 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol (3,08 g, 10,02 mmol, 86 % de rendimiento) como un aceite incoloro transparente. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 1,19 min; IEN-EM(+) *m/z* 330,2 (M + Na); RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 3,73 - 3,61 (m, 20H), 3,60 - 3,55 (m, 2H), 3,39 (t, J=4,9 Hz, 2H).

Etapa 3: Preparación de 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol

La mezcla de 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol (0,579 g, 1,884 mmol), succinato de vitamina E (1,0 g, 1,884 mmol), DMAP (0,092 g, 0,754 mmol) y EDCl (1,138 g, 5,93 mmol) en CH₂Cl₂ (11,35 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (SG, 300 g, 0 a 40 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (1,20 g, 1,463 mmol, 78 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,50 min; IEN-EM(+) *m/z* 842,6 (M + Na). RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,31 - 4,23 (m, 2H), 3,73 - 3,70 (m, 2H), 3,69 - 3,59 (m, 18H), 3,40 - 3,30 (m, 2H), 2,98 - 2,91 (m, 2H), 2,80 - 2,75 (m, 2H), 2,64 (t, J=6,8 Hz, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,89 - 1,76 (m, 2H), 1,61 - 1,50 (m, 4H), 1,48 - 1,01 (m, 20H), 0,94 - 0,83 (m, 12H).

((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato de 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilo



Etapa 1: Preparación de 4-metilbencensulfonato de 23-hidroxi-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilo:

- 5 Se disolvió 3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilol-1,23-diol (5,5 g, 14,85 mmol) en THF (30 ml). Se añadió piridina (3,73 ml, 46,2 mmol) a la mezcla, y después cloruro de 4-metilbencen-1-sulfonilo (2,84 g, 14,88 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró mediante un evaporador giratorio. El residuo se disolvió en diclorometano, se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Las capas acuosas combinadas se volvieron a extraer con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron dos veces con ácido clorhídrico 1 N y una vez con salmuera. Los orgánicos se secaron en MgSO₄, se filtraron, se concentraron hasta secarse para obtener 4-metilbencensulfonato de 23-hidroxi-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilo (2,58 g, 4,92 mmol, 33,1 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 1,41 min; IEN-EM(+) *m/z* 525,3 (M + H)⁺

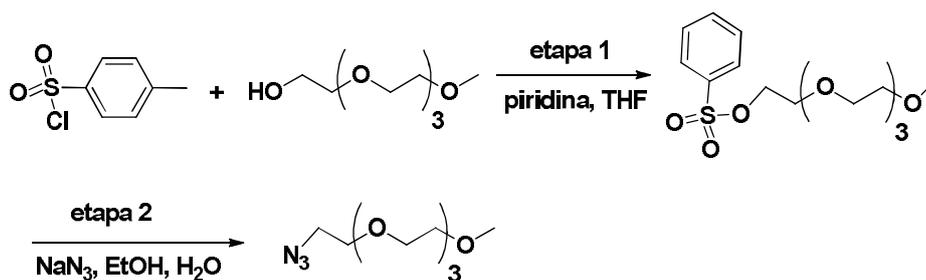
15 **Etapa 2: Preparación de 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilol-1-ol**

- Se disolvió 4-metilbencensulfonato de 23-hidroxi-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilo (2,58 g, 4,92 mmol) en EtOH (15,76 ml). Se añadió azida de sodio (1,250 g, 19,23 mmol) a la mezcla, y después agua (0,630 ml). La mezcla se calentó a reflujo y se mantuvo en agitación durante 15 horas. La mezcla de reacción turbia se concentró mediante un evaporador giratorio. El residuo se trató con agua. El material se extrajo dos veces con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron dos veces con bicarbonato de sodio acuoso. Los orgánicos se secaron en MgSO₄, se filtraron y después se concentraron hasta secarse. El residuo se purificó mediante Biotage (Sílice; 300 g; 0 a 10 % de MeOH / diclorometano durante 2400 ml). Todo el efluente se recolectó en tubos de cultivo de 16 x 150. Las fracciones de los picos principales, determinadas mediante TLC (sílice; 5 % de MeOH-CH₂Cl₂; cámara de yodo), se aislaron y se concentraron hasta secarse. Se obtuvo 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilol-1-ol (1,55 g, 3,92 mmol, 80 % de rendimiento) como un aceite incoloro transparente. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 1,18 min; IEN-EM(+) *m/z* 396,3 (M + H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 3,75 - 3,60 (m, 28H), 3,60 - 3,54 (m, 2H), 3,43 - 3,37 (m, 2H).

30 **Etapa 3: Preparación de 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol**

- La mezcla de 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilol-1-ol (0,745 g, 1,884 mmol), succinato de vitamina E (1,0 g, 1,884 mmol), DMAP (0,092 g, 0,754 mmol) y EDCI (1,138 g, 5,93 mmol) en CH₂Cl₂ (11,35 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (SG, 300 g, 0 a 50 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilol ((*R*)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4*R*,8*R*)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (0,77 g, 0,848 mmol, 45,0 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) *m/z* 908,9 (M + H)⁺ RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 4,30 - 4,23 (m, 2H), 3,77 - 3,56 (m, 28H), 3,42 - 3,35 (m, 2H), 2,96 (dd, *J*=7,5, 5,3 Hz, 2H), 2,84 - 2,73 (m, 2H), 2,64 (t, *J*=6,8 Hz, 2H), 2,09 (s, 3H), 2,00 (d, *J*=17,1 Hz, 6H), 1,83 (dq, *J*=18,4, 6,7 Hz, 2H), 1,64 - 1,04 (m, 24H), 0,97 - 0,79 (m, 12H).

((*R*)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4*R*,8*R*)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato de 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaotricosilo



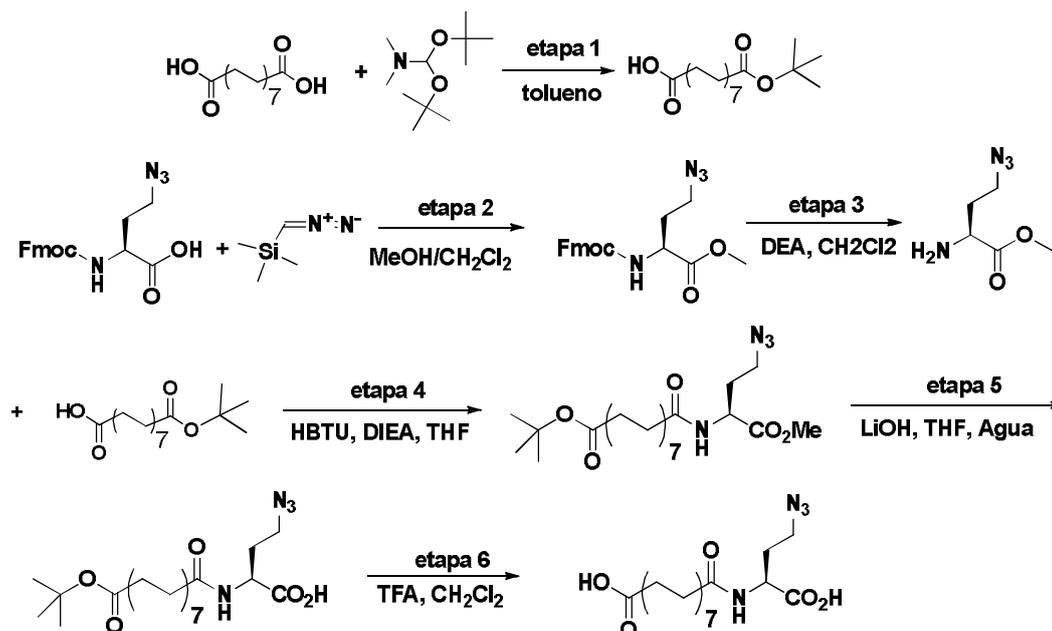
Etapa 1: Preparación de 4-metilbencensulfonato de 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-ilo

- 5 Se disolvió 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-ol (5,0 g, 24,01 mmol) en THF (20,01 ml). Se añadió piridina (5,83 ml, 72,0 mmol) a la mezcla, y después cloruro de 4-metilbencen-1-sulfonilo (5,49 g, 28,8 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró mediante un evaporador giratorio. El residuo se disolvió en diclorometano. El material se lavó dos veces con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Las capas acuosas combinadas se volvieron a extraer con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron dos veces con ácido clorhídrico 1 N y una vez con salmuera. Los orgánicos se secaron en MgSO₄, se filtraron y después se concentraron hasta secarse para obtener 4-metilbencensulfonato de 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-ilo (4,12 g, 11,37 mmol, 47,3 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba.

Etapa 2: Preparación de 13-azido-2,5,8,11-tetraoxatridecano

- 15 Se disolvió 4-metilbencensulfonato de 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-ilo (4,12 g, 11,37 mmol) en EtOH (18,22 ml). Se añadió azida de sodio (1,478 g, 22,73 mmol) a la mezcla, y después agua (0,729 ml). La mezcla se calentó a reflujo y se mantuvo en agitación durante 15 horas. La mezcla de reacción turbia se concentró mediante un evaporador giratorio. El residuo se trató con agua. El material se extrajo dos veces con diclorometano. Los orgánicos combinados se lavaron dos veces con bicarbonato de sodio acuoso. Los orgánicos se secaron en MgSO₄, se filtraron y después se concentraron hasta secarse. El residuo se purificó mediante Biotage (Sílice; 300 g; 0 a 9 % D MeOH / diclorometano durante 2400 ml). Todo el efluente se recolectó en tubos de cultivo de 16 x 150. Las fracciones de los picos principales, determinadas mediante TLC (sílice; 5 % de MeOH-CH₂Cl₂; cámara de yodo), se aislaron y se concentraron hasta secarse. Se obtuvo 13-azido-2,5,8,11-tetraoxatridecano (1,17 g, 5,02 mmol, 44,1 % de rendimiento) como un aceite incoloro transparente. [M+H]⁺ a m/z 234, y aducto de sodio [M+Na]⁺ a m/z 256; RMN ¹H (400 MHz, METANOL-d₄) δ 3,74 - 3,60 (m, 12H), 3,58 - 3,53 (m, 2H), 3,43 - 3,35 (m, 5H).

Ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico



30

Etapa 1: Preparación de ácido 16-(terc-butoxi)-16-oxohexadecanoico

Se suspendió ácido hexadecandioico (4,5 g, 15,71 mmol) en tolueno (28,1 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Se

añadió por goteo 1,1-di-*terc*-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (10,10 ml, 42,1 mmol) durante 30 min. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró al vacío a 50 °C, y el material en bruto se suspendió en CH₂Cl₂/EtOAc (75 ml. 1:1) y se agitó durante 15 min. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con CH₂Cl₂ (25 ml). La filtración se evaporó al vacío. El material resultante se suspendió en CH₂Cl₂ (6 ml), se enfrió con hielo durante 10 min y se filtró. El disolvente se retiró al vacío para dejar el producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, EtOAc/hexano) para obtener ácido 16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanoico (2,56 g, 7,47 mmol, 47,6 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) *m/z* 269,3 [M - OC(CH₃)₃]; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 2,33 - 2,18 (m, 4H), 1,66 - 1,54 (m, 4H), 1,50 - 1,43 (m, 9H), 1,40 - 1,25 (m, 20H).

10 *Etapas 2: Preparación de 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo*

A una mezcla de ácido (2S)-N-FMOC-4-azido-butanoico (1,0 g, 2,73 mmol) en MeOH (4,21 ml) / CH₂Cl₂ (12,64 ml), se le añadió (trimetilsilil)diazometano en dietiléter (2,047 ml, 4,09 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para obtener 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo, que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,81 (d, *J*=7,6 Hz, 2H), 7,73 - 7,63 (m, 2H), 7,47 - 7,22 (m, 4H), 4,41 (d, *J*=6,7 Hz, 2H), 4,35 - 4,17 (m, 2H), 3,82 - 3,70 (m, 3H), 3,49 - 3,34 (m, 2H), 2,21 - 2,04 (m, 1H), 1,97 - 1,80 (m, 1H).

20 *Etapas 3: Preparación de 4-azido-2-((terc-butoxicarbonil)amino)butanoato de (S)-metilo*

La mezcla de 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo (1,038 g, 2,73 mmol) y dietilamina (4,0 ml, 38,3 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La CLEM mostró la desaparición del material de inicio y la formación de producto junto con picos relacionados con FMOC. Se concentró, y el producto resultante se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 3,85 - 3,69 (m, 3H), 3,63 - 3,52 (m, 1H), 3,51 - 3,40 (m, 2H), 2,05 - 1,91 (m, 1H), 1,88 - 1,76 (m, 1H).

30 *Etapas 4: Preparación de 16-((4-azido-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)amino)-16-oxohexadecanoato de (S)-terc-butilo*

La mezcla de 2-amino-4-azidobutanoato de (S)-metilo (0,432 g, 2,73 mmol), ácido 16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanoico (0,935 g, 2,73 mmol), DIPEA (1,907 ml, 10,92 mmol) y HBTU (1,035 g, 2,73 mmol) en THF (27,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (SG, 300 g, 0 a 10 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener 16-((4-azido-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)amino)-16-oxohexadecanoato de (S)-*terc*-butilo (1,3 g, 2,69 mmol, 99 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,62 min; IEN-EM(+) *m/z* 483,3 (M+H)⁺

40 *Etapas 5: Preparación de ácido (S)-4-azido-2-(16-(terc-butoxi)-16-oxohexadecanamido)butanoico*

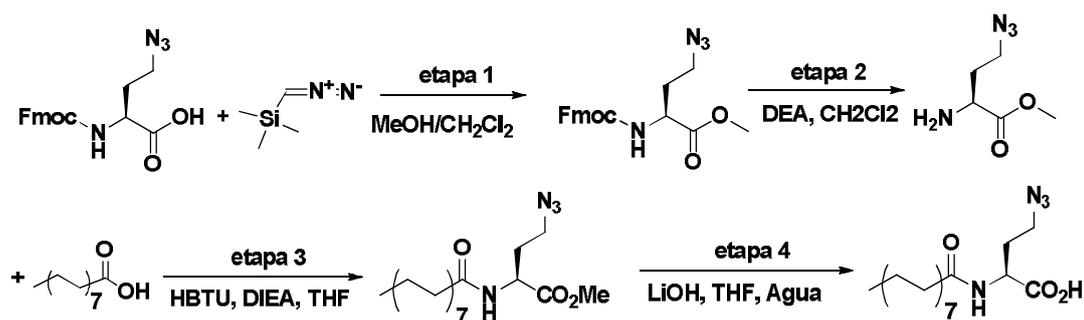
Se disolvió 16-((4-azido-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)amino)-16-oxohexadecanoato de (S)-*terc*-butilo (1,3 g, 2,69 mmol) en THF (13,47 ml), y después se añadieron LiOH (0,323 g, 13,47 mmol) y agua (13,47 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse. El ácido (S)-4-azido-2-(16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)butanoico resultante se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba.

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,56 min; IEN-EM(+) *m/z* 469,4 (M+H)⁺

45 *Etapas 6: Preparación de ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico*

La mezcla de ácido (S)-4-azido-2-(16-(*terc*-butoxi)-16-oxohexadecanamido)butanoico (1261 mg, 2,69 mmol) y TFA (3 ml, 38,9 mmol) en DCM (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 10 min y detención a 12 min) para obtener ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (326 mg, 0,790 mmol, 29,4 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,30 min; IEN-EM(+) *m/z* 413,3 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,52 (dd, *J*=9,3, 4,7 Hz, 1H), 3,53 - 3,35 (m, 2H), 2,34 - 2,21 (m, 4H), 2,19 - 2,07 (m, 1H), 1,99 - 1,84 (m, 1H), 1,63 (dquin, *J*=14,1, 7,1 Hz, 4H), 1,48 - 1,17 (m, 20H).

4-azido-2-palmitamidobutanoato de (S)-metilo



Etapa 1: Preparación de 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo

- 5 A una mezcla de ácido (2S)-N-FMOC-4-azido-butanoico (1,0 g, 2,73 mmol) en MeOH (4,21 ml) / CH₂Cl₂ (12,64 ml), se le añadió (trimetilsilil)diazometano en dietiléter (2,047 ml, 4,09 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para obtener 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo, que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,81 (d, J=7,6 Hz, 2H), 7,73 - 7,63 (m, 2H), 7,47 - 7,22 (m, 4H), 4,41 (d, J=6,7 Hz, 2H), 4,35 - 4,17 (m, 2H), 3,82 - 3,70 (m, 3H), 3,49 - 3,34 (m, 2H), 2,21 - 2,04 (m, 1H), 1,97 - 1,80 (m, 1H).

Etapa 2: Preparación de 4-azido-2-((terc-butoxicarbonil)amino)butanoato de (S)-metilo

- 15 La mezcla de 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo (1,038 g, 2,73 mmol) y dietilamina (4,0 ml, 38,3 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La CLEM mostró la desaparición del material de inicio y la formación de producto junto con picos relacionados con FMOc. Se concentró, y el producto resultante se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 3,85 - 3,69 (m, 3H), 3,63 - 3,52 (m, 1H), 3,51 - 3,40 (m, 2H), 2,05 - 1,91 (m, 1H), 1,88 - 1,76 (m, 1H).

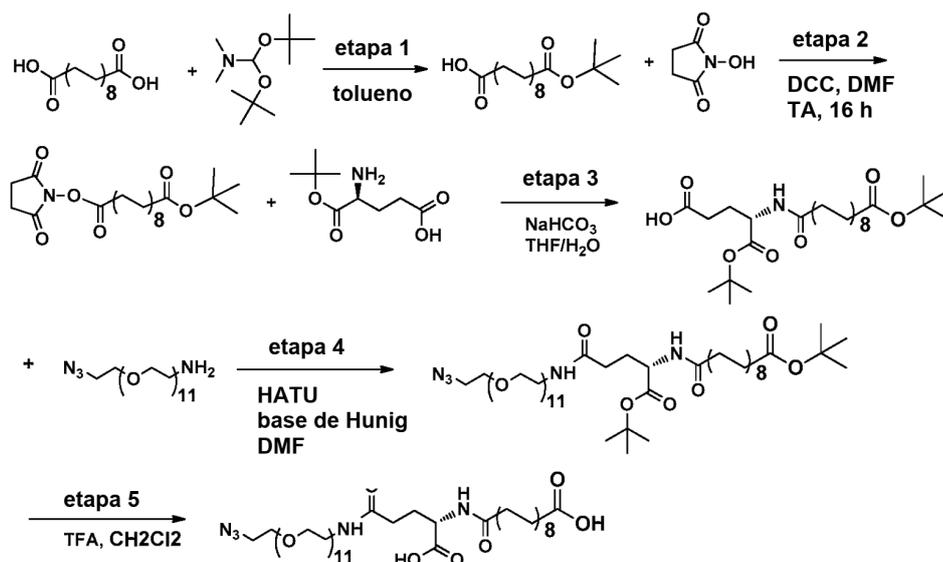
20 *Etapa 3: Preparación de 4-azido-2-palmitamidobutanoato de (S)-metilo*

- 25 La mezcla de 2-amino-4-azidobutanoato de (S)-metilo, TFA (544 mg, 2,00 mmol), ácido palmítico (513 mg, 2,000 mmol), DIPEA (1397 µl, 8,00 mmol) y HBTU (758 mg, 2,000 mmol) en THF (6667 µl) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (SG, 300 g, 0 a 85 % de EtOAc / hexano) para obtener 4-azido-2-palmitamidobutanoato de (S)-metilo (477 mg, 1,203 mmol, 60,1 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,75 min; IEN-EM(+) m/z 397,3 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,53 (dd, J=9,2, 5,0 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,51 - 3,35 (m, 2H), 2,31 - 2,22 (m, 2H), 2,15 - 2,06 (m, 1H), 1,97 - 1,86 (m, 1H), 1,70 - 1,57 (m, 2H), 1,41 - 1,28 (m, 24H), 0,94 - 0,84 (m, 3H).

30 *Etapa 4: Preparación de 4-azido-2-palmitamidobutanoato de (S)-metilo*

- 35 Se disolvió 4-azido-2-palmitamidobutanoato de (S)-metilo (477 mg, 1,203 mmol) en THF (6014 µl), y después se añadieron LiOH (144 mg, 6,01 mmol) y agua (6014 µl). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse. Se diluyó el residuo con agua y se añadió HCl 1 N hasta acidificarlo. Se extrajo con CH₂Cl₂ (x 3). La capa orgánica se recolectó, se secó en MgSO₄, se filtró y se concentró para obtener ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (440 mg, 1,150 mmol, 96 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,71 min; IEN-EM(+) m/z 383,3 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,56 - 4,47 (m, 1H), 3,52 - 3,34 (m, 2H), 2,32 - 2,22 (m, 2H), 2,14 (dddd, J=14,3, 7,8, 6,9, 4,9 Hz, 1H), 2,01 - 1,86 (m, 1H), 1,72 - 1,56 (m, 2H), 1,49 - 1,12 (m, 24H), 1,01 - 0,80 (m, 3H).

- 40 *Ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-36,41-diazanonapentacontan-59-oico*



Etapa 1: Preparación de ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico

- 5 Se suspendió ácido octadecanoico (7,5 g, 23,85 mmol) en tolueno (42,6 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Se añadió por goteo 1,1-di-*tert*-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (15,33 ml, 63,9 mmol) durante 30 min. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró al vacío a 50 °C, y el material en bruto se suspendió en CH₂Cl₂/EtOAc (110 ml. 1:1) y se agitó durante 15 min. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con CH₂Cl₂ (40 ml). La filtración se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SG, 0 a 25 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (3,95 g, 10,66 mmol, 44,7 % de rendimiento).

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) *m/z* 297,3 [M - OC(CH₃)₃]

RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 2,29 (t, *J*=7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, *J*=7,4 Hz, 2H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,50 - 1,42 (m, 9H), 1,40 - 1,25 (m, 24H).

15

Etapa 2: Preparación de 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*tert*-butilo

- 20 Se añadió DCC (5,11 ml, 5,11 mmol) a una solución de ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (1,72 g, 4,64 mmol) y 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona (0,588 g, 5,11 mmol) en DMF (48 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró para obtener 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*tert*-butilo, que se usó en el estado en el cual se encontraba en la siguiente etapa.

Etapa 3: Preparación de ácido (S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico

- 25 Se añadió agua (5,80 ml) a una mezcla de ácido (S)-4-amino-5-(*tert*-butoxi)-5-oxopentanoico (1,038 g, 5,11 mmol), 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*tert*-butilo (2,171 g, 4,64 mmol), bicarbonato de sodio (0,468 g, 5,57 mmol) en THF (17,41 ml). La solución transparente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se retiró todo el THF, se añadió HCl (6,04 ml, 6,04 mmol), y el pH se ajustó a 2-3 a 0 °C. La suspensión resultante se extrajo con CH₂Cl₂ (x3). La capa orgánica se concentró. El producto en bruto resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (acetona / CH₂Cl₂ 0 a 25 %) para obtener ácido (S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (2,29 g, 4,12 mmol, 89 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,74 min; IEN-EM(+) *m/z* 555,6 (M+H)⁺
- 30 RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 4,32 (dd, *J*=9,0, 5,3 Hz, 1H), 2,45 - 2,33 (m, 2H), 2,30 - 2,06 (m, 5H), 1,99 - 1,82 (m, 3H), 1,78 - 1,53 (m, 2H), 1,53 - 1,44 (m, 18H), 1,44 - 1,26 (m, 24H).

35

Etapa 4: Preparación de 1-azido-40-(*tert*-butoxicarbonyl)-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaaza-36,41-diazanonapentacontan-59-oato de (S)-*tert*-butilo

- 40 A una solución de ácido (S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (438 mg, 0,789 mmol) en DMF (1593 μl), se le añadieron base de Hunig (275 μl, 1,577 mmol) y HATU (400 mg, 1,051 mmol). Después se añadió 35-azido-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxapentatriacontan-1-amina (300 mg, 0,526 mmol), y la solución se agitó a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante la noche.

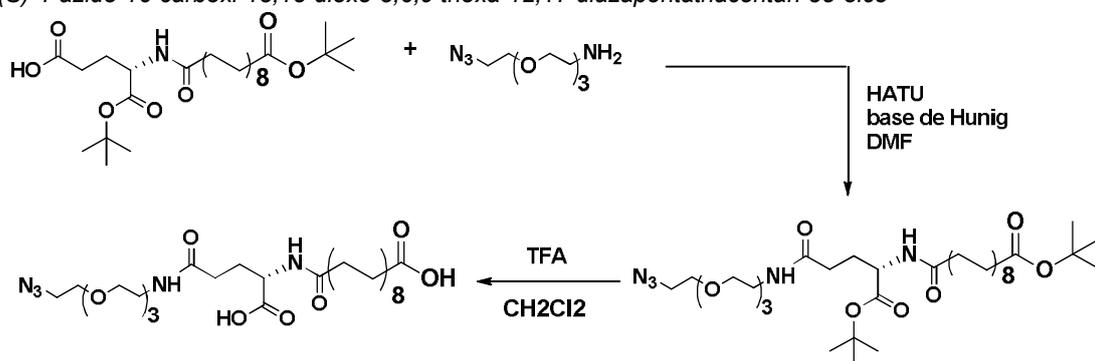
- 45 La mezcla se vertió en agua y se extrajo 3 veces en CH₂Cl₂. Los extractos orgánicos combinados se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener 1-azido-40-(*tert*-butoxicarbonyl)-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaaza-36,41-diazanonapentacontan-59-oato de (S)-*tert*-butilo, que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,84 min; IEN-

EM(+) m/z 1109,1 (M+H)⁺

Etapa 5: Preparación de ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico

5 La mezcla de 1-azido-40-(*tert*-butoxicarbonil)-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oato de (*S*)-*tert*-butilo (280 mg, 0,253 mmol) y TFA (3 ml, 38,9 mmol) en DCM (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 10 min y detención a 12 min) para obtener ácido (*S*)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (124 mg, 0,124 mmol, 49,3 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,43 min; IEN-EM(+) m/z 996,9 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 4,44 - 4,35 (m, 1H), 3,84 - 3,27 (m, 48H), 2,39 - 2,11 (m, 7H), 2,04 - 1,87 (m, 1H), 1,71 - 1,55 (m, 4H), 1,44 - 1,18 (m, 24H).

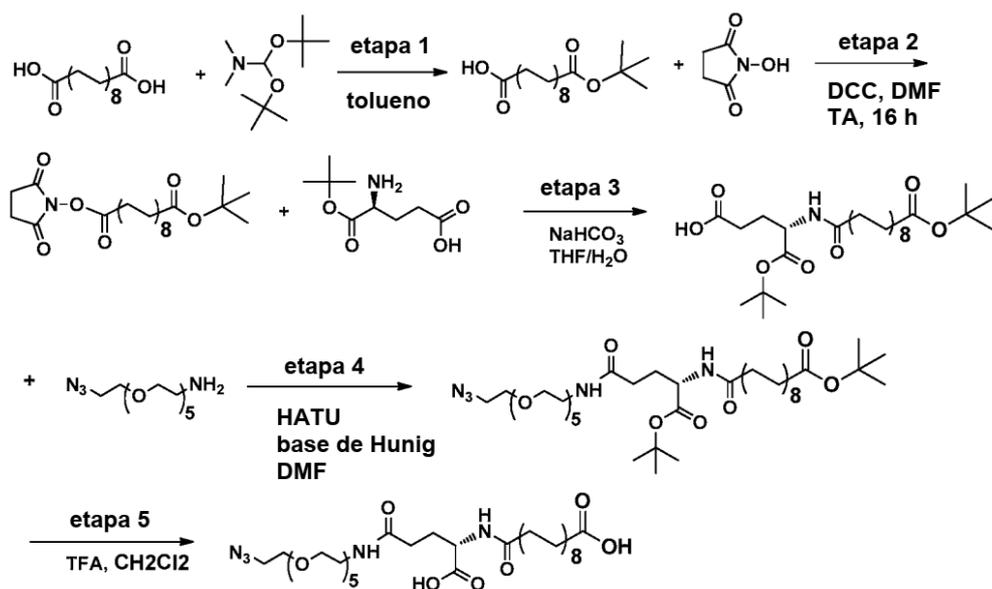
15 *Ácido (S)-1-azido-16-carboxi-13,18-dioxo-3,6,9-trioxa-12,17-diazapentatriacontan-35-oico*



20 *Etapa 1:* A una solución de 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etanimina (113 mg, 0,517 mmol) en DMF (4498 μ l), se le añadió base de Hunig (314 μ l, 1,799 mmol), después ácido (*S*)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (250 mg, 0,450 mmol). Después se añadió HATU (342 mg, 0,900 mmol), y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. La CL/EM mostró la conversión al m/z deseado. Se retiró el DMF en alto vacío, después el residuo se aplicó a gel de sílice (40 g) y se eluyó con DCM (100 ml), después un gradiente a 75 % de DCM/acetona durante 540 ml y finalmente una detención a 75 % de DCM/acetona durante 150 ml. Las fracciones deseadas se combinaron. El material se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba.

25 *Etapa 2:* A una solución de 1-azido-16-(*tert*-butoxicarbonil)-13,18-dioxo-3,6,9-trioxa-12,17-diazapentatriacontan-35-oato de (*S*)-*tert*-butilo (414,0 mg, 0,548 mmol) en DCM (5476 μ l), se le añadió TFA (1266 μ l, 16,43 mmol). La CL/EM indicó una reacción lenta, entonces se añadieron 14 eq. de TFA, y la mezcla se agitó adicionalmente. Después de ~6 h más, la CL/EM indicó que la reacción casi se había completado. Los disolventes se retiraron al vacío. La mezcla se absorbió en base de Hunig/MeOH (~1 %). La mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa en 5 inyecciones: (30 X 100 mm HPLC Luna Axia C18 50 a 100 % de A:B durante 10 min, 5 min a 100 % de B (A es 90:10:0,1 de agua:MeOH:TFA; B es 90:10:0,1 de MeOH:agua:TFA)). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron para obtener ácido (*S*)-1-azido-16-carboxi-13,18-dioxo-3,6,9-trioxa-12,17-diazapentatriacontan-35-oico (112,4 mg, 0,124 mmol, 22,64 % de rendimiento). CL/EM: (M+H)⁺ = 644,45.

30 *Ácido (S)-1-azido-22-carboxi-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazahentetracontan-41-oico*



Etapla 1: Preparación de ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico

- 5 Se suspendió ácido octadecandioico (7,5 g, 23,85 mmol) en tolueno (42,6 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Se añadió por goteo 1,1-di-*tert*-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (15,33 ml, 63,9 mmol) durante 30 min. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró al vacío a 50 °C, y el material en bruto se suspendió en CH₂Cl₂/EtOAc (110 ml, 1:1) y se agitó durante 15 min. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con CH₂Cl₂ (40 ml). La filtración se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SG, 0 a 25 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (3,95 g, 10,66 mmol, 44,7 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) *m/z* 297,3 [M - OC(CH₃)₃]; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 2,29 (t, *J*=7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, *J*=7,4 Hz, 2H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,50 - 1,42 (m, 9H), 1,40 - 1,25 (m, 24H).

15 **Etapla 2: Preparación de 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*tert*-butilo**

- Se añadió DCC (5,11 ml, 5,11 mmol) a una solución de ácido 18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (1,72 g, 4,64 mmol) y 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona (0,588 g, 5,11 mmol) en DMF (48 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró para obtener 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*tert*-butilo, que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba.

Etapla 3: Preparación de ácido (S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico

- 25 Se añadió agua (5,80 ml) a una mezcla de ácido (S)-4-amino-5-(*tert*-butoxi)-5-oxopentanoico (1,038 g, 5,11 mmol), 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*tert*-butilo (2,171 g, 4,64 mmol), bicarbonato de sodio (0,468 g, 5,57 mmol) en THF (17,41 ml). La solución transparente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se retiró todo el THF, se añadió HCl (6,04 ml, 6,04 mmol), y el pH se ajustó a 2-3 a 0 °C. La suspensión resultante se extrajo con CH₂Cl₂ (x3). La capa orgánica se concentró. El producto en bruto resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (acetona / CH₂Cl₂ 0 a 25 %) para obtener ácido (S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (2,29 g, 4,12 mmol, 89 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,74 min; IEN-EM(+) *m/z* 555,6 (M+H)⁺ RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,32 (dd, *J*=9,0, 5,3 Hz, 1H), 2,45 - 2,33 (m, 2H), 2,30 - 2,06 (m, 5H), 1,99 - 1,82 (m, 3H), 1,78 - 1,53 (m, 2H), 1,53 - 1,44 (m, 18H), 1,44 - 1,26 (m, 24H).

35 **Etapla 4: Preparación de 1-azido-22-(*tert*-butoxicarbonil)-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazahentetracontan-41-oato de (S)-*tert*-butilo**

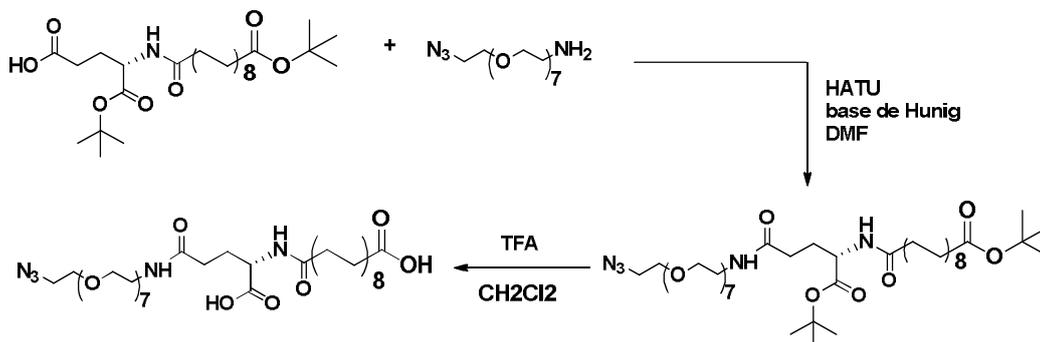
- 40 A una solución de ácido (S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (225 mg, 0,405 mmol) en DMF (4048 μl), se le añadieron base de Hunig (212 μl, 1,214 mmol) y HATU (308 mg, 0,810 mmol). Después se añadió 17-azido-22-(*tert*-butoxycarbonil)-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazahentetracontan-41-oato de (S)-*tert*-butilo (330 mg, 0,391 mmol, 97 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,88 min; IEN-EM(+) *m/z* 844,7 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,30 - 4,23 (m, 1H), 3,74 - 3,60 (m, 18H), 3,60 - 3,52 (m, 2H), 3,43 - 3,35 (m, 4H), 2,34 - 2,28 (m, 2H), 2,28 - 2,19 (m, 4H),

2,15 - 2,08 (m, 1H), 1,98 - 1,87 (m, 1H), 1,69 - 1,53 (m, 4H), 1,52 - 1,44 (m, 18H), 1,41 - 1,27 (m, 24H).

Etapa 5: Preparación de ácido (S)-1-azido-22-carboxi-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazaheptatetracontan-41-oico

5 La mezcla de 1-azido-22-(*terc*-butoxicarbonil)-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazaheptatetracontan-41-oato de (S)-*terc*-butilo (330 mg, 0,391 mmol) y TFA (0,422 ml, 5,47 mmol) en DCM (3,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 150 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 10 min y detención a 13 min) para obtener ácido (S)-1-azido-22-carboxi-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazaheptatetracontan-41-oico (101 mg, 0,138 mmol, 35,3 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,42 min; IEN-EM(+) *m/z* 732,5 (M+H)⁺

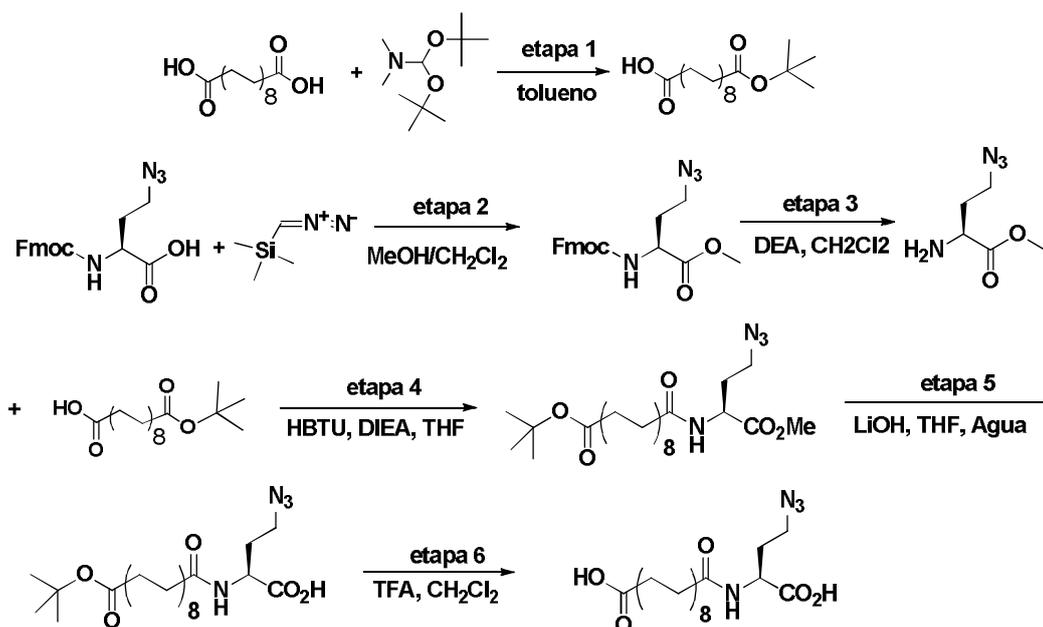
15 **Ácido (S)-1-azido-28-carboxi-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oico**



20 **Etapa 1 A** a una solución de 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatricosan-1-amina (204 mg, 0,517 mmol) en DMF (4498 μ l), se le añadió base de Hunig (314 μ l, 1,799 mmol), después ácido (S)-5-(*terc*-butoxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (250 mg, 0,450 mmol). Después se añadió HATU (342 mg, 0,900 mmol), y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente. La CL/EM mostró la conversión al *m/z* deseado. Se retiró el DMF en alto vacío, después el residuo se aplicó a gel de sílice (40 g) y se eluyó con DCM (90 ml), después un gradiente a 75 % de DCM/acetona durante 540 ml y finalmente una detención a 75 % de DCM/acetona durante 150 ml. Las fracciones deseadas se combinaron para obtener 1-azido-28-(*terc*-butoxicarbonil)-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oato de (S)-*terc*-butilo (394,2 mg, 0,423 mmol, 94 % de rendimiento).

25 **Etapa 2:** A una solución de 1-azido-28-(*terc*-butoxicarbonil)-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oato de (S)-*terc*-butilo (394,2 mg, 0,423 mmol) en DCM (4229 μ l), se le añadió TFA (456 μ l, 5,92 mmol). La CL/EM indicó una reacción lenta, entonces se añadieron 14 eq. de TFA, y la mezcla se agitó adicionalmente. Después de ~6 h más, la CL/EM indicó que la reacción casi se había completado. Los disolventes se retiraron al vacío. La mezcla se absorbió en MeOH. La mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa en 7 inyecciones: (30 X 100 mm HPLC Luna Axia C18 50 a 100 % de A:B durante 10 min, 5 min a 100 % de B (A es 90:10:0,1 de agua:MeOH:TFA; B es 90:10:0,1 de MeOH:agua:TFA)). Se aspiraron las fracciones adecuadas mediante una aspiradora de velocidad. Se aisló ácido (S)-1-azido-28-carboxi-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oico (121,0 mg, 0,148 mmol, 34,9 % de rendimiento). CL/EM: (M+H)⁺ = 820,60. RMN ¹H (500 MHz, CLOROFORMO-d) δ 7,30 (d, *J*=6,4 Hz, 1H), 7,04 (t, *J*=5,2 Hz, 1H), 4,51 (q, *J*=6,2 Hz, 1H), 3,72 - 3,64 (m, 27H), 3,63 - 3,59 (m, 2H), 3,56 - 3,49 (m, 1H), 3,47 - 3,39 (m, 3H), 2,62 - 2,54 (m, 1H), 2,48 - 2,40 (m, 1H), 2,36 (t, *J*=7,4 Hz, 2H), 2,26 (t, *J*=7,6 Hz, 2H), 2,19 - 2,08 (m, 2H), 1,65 (quin, *J*=7,4 Hz, 4H), 1,39 - 1,24 (m, 25H).

40 **Ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico**



Etapa 1: Preparación de ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico

- 5 Se suspendió ácido octadecandioico (7,5 g, 23,85 mmol) en tolueno (42,6 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Se añadió por goteo 1,1-di-terc-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (15,33 ml, 63,9 mmol) durante 30 min. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró al vacío a 50 °C, y el material en bruto se suspendió en CH₂Cl₂/EtOAc (110 ml, 1:1) y se agitó durante 15 min. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con CH₂Cl₂ (40 ml). La filtración se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (300 g, SG, 100 % de CH₂Cl₂, 1000 ml primero y después 0 a 25 % de acetona / CH₂Cl₂, 2000 ml) para obtener ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico (3,82 g, 10,31 mmol, 43,2 % de rendimiento).
 10 Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,85 min; IEN-EM(+) *m/z* 297,3 [M - OC(CH₃)₃]; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 2,29 (t, J=7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, J=7,3 Hz, 2H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,46 (s, 9H), 1,31 (m, 24H).

Etapa 2: Preparación de 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo

- A una mezcla de ácido (2S)-N-FMOC-4-azido-butanoico (1,0 g, 2,73 mmol) en MeOH (4,21 ml) / CH₂Cl₂ (12,64 ml), se le añadió (trimetilsilil)diazometano en dietiléter (2,047 ml, 4,09 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para obtener 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo, que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,81 (d, J=7,6 Hz, 2H), 7,73 - 7,63 (m, 2H), 7,47 - 7,22 (m, 4H), 4,41 (d, J=6,7 Hz, 2H), 4,35 - 4,17 (m, 2H), 3,82 - 3,70 (m, 3H), 3,49 - 3,34 (m, 2H), 2,21 - 2,04 (m, 1H), 1,97 - 1,80 (m, 1H).
 20

Etapa 3: Preparación de 4-azido-2-((terc-butoxicarbonil)amino)butanoato de (S)-metilo

- La mezcla de 2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-azidobutanoato de (S)-metilo (1,038 g, 2,73 mmol) y dietilamina (4,0 ml, 38,3 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La CLEM mostró la desaparición del material de inicio y la formación de producto junto con picos relacionados con Fmoc. Se concentró, y el producto resultante se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba. RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 3,85 - 3,69 (m, 3H), 3,63 - 3,52 (m, 1H), 3,51 - 3,40 (m, 2H), 2,05 - 1,91 (m, 1H), 1,88 - 1,76 (m, 1H).
 25
 30

Etapa 4: Preparación de 18-((4-azido-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)amino)-18-oxooctadecanoato de (S)-terc-butilo

- La mezcla de 2-amino-4-azidobutanoato de (S)-metilo (0,432 g, 2,73 mmol), ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico (1,012 g, 2,73 mmol), DIPEA (1,907 ml, 10,92 mmol) y HBTU (1,035 g, 2,73 mmol) en THF (27,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (gel de sílice, 300 g, 0 a 10 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener 18-((4-azido-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)amino)-18-oxooctadecanoato de (S)-terc-butilo (1,37 g, 2,68 mmol, 98 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,87 min; IEN-EM(+) *m/z* 533,3 (M+Na)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,54 (dd, J=9,2, 5,0 Hz, 1H), 3,78 - 3,70 (m, 3H), 3,49 - 3,37 (m, 2H), 2,30 - 2,19 (m, 2H), 2,15 - 2,04 (m, 1H), 1,97 - 1,91 (m, 1H), 1,91 - 1,83 (m, 2H), 1,68 - 1,53 (m, 4H), 1,46 (s, 9H), 1,31 (s a, 24H).
 35
 40

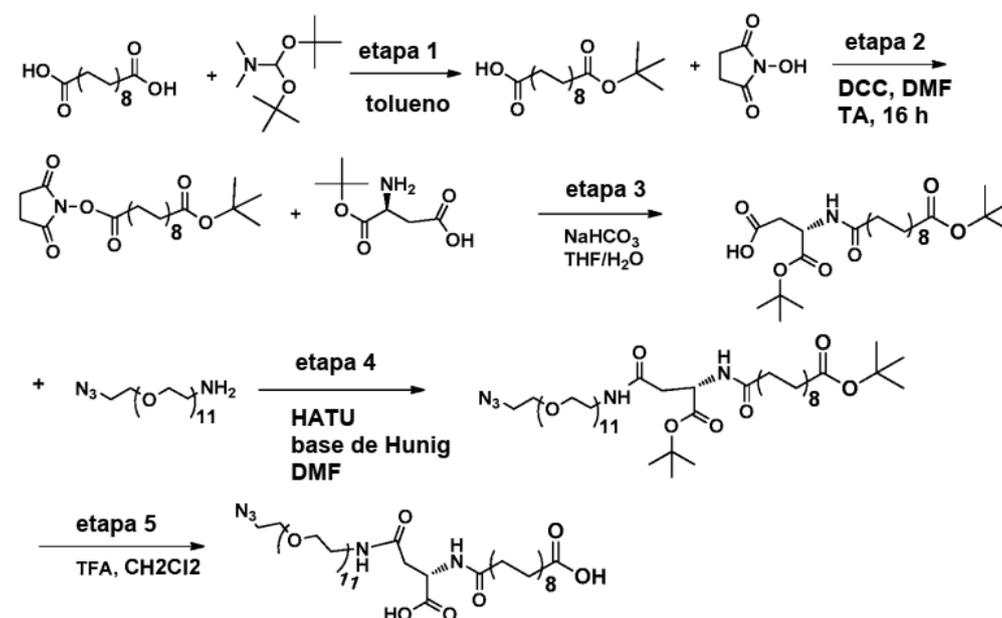
Etapa 5: Preparación de ácido (S)-4-azido-2-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico

Se disolvió 18-((4-azido-1-metoxi-1-oxobutan-2-il)amino)-18-oxooctadecanoato de (S)-*terc*-butilo (1,37 g, 2,68 mmol) en THF (13,41 ml), y después se añadieron hidróxido de litio (0,321 g, 13,41 mmol) y agua (13,41 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró hasta secarse. El ácido (S)-4-azido-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico resultante se usó en el estado en el cual se encontraba en la siguiente etapa. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,62 min; IEN-EM(+) m/z 497,4 (M+H)⁺.

Etapa 6: Preparación de ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico

La mezcla de ácido (S)-4-azido-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico (1,332 g, 2,68 mmol) y TFA (2,89 ml, 37,5 mmol) en DCM (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 10 min y detención a 12 min) para obtener ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (451 mg, 1,024 mmol, 38,2 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,42 min; IEN-EM(+) m/z 441,2 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 4,51 (dd, *J*=9,4, 4,8 Hz, 1H), 3,51 - 3,36 (m, 3H), 2,37 - 2,22 (m, 4H), 2,19 - 2,08 (m, 1H), 1,99 - 1,88 (m, 1H), 1,68 - 1,54 (m, 4H), 1,40 - 1,22 (m, 24H).

Ácido (S)-1-azido-39-carboxi-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-ico



Etapa 1: Preparación de ácido 18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanoico

Se suspendió ácido octadecandioico (7,5 g, 23,85 mmol) en tolueno (42,6 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Se añadió por goteo 1,1-di-*terc*-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (15,33 ml, 63,9 mmol) durante 30 min. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró al vacío a 50 °C, y el material en bruto se suspendió en CH₂Cl₂/EtOAc (110 ml, 1:1) y se agitó durante 15 min. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con CH₂Cl₂ (40 ml). La filtración se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SG, 0 a 25 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener ácido 18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (3,95 g, 10,66 mmol, 44,7 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) m/z 297,3 [M - OC(CH₃)₃]; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 2,29 (t, *J*=7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, *J*=7,4 Hz, 2H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,50 - 1,42 (m, 9H), 1,40 - 1,25 (m, 24H).

Etapa 2: Preparación de 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*terc*-butilo

Se añadió DCC (5,11 ml, 5,11 mmol) a una solución de ácido 18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (1,72 g, 4,64 mmol) y 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona (0,588 g, 5,11 mmol) en DMF (48 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró para obtener 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*terc*-butilo, que se usó en el estado en el cual se encontraba en la siguiente etapa.

Etapa 3: Preparación de ácido (S)-4-(*terc*-butoxi)-3-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-4-oxobutanoico

Se añadió agua (6,74 ml) a una mezcla de ácido (S)-3-amino-4-(*terc*-butoxi)-4-oxobutanoico (1,122 g, 5,93 mmol), 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-*terc*-butilo (2,52 g, 5,39 mmol), bicarbonato de sodio (0,543 g, 6,47 mmol) en THF (20,21 ml). La solución transparente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se retiró todo el THF, se añadió HCl (7,01 ml, 7,01 mmol), y el pH se ajustó a 2-3 a 0 °C. La suspensión resultante se extrajo con CH₂Cl₂ (x3). La capa orgánica se concentró. El producto resultante se usó en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,83 min; IEN-EM(+) *m/z* 542,3 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,64 (t, *J*=6,1 Hz, 1H), 2,83 - 2,67 (m, 2H), , 2,29 - 2,18 (m, 2H), 1,91 - 1,81 (m, 1H), 1,78 - 1,67 (m, 1H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,53 - 1,39 (m, 18H), 1,39 - 1,26 (m, 24H).

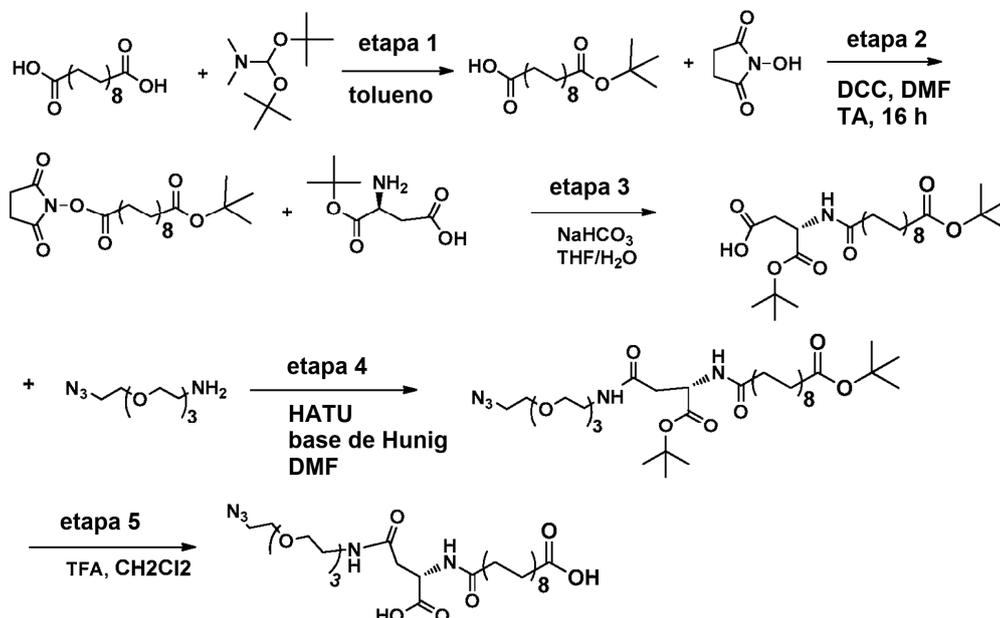
10 **Etapa 4: Preparación de 1-azido-39-(*terc*-butoxicarbonil)-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-oato de (S)-*terc*-butilo**

A una solución de ácido (S)-4-(*terc*-butoxi)-3-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-4-oxobutanoico (200 mg, 0,369 mmol) en DMF (3692 µl), se añadieron base de Hunig (193 µl, 1,108 mmol) y HATU (281 mg, 0,738 mmol). Después se añadió 35-azido-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxapentatriacontan-1-amina (211 mg, 0,369 mmol), y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El producto resultante se usó en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,79 min; IEN-EM(+) *m/z* 1194,7 (M+H)⁺.

20 **Etapa 5: Preparación de ácido (S)-1-azido-39-carboxi-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-oico**

La mezcla de 1-azido-39-(*terc*-butoxicarbonil)-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-oato de (S)-*terc*-butilo (404 mg, 0,369 mmol) y TFA (2 ml, 26,0 mmol) en DCM (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 150 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 12 min y detención a 13 min) para obtener ácido (S)-1-azido-39-carboxi-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-oico (128 mg, 0,130 mmol, 35,3 % de rendimiento) (rendimiento de 4 etapas). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,44 min; IEN-EM(+) *m/z* 982,5 (M+H)⁺.

30 **Ácido (S)-1-azido-15-carboxi-13,17-dioxo-3,6,9-trioxa-12,16-diazatetraatriacontan-34-oico**



35 **Etapa 1: Preparación de ácido 18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanoico**

Se suspendió ácido octadecandioico (7,5 g, 23,85 mmol) en tolueno (42,6 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Se añadió por goteo 1,1-di-*terc*-butoxi-N,N-dimetilmetanamina (15,33 ml, 63,9 mmol) durante 30 min. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. El disolvente se retiró al vacío a 50 °C, y el material en bruto se suspendió en CH₂Cl₂/EtOAc (110 ml, 1:1) y se agitó durante 15 min. Los sólidos se retiraron mediante filtración y se lavaron con CH₂Cl₂ (40 ml). La filtración se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (SG, 0 a 25 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener ácido 18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (3,95 g, 10,66 mmol, 44,7 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 5,04 min; IEN-EM(+) *m/z* 297,3 [M - OC(CH₃)₃]; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 2,29 (t, *J*=7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, *J*=7,4 Hz, 2H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,50 - 1,42 (m,

9H), 1,40 - 1,25 (m, 24H).

Etapas 2: Preparación de 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-terc-butilo

- 5 Se añadió DCC (5,11 ml, 5,11 mmol) a una solución de ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico (1,72 g, 4,64 mmol) y 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona (0,588 g, 5,11 mmol) en DMF (48 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y se concentró para obtener 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-terc-butilo, que se usó en la siguiente etapa en el estado en el cual se encontraba.

10 *Etapas 3: Preparación de ácido (S)-4-(terc-butoxi)-3-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-4-oxobutanoico*

- Se añadió agua (6,74 ml) a una mezcla de ácido (S)-3-amino-4-(terc-butoxi)-4-oxobutanoico (1,122 g, 5,93 mmol), 18-(2,5-dioxopirrolidin-1-il) octadecandioato de 1-terc-butilo (2,52 g, 5,39 mmol), bicarbonato de sodio (0,543 g, 6,47 mmol) en THF (20,21 ml). La solución transparente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se retiró todo el THF, se añadió HCl (7,01 ml, 7,01 mmol), y el pH se ajustó a 2-3 a 0 °C. La suspensión resultante se extrajo con CH₂Cl₂ (x3). La capa orgánica se concentró. El producto resultante se usó en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,83 min; IEN-EM(+) *m/z* 542,3 (M+H)⁺; RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 4,64 (t, *J*=6,1 Hz, 1H), 2,83 - 2,67 (m, 2H), , 2,29 - 2,18 (m, 2H), 1,91 - 1,81 (m, 1H), 1,78 - 1,67 (m, 1H), 1,67 - 1,53 (m, 4H), 1,53 - 1,39 (m, 18H), 1,39 - 1,26 (m, 24H).

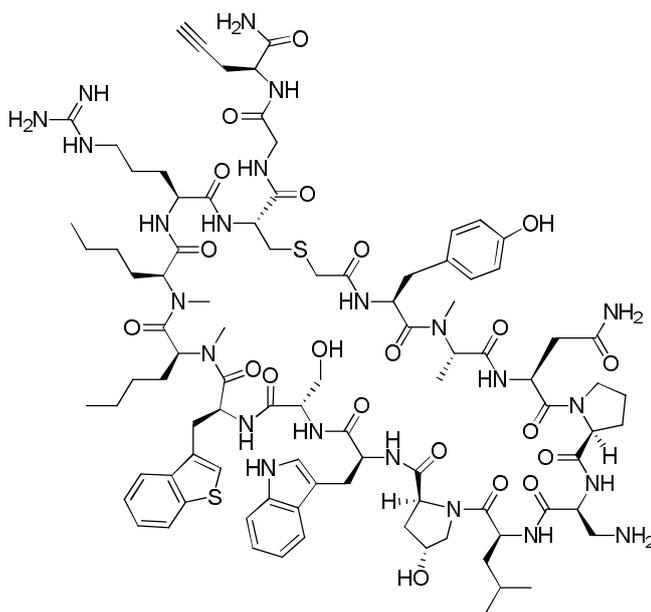
20 *Etapas 4: Preparación de 1-azido-15-(terc-butoxicarbonil)-13,17-dioxo-3,6,9-trioxa-12,16-diazatetatriacontan-34-oato de (S)-terc-butilo*

- A una solución de ácido (S)-4-(terc-butoxi)-3-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-4-oxobutanoico (350 mg, 0,646 mmol) en DMF (6460 μl), se le añadieron base de Hunig (338 μl, 1,938 mmol) y HATU (491 mg, 1,292 mmol). Después se añadió 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etanamina (141 mg, 0,646 mmol), y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El producto resultante se usó en el estado en el cual se encontraba. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,90 min; IEN-EM(+) *m/z* 742,5 (M+H)⁺

30 *Etapas 5: Preparación de ácido (S)-1-azido-15-carboxi-13,17-dioxo-3,6,9-trioxa-12,16-diazatetatriacontan-34-oico*

- La mezcla de 1-azido-15-(terc-butoxicarbonil)-13,17-dioxo-3,6,9-trioxa-12,16-diazatetatriacontan-34-oato de (S)-terc-butilo (479 mg, 0,646 mmol) y TFA (2 ml, 26,0 mmol) en DCM (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 150 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 10 min y detención a 12 min) para obtener ácido (S)-1-azido-15-carboxi-13,17-dioxo-3,6,9-trioxa-12,16-diazatetatriacontan-34-oico (119 mg, 0,189 mmol, 29,2 % de rendimiento) (rendimiento de 4 etapas); Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,44 min; IEN-EM(+) *m/z* 630,2 (M+H)⁺.

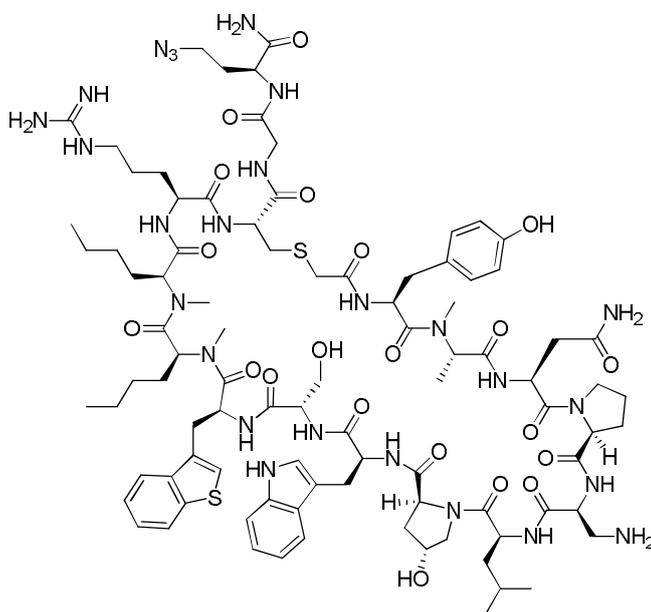
40 *Preparación de INT-1300A*



INTERMEDIARIO 1300A

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Ser-Bzt-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Arg-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 37,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,56 min; IEN-EM(+) m/z 986,7 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,86 min; IEN-EM(+) m/z 986,7 (M + 2H), ion más abundante.

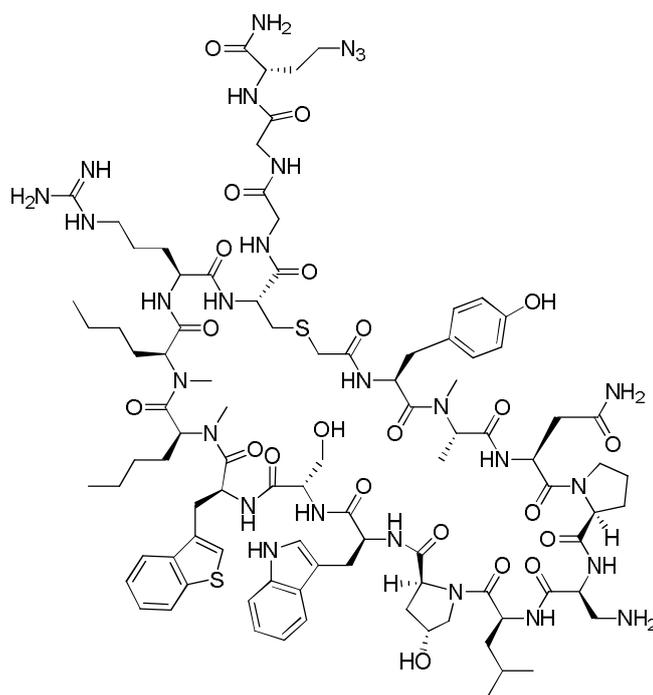
15 Preparación de INT-1300B



INTERMEDIARIO 1300B

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Ser-Bzt-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Arg-Cys-Gly-[(S)-azido-Dab]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 50,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,61 min; IEN-EM(+) m/z 1002,2 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,82 min; IEN-EM(+) m/z 1002,2 (M + 2H), ion más abundante.

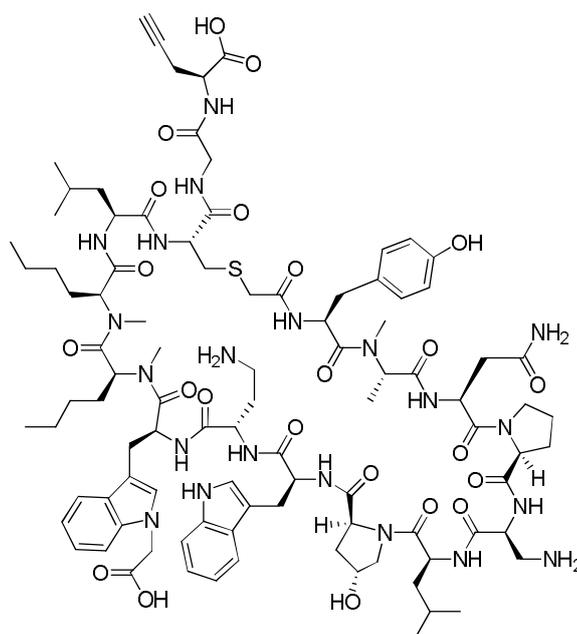
30 Preparación de INT-1300C



INTERMEDIARIO 1300C

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Ser-Bzt-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Arg-Cys-Gly-Gly-[(S)-azido-Dab]; después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 45-85 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,60 min; IEN-EM(+) m/z 1030,7 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,83 min; IEN-EM(+) m/z 1030,6 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1029,9931 (M+2H) Encontrado: 1029,9898 (M+2H).

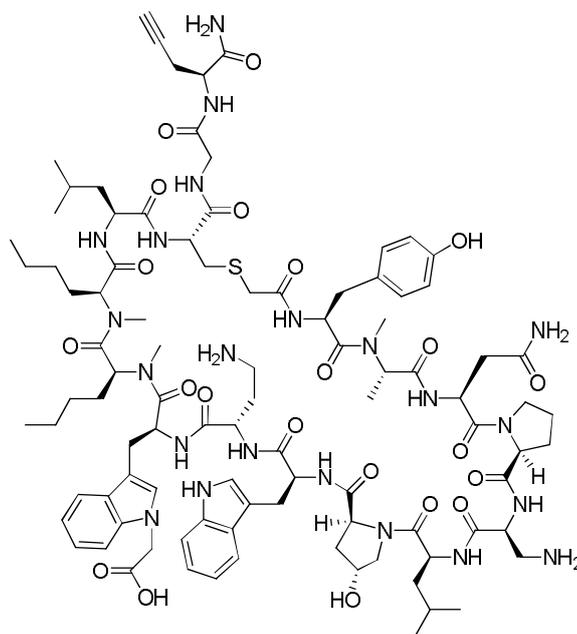
Preparación de INT-1300V



INTERMEDIARIO 1300V

- El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]; en donde la (S) propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 45-85 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 16,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,49 min; IEN-EM(+) m/z 992,3 (M + 2H), ion más abundante. Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,02 min; IEN-EM(+) m/z 992,3 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 991,9953 (M+2H) Encontrado: 991,9926 (M+2H).

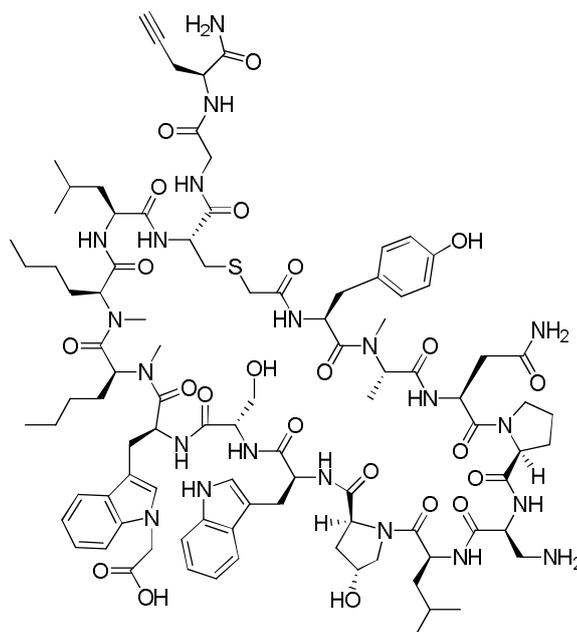
Preparación de INT-1300W



INTERMEDIARIO 1300W

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 58,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,55 min; IEN-EM(+) m/z 991,9 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,11 min; IEN-EM(+) m/z 991,8 (M + 2H), ion más abundante.

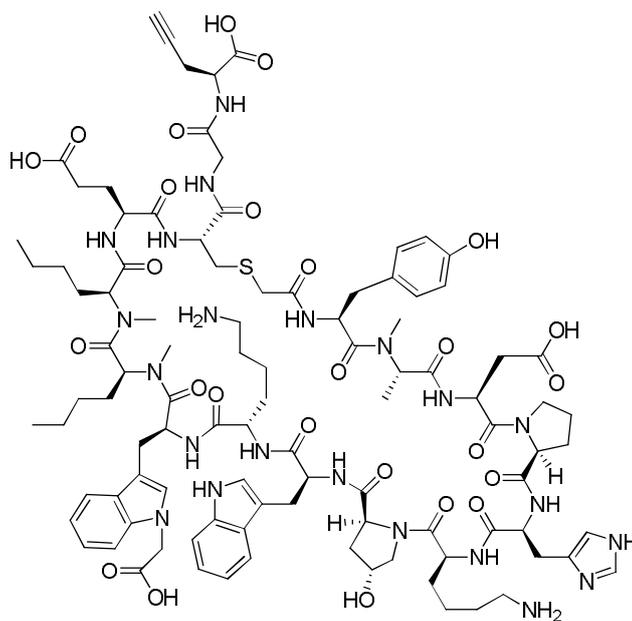
Preparación de INT-1300X



INTERMEDIARIO 1300X

- El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Ser-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]; después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 39,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,51 min; IEN-EM(+) m/z 985,2 (M + 2H), ion más abundante.
- Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,62 min; IEN-EM(+) m/z 985,4 (M + 2H), ion más abundante IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 984,9875 (M+2H) Encontrado: 984,9877 (M+2H).

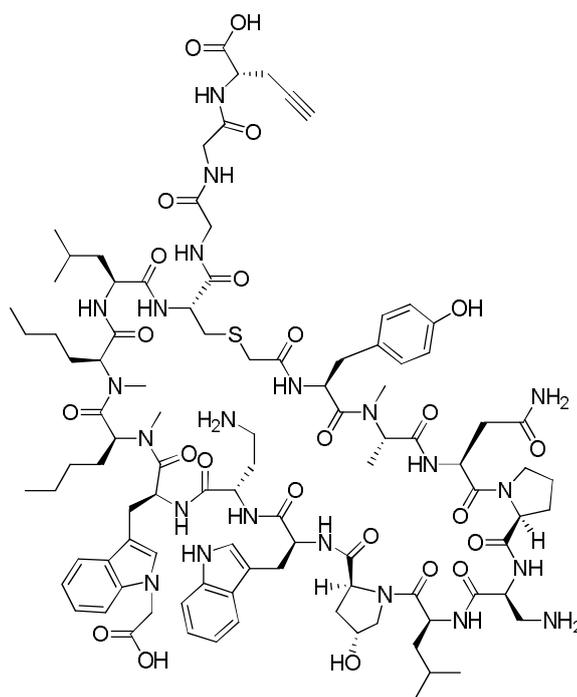
Preparación de INT-1300Y



INTERMEDIARIO 1300Y

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,4 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-[ácido (S)-2-amino-3-(1-carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]; en donde la (S) propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 0-40 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 56,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,06 min; IEN-EM(+) m/z 1047,8 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,19 min; IEN-EM(+) m/z 1048,0 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1047,4931 (M+2H); Encontrado: 1047,4899 (M+2H).

Preparación de INT-130AA

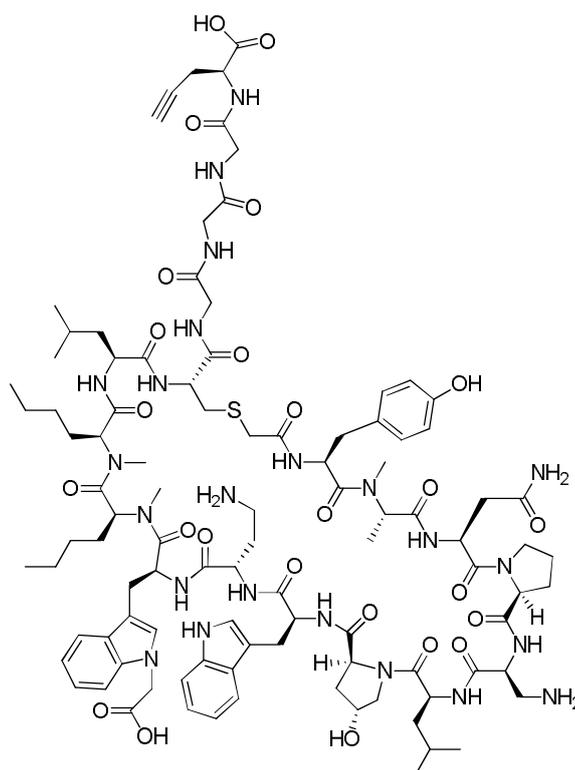


INTERMEDIARIO 130AA

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,8 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-*Asn*-Pro-Dap-*Leu*-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Gly-[(S)-propargilglicina]; en donde la (S) propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: CSH C18, 30 x 150 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 7 minutos a 100 % de B; flujo: 50 ml/min. La muestra se dividió en 6 inyecciones en una concentración de 130 µmol por inyección. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 102,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,69 min; IEN-EM(+) m/z 1021,1 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,56 min; IEN-EM(+) m/z 1021,3 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1020,5060 (M+2H) Encontrado: 1020,5045 (M+2H).

Preparación de INT-130AB

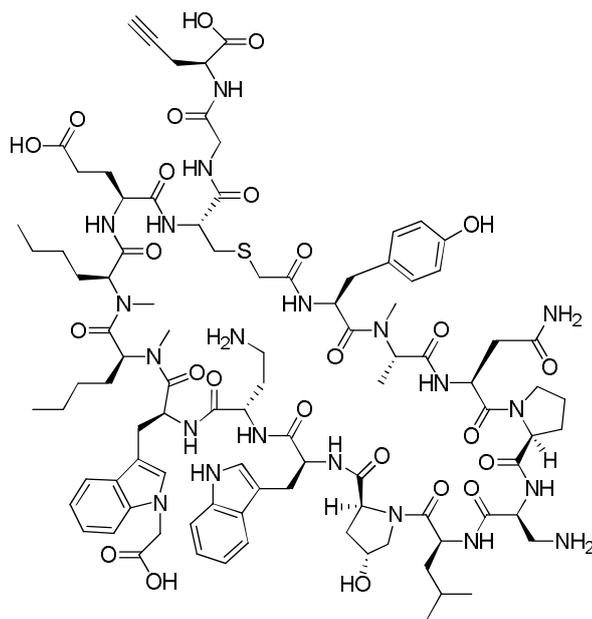
20



INTERMEDIARIO 130AB

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,8 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAC-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Gly-Gly-[(S)-propargilglicina]; en donde la (S) propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 30 x 150 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 132,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,47 min; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 1,51 min; IEN-EM(+) m/z 1050,3 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1049,0168 (M+2H) Encontrado: 1049,0156 (M+2H).

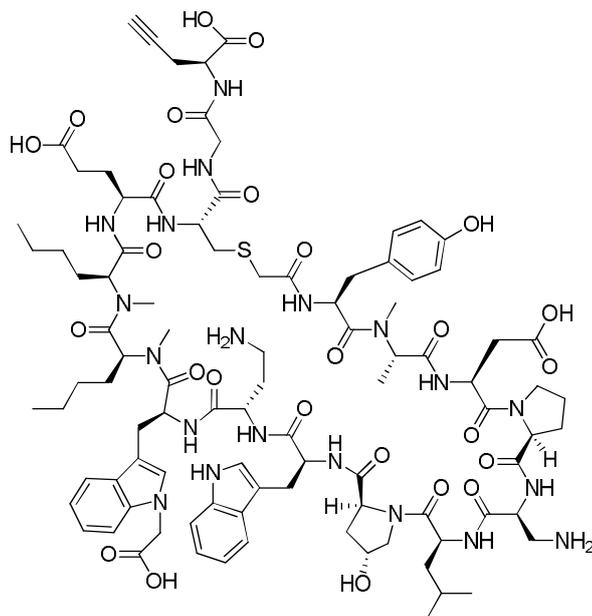
Preparación de INT-130AD



INTERMEDIARIO 130AD

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,4 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAC-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Glu-Cys-Gly-[Pra]; en donde la propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 30 x 150 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 50 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 46,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,31 min; IEN-EM(+) m/z 1001,3 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de análisis: Tiempo de retención = 2,19 min; IEN-EM(+) m/z 1000,2 (M + 2H); IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 999,9746 (M+2H) Encontrado: 999,9723 (M+2H).

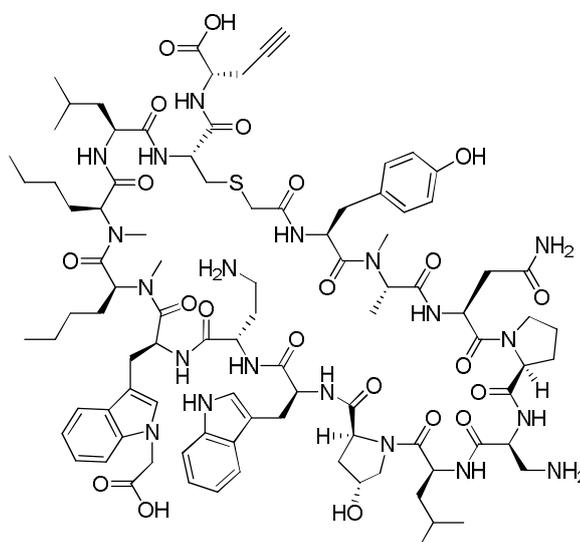
Preparación de INT-130AE



INTERMEDIARIO 130AE

5 El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,4 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Glu-Cys-Gly-[Pra]; en donde la propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 30 x 150 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 50 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 51,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,23 min; IEN-EM(+) *m/z* 1001,2 (M + 2H), ion más abundante. Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,27 min; IEN-EM(+) *m/z* 1000,9 (M + 2H); IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1000,4666 (M+2H) Encontrado: 1000,4646 (M+2H).

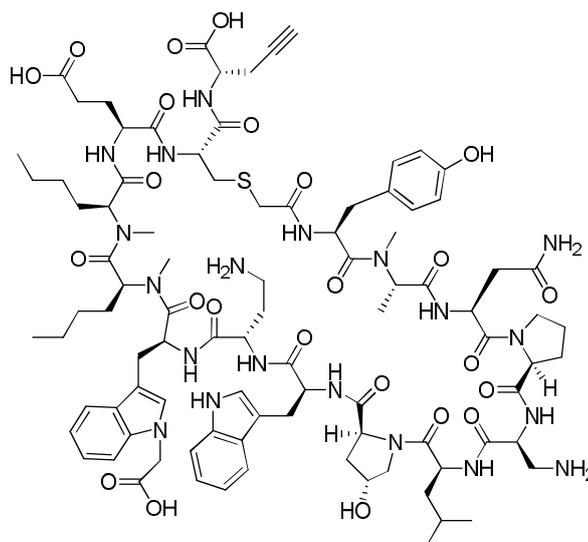
15 Preparación de INT-130AF



INTERMEDIARIO 130AF

20 El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,8 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-[Pra]; en donde la propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,05 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,05 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 125 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 152,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,56 min; IEN-EM(+) *m/z* 964,1 (M + 2H); Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,39 min; IEN-EM(+) *m/z* 965,2 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 963,4846 (M+2H) Encontrado: 963,4825 (M+2H).

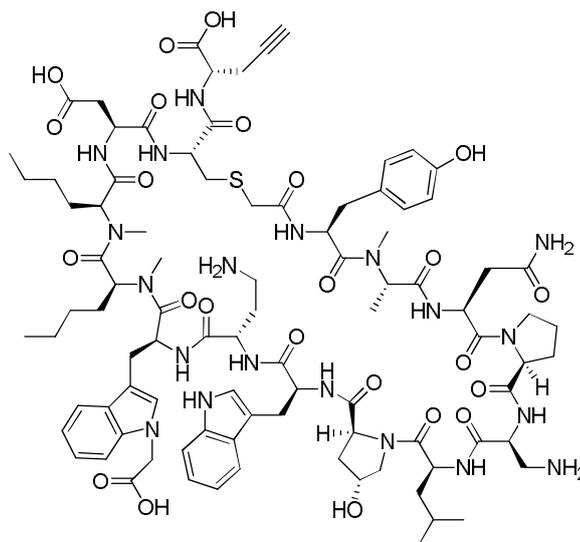
35 Preparación de INT-130AG



INTERMEDIARIO 130AG

- El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,8 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Glu-Cys-[Pra]; en donde la propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,05 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,05 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 125 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 154,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,28 min
- Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,25 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 971,4638 (M+2H) Encontrado: 971,4620 (M+2H).

Preparación de INT-130AH

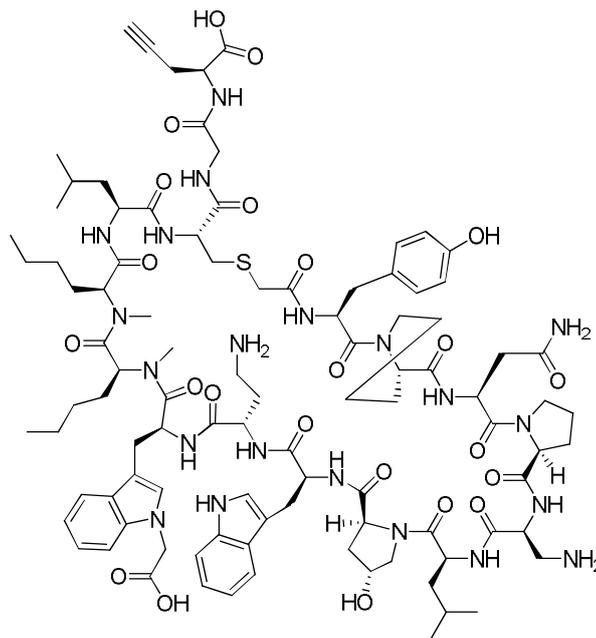


INTERMEDIARIO 130AH

- El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,8 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Asp-Cys-[Pra]; en donde la propargilglicina se incorporó en la resina de 2-clorotritilo. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores,

el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo: agua con 0,05 de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,05 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 125 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 147,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,29 min; IEN-EM(+) m/z 965,3 (M + 2H); Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,24 min; IEN-EM(+) m/z 964,9 (M + 2H); IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 964,4560 (M+2H) Encontrado: 964,4535 (M+2H).

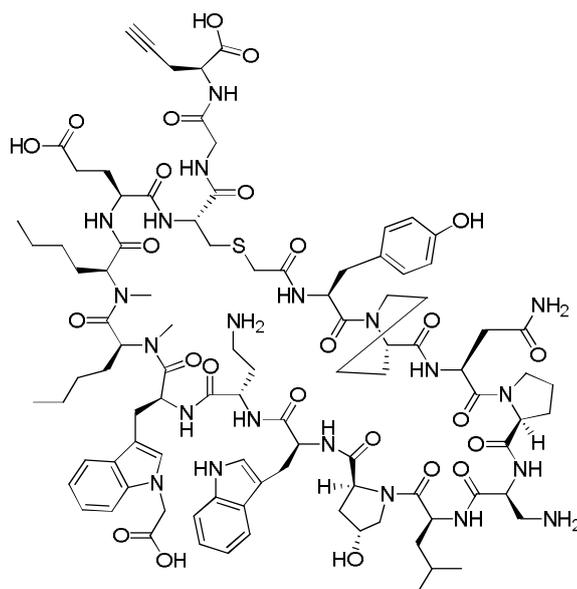
Preparación de INT-130AI



Intermediario 130AI

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, mientras que el acoplamiento en cursiva fue un acoplamiento simple de 30 min. *CI*Ac-Tyr-hPro-*Asn*-Pro-Dap-*Leu*-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-*mNle*-mNle-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 100 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 158,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,556 min; IEN-EM(+) m/z 1005,1 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,382 min; IEN-EM(+) m/z 1005,3 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1005,0031 (M+2H) Encontrado: 1005,0015 (M+2H).

30 Preparación de INT-130AJ



Intermediario 130AJ

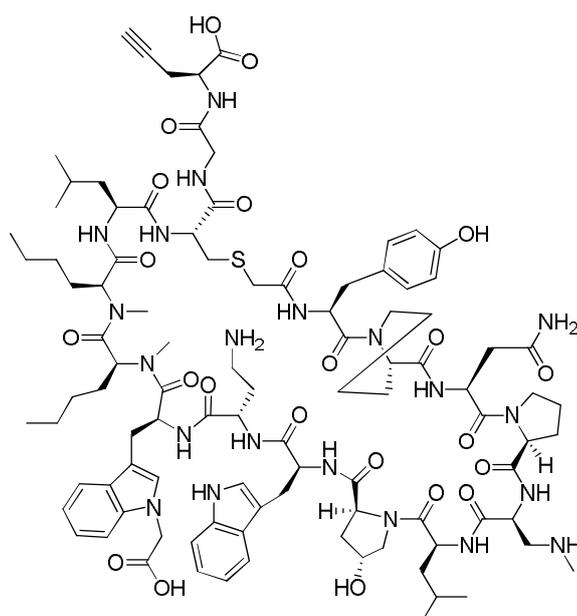
El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble.

5 ClAc-Tyr-hPro-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 100 ml/min. Las fracciones que

10 contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 107,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,281 min; IEN-EM(+) m/z 1013,1 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,282 min; IEN-EM(+) m/z 1013,2 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1012,9824 (M+2H) Encontrado: 1012,9797 (M+2H).

15

Preparación de INT-130AK



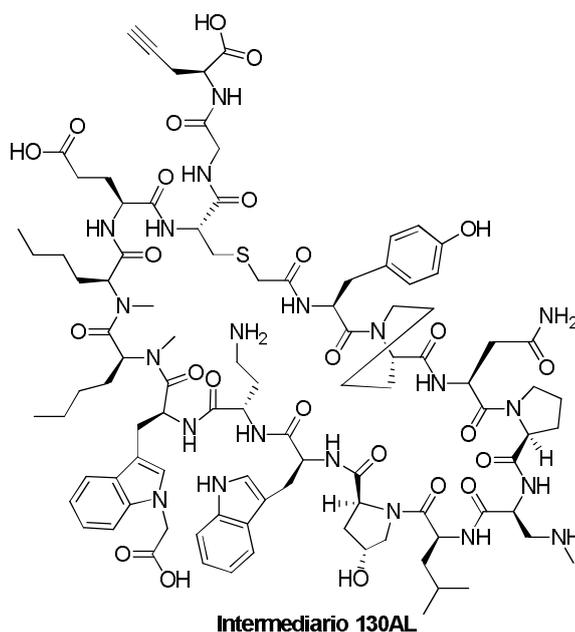
Intermediario 130AK

20 El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas

subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-hPro-Asn-Pro-DapMe-Leu-Hyp-Trp-Dab-
 [ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-mNle-mNle-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina].
 Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de
 la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones:
 5 Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con
 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente:
 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 125 ml/min. Las
 fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El
 rendimiento del producto fue de 241,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición
 10 A de análisis: Tiempo de retención = 1,555 min; IEN-EM(+) m/z 1012,1 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de
 análisis: Tiempo de retención = 1,396 min; IEN-EM(+) m/z 1012,2 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z :
 Calculado: 1012,0109 (M+2H) Encontrado: 1012,0089 (M+2H).

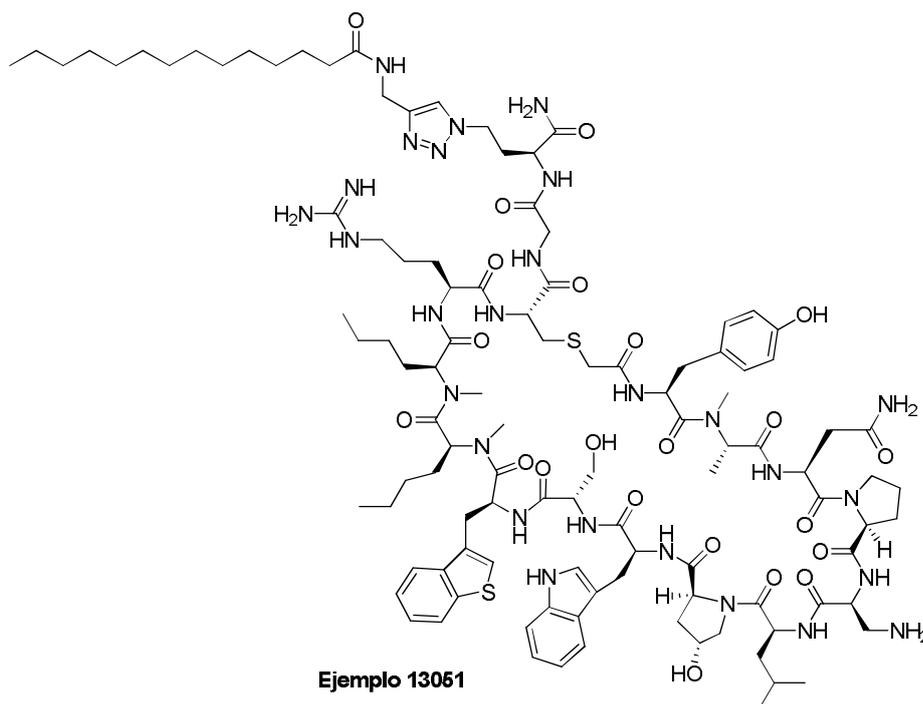
Preparación de INT-130AL

15



El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas
 subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-hPro-Asn-Pro-DapMe-Leu-Hyp-Trp-Dab-
 20 [ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina].
 Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de
 la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones:
 25 Columna: Phenomenex Gemini NX-C18, 50 x 250 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con
 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente:
 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 7 minutos a 100 % de B; flujo: 100 ml/min. Las
 fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El
 rendimiento del producto fue de 218,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición
 A de análisis: Tiempo de retención = 1,316 min; IEN-EM(+) m/z 1020,2 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de
 30 análisis: Tiempo de retención = 1,294 min; IEN-EM(+) m/z 1020,2 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z :
 Calculado: 1019,9902 (M+2H) Encontrado: 1019,9881 (M+2H).

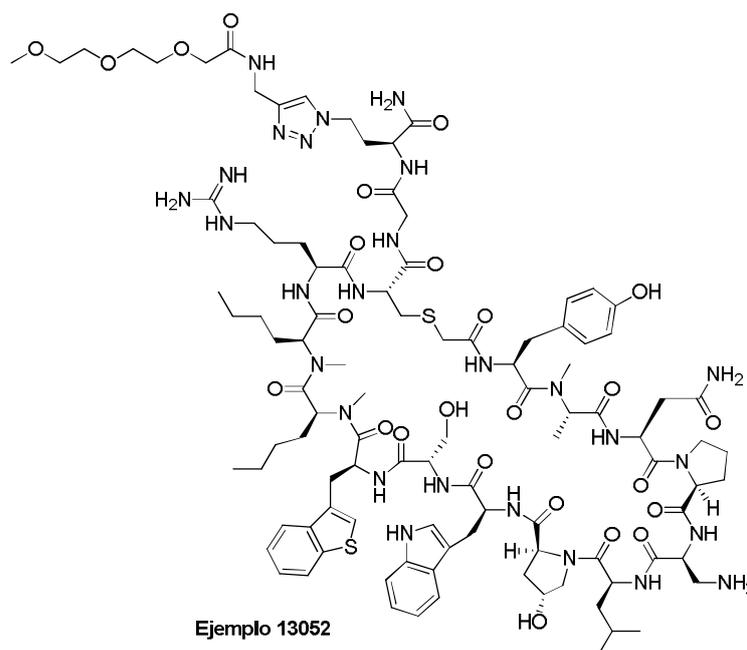
Preparación del Ejemplo 13051



Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300B (10 mg, 4,99 μmol) y *N*-(prop-2-in-1-il)tetradecanamida (3,98 mg, 0,015 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-85 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 60-100 % de B durante 20 minutos, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 2,32 min; IEN-EM(+) m/z 1134,9 (M + 2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,35 min; IEN-EM(+) m/z 1135,1 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1134,1026 (M+2H) Encontrado: 1134,1028 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13052

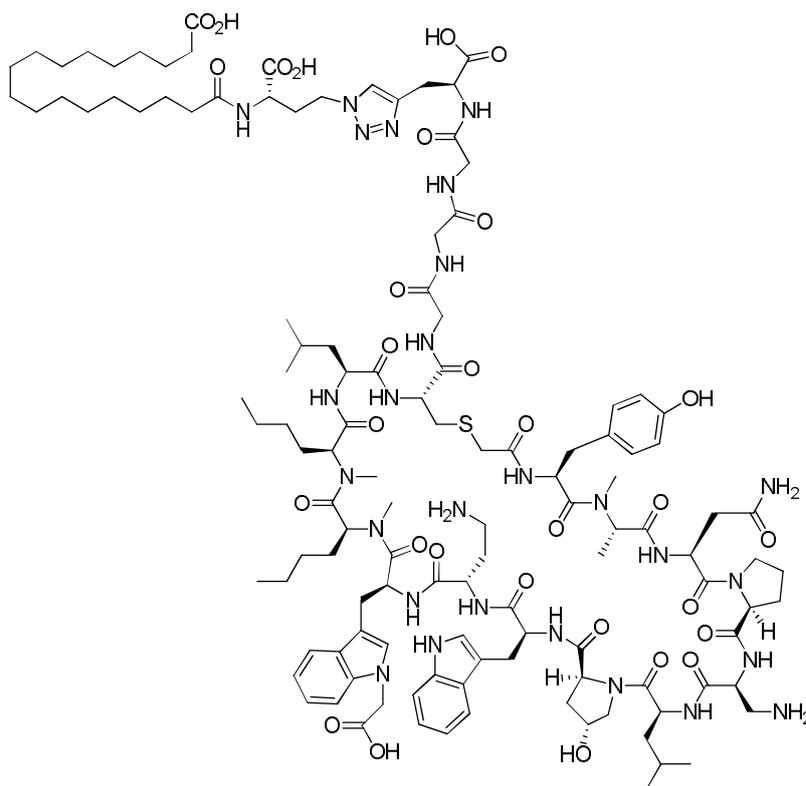
20



Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300B (8,5 mg, 4,25 μ mol) y 2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)-N-(prop-2-in-1-il)acetamida (2,74 mg, 0,013 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,56 min; IEN-EM(+) m/z 1109,9 (M + 2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,81 min; IEN-EM(+) m/z 1109,8 (M + 2H), ion más abundante.

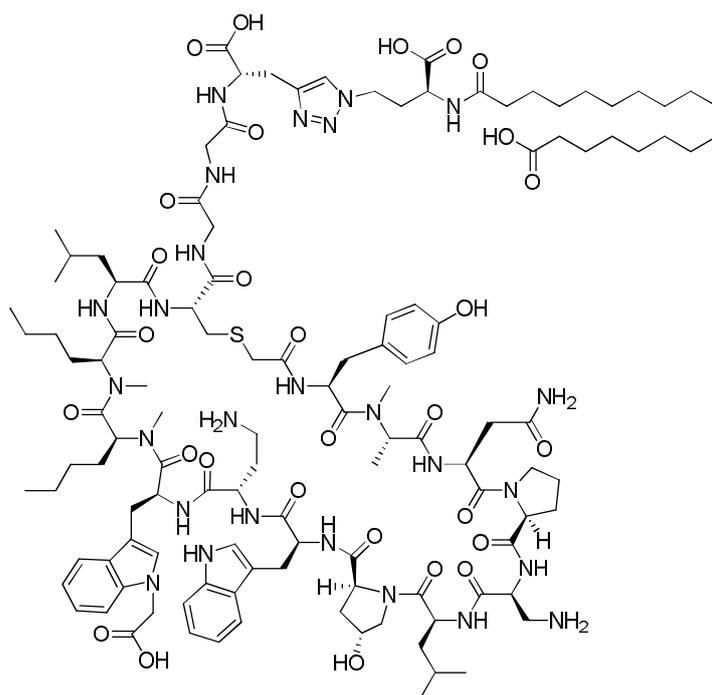
Preparación del Ejemplo 13121

15

**Ejemplo 13121**

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AB (26,1 mg, 12 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (13,7 mg, 0,031 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto.
- 5 La solución de reacción se diluyó levemente en MeOH y se purificó mediante HPLC preparativa (2 inyecciones): 30 X 100 mm HPLC Phenomenex Luna 5 μ m 10 a 100 % de A:B durante 15 min, 3 min a 100 % de B (A es 90:10 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA; B es 10:90 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA)). El rendimiento del producto fue de 11,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición H de análisis: Tiempo de retención = 10,92 min
- 10 Condición I de análisis: Tiempo de retención = 9,94 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1269,1667 (M+2H) Encontrado: 1269,1648 (M+2H).

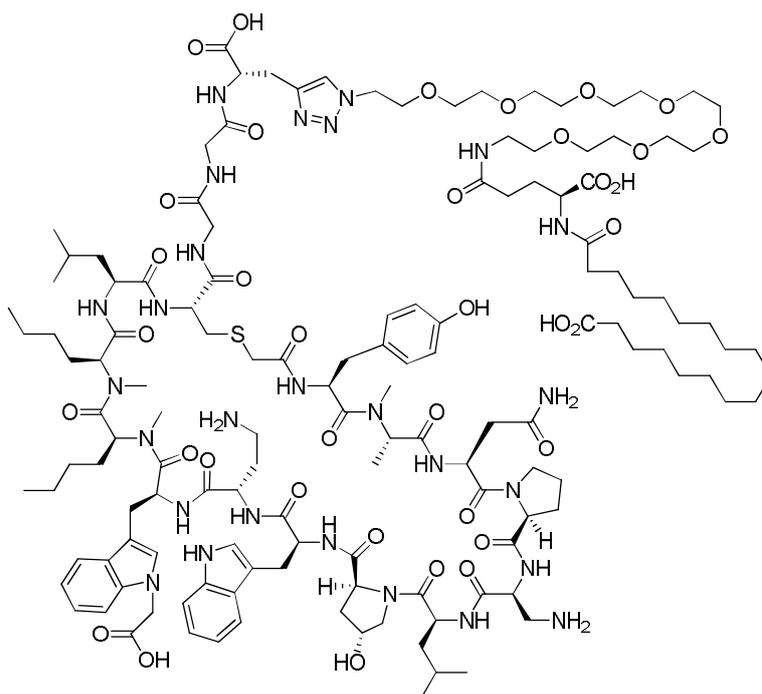
Preparación del Ejemplo 13122

**Ejemplo 13122**

Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AA (25,5 mg, 13 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (13,8 mg, 0,031 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto.

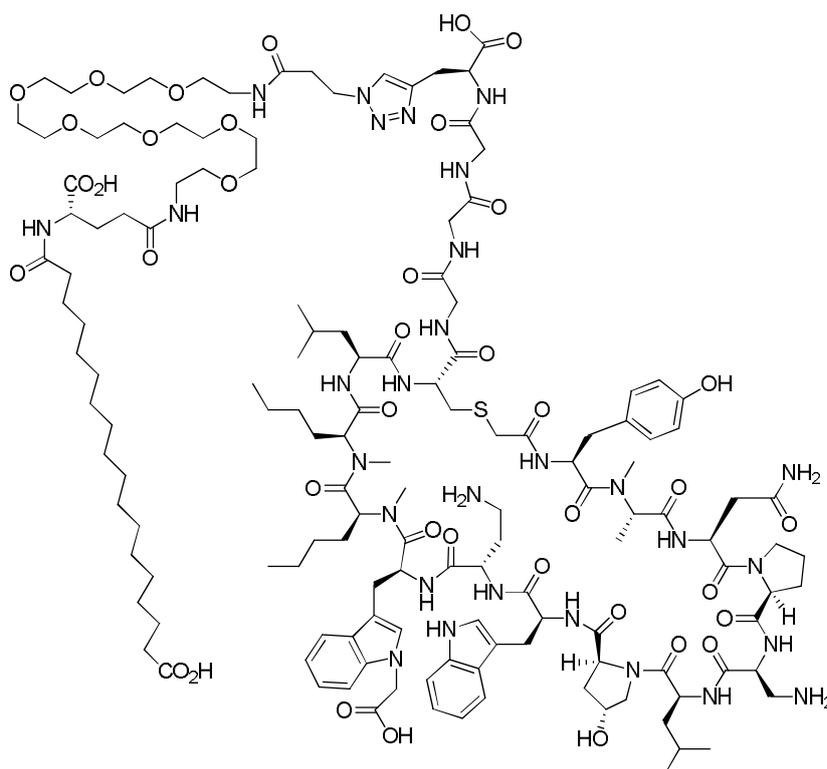
- 5 La solución de reacción se diluyó levemente en MeOH y se purificó mediante HPLC preparativa (2 inyecciones): 30 X 100 mm HPLC Phenomenex Luna 5 μ m 10 a 100 % de A:B durante 15 min, 3 min a 100 % de B (A es 90:10 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA; B es 10:90 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA). El rendimiento del producto fue de 8,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94 %. Condición I de análisis: Tiempo de retención = 10,06 min
- 10 Condición J de análisis: Tiempo de retención = 8,63 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1240,6560 (M+2H) Encontrado: 1240,6546 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13123

**Ejemplo 13123**

Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AA (41,3 mg, 20 μ mol) y ácido (S)-1-azido-28-carboxi-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oico (24,9 mg, 0,030 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. La solución de reacción se diluyó levemente en MeOH y se purificó mediante HPLC preparativa (2 inyecciones): 30 X 100 mm HPLC Phenomenex Luna 5 μ m 10 a 100 % de A:B durante 15 min, 3 min a 100 % de B (A es 90:10 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA; B es 10:90 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA)). El rendimiento del producto fue de 26,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94 %. Condición I de análisis: Tiempo de retención = 9,54 min
Condición J de análisis: Tiempo de retención = 8,13 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1430,2663 (M+2H)
Encontrado: 1430,2656 (M+2H).

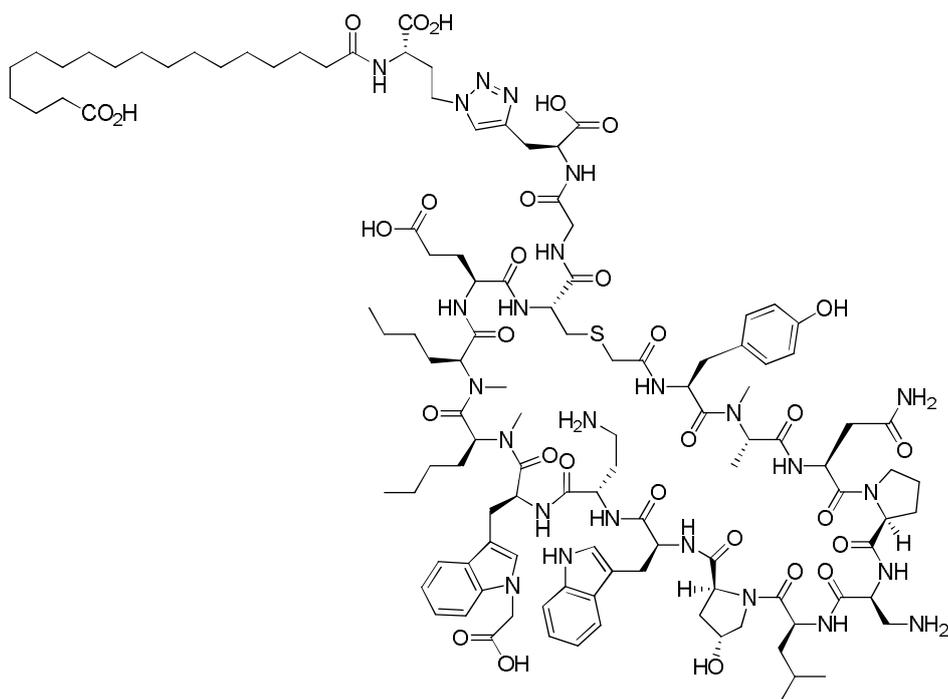
Preparación del Ejemplo 13124



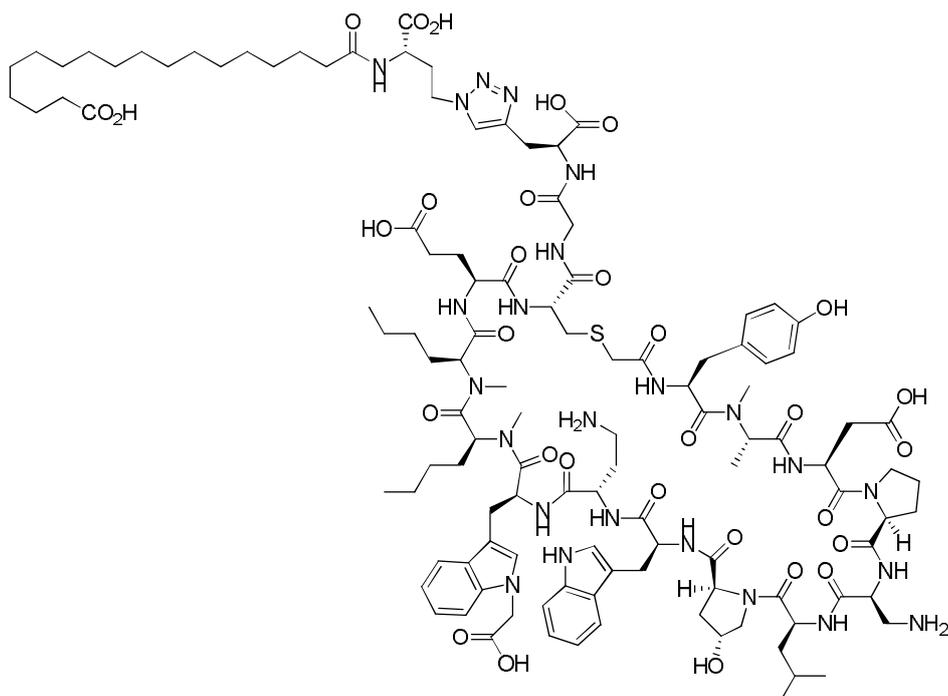
Ejemplo 13124

Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AB (40,7 mg, 19 μ mol) y ácido (S)-1-azido-28-carboxi-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oico (23,9 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. La solución de reacción se diluyó levemente en MeOH y se purificó mediante HPLC preparativa (2 inyecciones): 30 X 100 mm HPLC Phenomenex Luna 5 μ m 10 a 100 % de A:B durante 15 min, 3 min a 100 % de B (A es 90:10 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA; B es 10:90 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA)). El rendimiento del producto fue de 24,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición I de análisis: Tiempo de retención = 9,49 min; Condición J de análisis: Tiempo de retención = 8,08 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1458,7770 (M+2H) Encontrado: 1458,7743 (M+2H).

25 *Preparación del Ejemplo 13125*

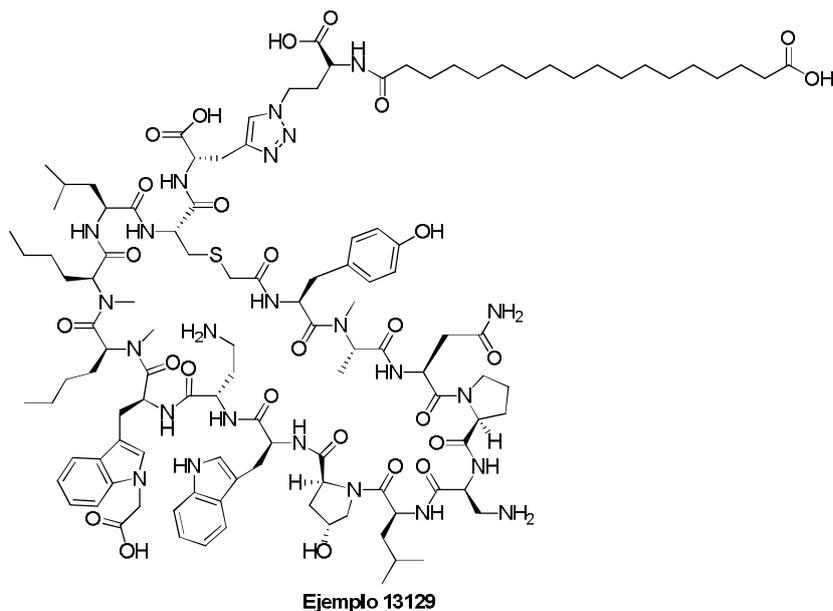
**Ejemplo 13125**

- 5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AD (22,1 mg, 11 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (6,1 mg, 0,014 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. La solución de reacción se diluyó levemente en MeOH y se purificó mediante HPLC preparativa (2 inyecciones): 30 X 100 mm HPLC Phenomenex Luna 5 μ m 10 a 100 % de A:B durante 15 min, 3 min a 100 % de B (A es 90:10 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA; B es 10:90 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA). El rendimiento del producto fue de 9,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición I de análisis: Tiempo de retención = 9,24 min; Condición J de análisis: Tiempo de retención = 8,00 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1220,1245 (M+2H) Encontrado: 1220,1208 (M+2H).
- 10

Preparación del Ejemplo 13126**Ejemplo 13126**

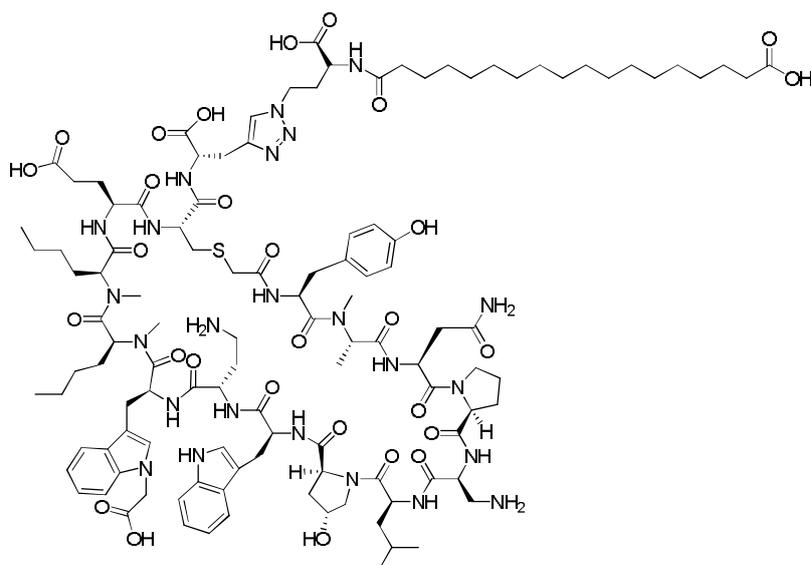
Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AE (24,5 mg, 12 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (6,8 mg, 0,015 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. La solución de reacción se diluyó levemente en MeOH y se purificó mediante HPLC preparativa (2 inyecciones): 30 X 100 mm HPLC Phenomenex Luna 5 μ m 10 a 100 % de A:B durante 15 min, 3 min a 100 % de B (A es 90:10 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA; B es 10:90 de agua:CH₃CN con 0,1 % de TFA)). El rendimiento del producto fue de 10,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición I de análisis: Tiempo de retención = 9,36 min Condición J de análisis: Tiempo de retención = 8,15 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1220,6165 (M+2H) Encontrado: 1220,6133 (M+2H).

10 *Preparación del Ejemplo 13129*



Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AF (35 mg, 18,0 μ mol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (10,01 mg, 0,023 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna C18 30 x 100 mm 5 μ m, disolvente A = 90:10 de H₂O:ACN 0,1 % de TFA, disolvente B = 10:90 de H₂O:CAN 0,1 % de TFA. Caudal: 40 ml / min, 10 -100 % de B. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 11,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,162 min; IEN-EM(+) *m/z* 1185,50 (M + 2H), ion más abundante.

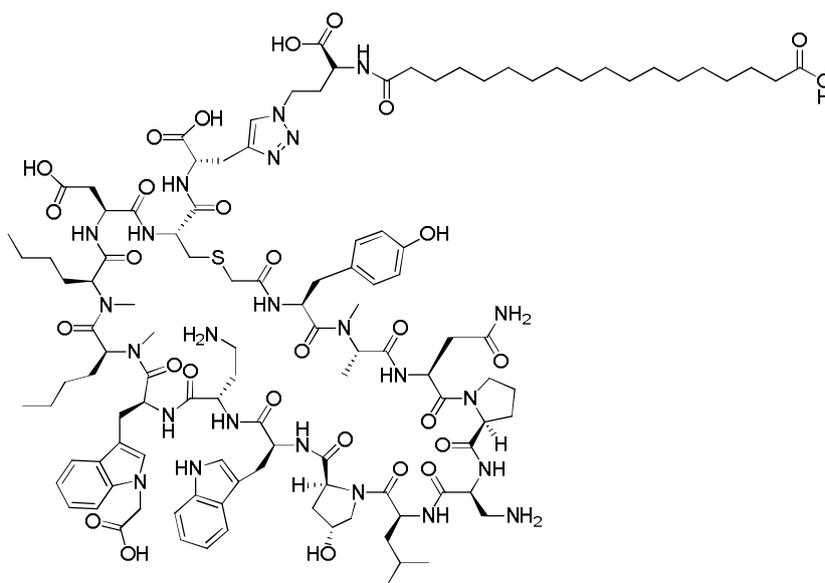
Preparación del Ejemplo 13130



Ejemplo 13130

Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AG (40,65 mg, 21,0 μmol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (11,53 mg, 0,026 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 4,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 93 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,541 min; IEN-EM(+) m/z 1191,5 (M + 2H), ion más abundante; Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,682 min; IEN-EM(+) m/z 1192,2 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1191,6138 (M+2H) Encontrado: 1191,6106 (M+2H).

15 Preparación del Ejemplo 13131



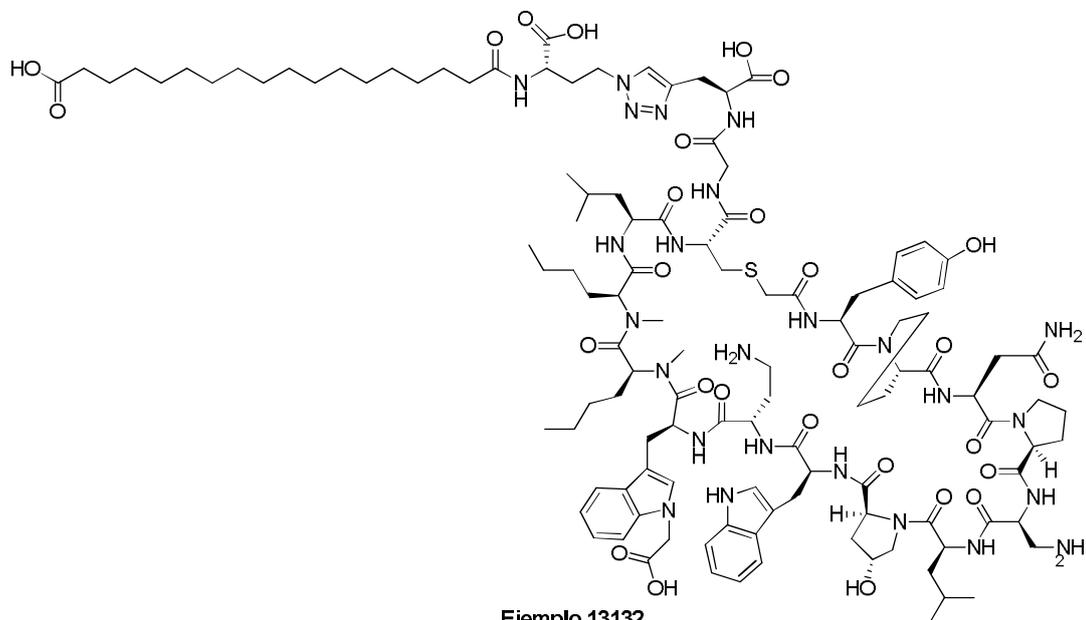
Ejemplo 13131

Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AH (40,37 mg, 21,0 μmol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (11,53 mg, 0,026 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que

contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,815 min; Condición K de análisis: Tiempo de retención = 1,684 min; IEN-EM(+) m/z 1185,2 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1184,6059 (M+2H) Encontrado: 1184,6031 (M+2H).

5

Preparación del Ejemplo 13132

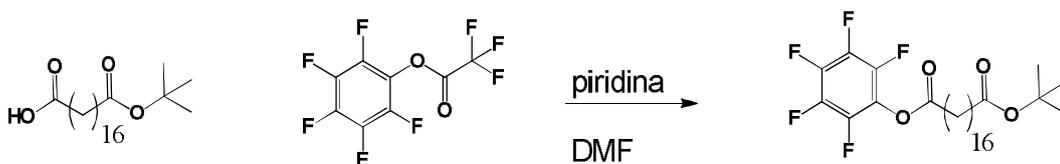


Ejemplo 13132

- 10 Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AI (46,4 mg, 23,0 μmol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (11,19 mg, 0,025 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 19 x mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 7,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición G de análisis: Tiempo de retención = 1,888 min; IEN-EM(+) m/z 817,9 (M + 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1225,1531 (M+2H) Encontrado: 1225,1521 (M+2H).

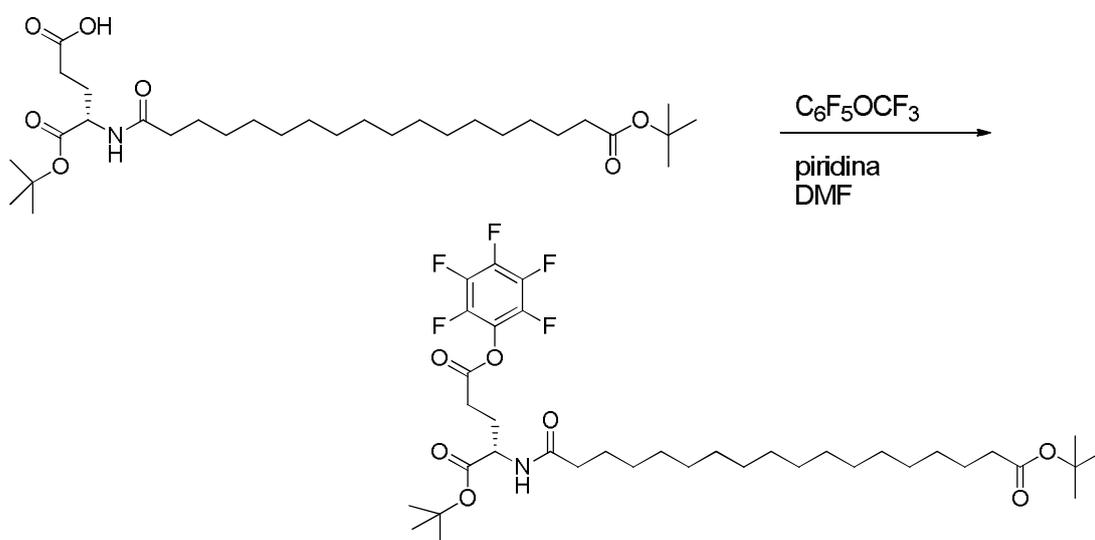
20

Preparación del Ejemplo 13133



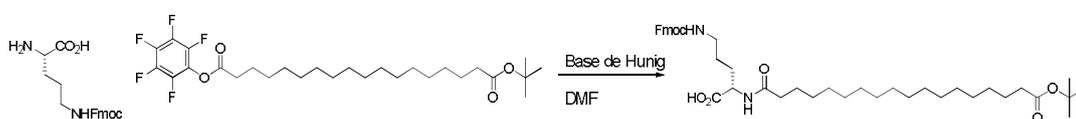
5 A una solución de ácido 18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanoico (5,00 g, 13,49 mmol) en DMF (54,0 ml), se le añadió piridina (3,82 ml, 47,2 mmol), y después trifluoroacetato de pentafluorofenilo (5,81 ml, 33,7 mmol). Se formó un gel, y se añadió una barra de agitación adicional a la mezcla de reacción. La mezcla se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró (embudo Buchner/papel) para obtener un sólido blanco, que se lavó con una pequeña cantidad de DMF. Se aspiró una atmósfera rica en nitrógeno a través de la torta de filtro durante algunas horas para obtener 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*terc*-butilo (6,24 g, 11,63 mmol, 86 % de rendimiento).

10 *Preparación de 5-(perfluorofenil) 2-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato de (S)-1-terc-butilo*



15 A una solución de ácido (S)-5-(*terc*-butoxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (350 mg, 0,630 mmol) en DMF (2519 μ l), se le añadió piridina (178 μ l, 2,204 mmol), y después trifluoroacetato de pentafluorofenilo (271 μ l, 1,574 mmol). El vial que contenía la solución resultante se purgó con nitrógeno y se tapó durante la noche. El producto observado se observó mediante CL/EM. La mezcla se diluyó con agua y ácido cítrico, y se extrajo 3 veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron en $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se usó en el estado en el cual se encontraba para otros procesos químicos.

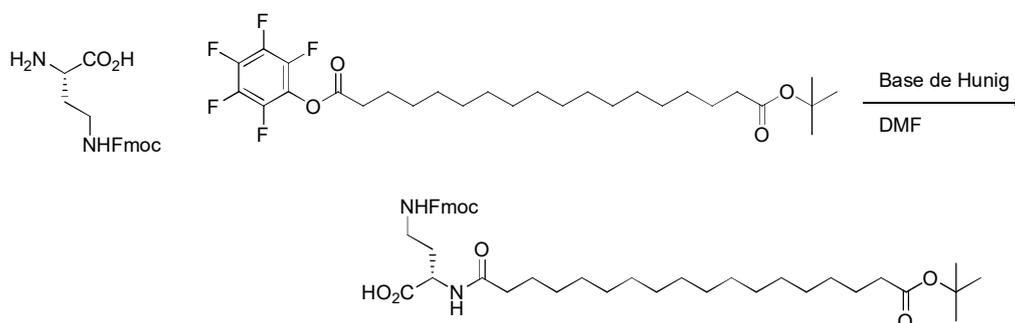
20 *Preparación de ácido (S)-5-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentanoico*



25 A una solución de 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*terc*-butilo (1,666 g, 3,10 mmol) en DMF (21,71 ml), se le añadió ácido (S)-5-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-aminopentanoico (1,0 g, 2,82 mmol) y base de Hunig (1,478 ml, 8,47 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. CL/EM mostró la formación del producto deseado. La mezcla se diluyó con una solución acuosa de ácido cítrico, y se extrajo 3 veces en CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos combinados se secaron en $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron al vacío.

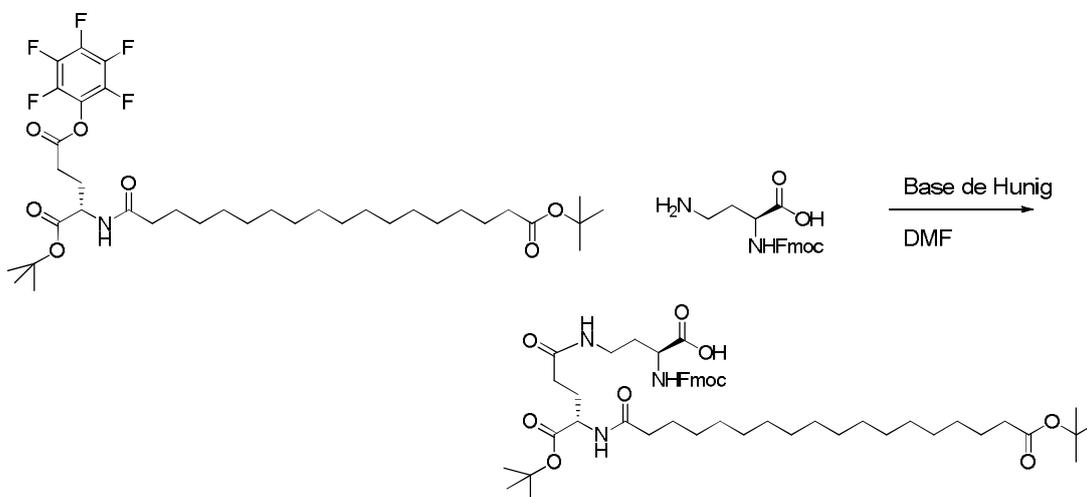
35 El material a granel se purificó mediante HPLC preparativa: (50 X 250 mm HPLC Sunfire C18 10 μ m 0 a 100 % de A:B durante 40 min, 10 min a 100 % de B (A es 90:10:0,1 de agua:MeOH:TFA; B es 90:10:0,1 de MeOH:agua:TFA)). Las ejecuciones posteriores se purificaron a 100 % de B (isocrático) durante 15 min. Las fracciones se agruparon, se ajustaron a pH neutro con base de Hunig y se concentraron en el evaporador giratorio. La capa acuosa residual se extrajo 3 veces con EtOAc, se filtró y se concentró al vacío para obtener ácido (S)-5-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentanoico (1,33 g, 1,881 mmol, 66,7 % de rendimiento).

Preparación de ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico



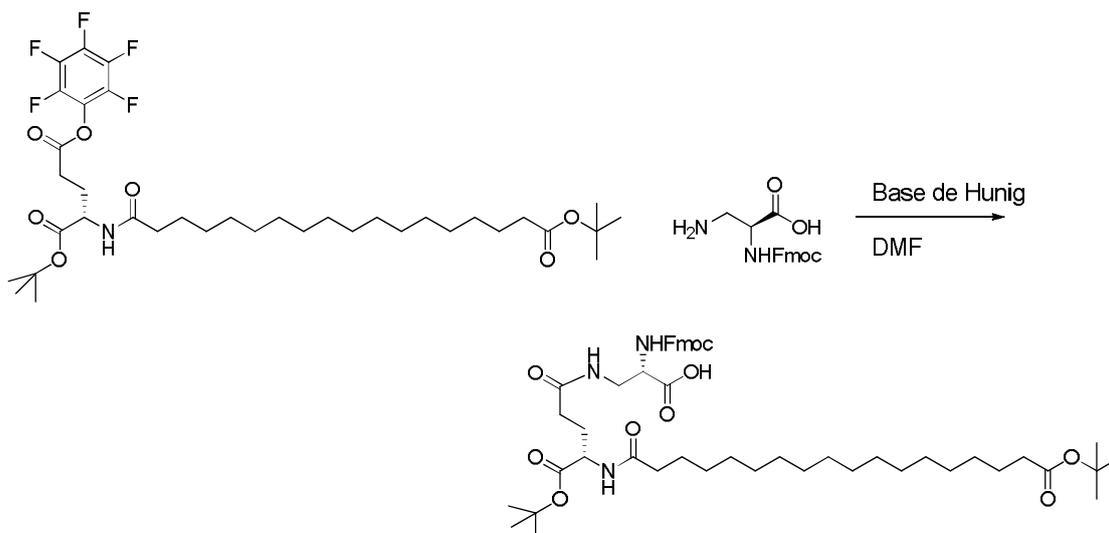
5 A una suspensión de 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-*tert*-butilo (1,155 g, 2,152 mmol) en DMF (1,66E+04 μ l), se le añadieron ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-aminobutanoico (827 mg, 2,430 mmol) y base de Hunig (1128 μ l, 6,46 mmol). La mezcla se agitó vigorosamente durante el fin de semana. La CL/EM mostró el producto deseado. La mezcla se diluyó con ácido cítrico acuoso y se extrajo 3 veces en CH_2Cl_2 . Los extractos orgánicos combinados se secaron en MgSO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El material se absorbió en una solución turbia en MeOH. La filtración a través de una frita de 0,45 μ m fue lenta (se usaron varios filtros) para obtener una solución transparente. Se purificó mediante HPLC preparativa: (50 X 250 mm HPLC Sunfire C18 10 μ m de 100 % de B durante 14 min, (A es 90:10:0,1 de agua:MeOH:TFA; B es 90:10:0,1 de MeOH:agua:TFA)). Las fracciones se agruparon, se ajustaron a neutro con base de Hunig y se concentraron en el evaporador giratorio. Se aisló ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico (778,42 mg, 1,123 mmol, 52,2 % de rendimiento).

Preparación de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)butanoico



25 A una solución de 5-(perfluorofenil) 2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato de (S)-1-*tert*-butilo en bruto (455 mg, 0,63 mmol) en DMF (6300 μ l), se le añadió base de Hunig (440 μ l, 2,52 mmol), después ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-aminobutanoico (214 mg, 0,630 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con ácido cítrico y se extrajo 3 veces en EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en MgSO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa: (50 X 250 mm HPLC Sunfire C18 10 μ m 10 a 100 % de A:B durante 30 min, 5 min a 100 % de B (A es 90:10:0,1 de agua:MeOH:TFA; B es 90:10:0,1 de MeOH:agua:TFA)). El material se eluyó durante la sección isocrática de 100 % de B, por lo que no fue necesario el gradiente. Las fracciones se neutralizaron con base de Hunig y se concentraron en la aspiradora de velocidad. El residuo se absorbió en EtOAc y se lavó dos veces con agua y una vez con salmuera. La capa orgánica se secó en MgSO_4 , se filtró y se concentró al vacío para obtener ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)butanoico (288 mg, 0,328 mmol, 52,1 % de rendimiento).

Preparación de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-((S)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)propanoico



A una solución de 5-(perfluorofenil) 2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato de (*S*)-1-*tert*-butilo en bruto (1163 mg, 1,611 mmol) en DMF (1,61E+04 μ l), se le añadió base de Hunig (1125 μ l, 6,44 mmol), después ácido (*S*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-aminopropanoico (578 mg, 1,772 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. CL/EM mostró la formación del producto. La mezcla se diluyó con agua. Se añadió ácido cítrico, lo cual produjo un precipitado blanco. La mezcla se extrajo con EtOAc, y, después de agitar vigorosamente, el sólido se disolvió. Se formó una emulsión, y se añadieron DCM y agua salada para ayudar en la separación de capas. Las capas combinadas se hicieron pasar a través de una almohadilla de celite para ayudar en la separación de la emulsión, lo cual dejó un residuo viscoso en el celite. Las capas se separaron, y la fase acuosa se lavó con DCM. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa: (50 X 250 mm HPLC Sunfire C18 10 μ m 100 % de B durante 14 min (A es 90:10:0,1 de agua:MeOH:TFA; B es 90:10:0,1 de MeOH:agua:TFA)). Las fracciones se neutralizaron con base de Hunig y se concentraron en el evaporador giratorio para obtener ácido (*S*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-((*S*)-5-(*tert*-butoxi)-4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)propanoico (940 mg, 1,088 mmol, 67,5 % de rendimiento).

Preparación de resina de clorotritilo modificada 13A

La resina de 2-clorotritilo (713 mg, 1,141 mmol) se expandió con CH₂Cl₂ (7 ml). Se preparó una solución de ácido (*S*)-5-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentanoico (252 mg, 0,356 mmol), base de Hunig (0,405 ml, 2,317 mmol) y 1-cloro-4-metilbenceno (0,021 ml, 0,178 mmol) en CH₂Cl₂ (3,5 ml), se analizó mediante CL/EM y se añadió a la resina expandida. La mezcla se agitó a temperatura ambiente mientras se controlaba la desaparición del material de inicio. Después de ~45 min, el material estaba casi completamente unido a la resina. Se añadieron 13 ml de 9:1 de MeOH/base de Hunig, y la mezcla se filtró durante 1 minuto. La resina se enjuagó 3 veces con DCM (con agitación durante ~20 s entre lavados). La resina después se agitó con ~20 ml de DMF durante 5 min, después se filtró. Esto se repitió 2 veces más con DMF, después 3 veces con DCM. La resina se secó en el embudo frito mientras se hacía pasar N₂ a través de la resina. El peso total de la resina fue de 0,76 g. Se absorbieron 60,06 mg de resina, y se agitó durante 1 min con 1 ml de 20 % de hexafluoroisopropanol en DCM. Se filtró y se enjuagó con más solución de escisión, después DCM. La concentración de los filtrados combinados produjo 11,94 mg (0,1689 mmol) de material escindido. De esta manera, la carga medida fue de 0,281 meq/g, y el rendimiento incorporado fue de 60 %.

Preparación de resina de clorotritilo modificada 13B

La resina de 2-clorotritilo (1622 mg, 2,60 mmol) se expandió con CH₂Cl₂ (1,59E+04 μ l). Se preparó una solución de ácido (*S*)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico (561,95 mg, 0,811 mmol), base de Hunig (921 μ l, 5,27 mmol) y 1-cloro-4-metilbenceno (48,0 μ l, 0,405 mmol) en CH₂Cl₂ (7951 μ l), se analizó mediante CL/EM y se añadió a la resina expandida. La mezcla se agitó a temperatura ambiente mientras se controlaba la desaparición del material de inicio. Después de ~45 min, el material estaba casi completamente unido a la resina. Se añadieron 30 ml de 9:1 de MeOH/base de Hunig, y la mezcla se filtró durante 1 minuto. La resina se enjuagó 3 veces con DCM (con agitación durante ~20 s entre lavados). La resina después se agitó con ~20 ml de DMF durante 5 min, después se filtró. Esto se repitió 2 veces más con DMF, después 3 veces con DCM. La resina se secó en el embudo frito mientras se hacía pasar N₂ a través de la resina. El peso total de la resina fue de 1,93 g. 76,45 mg de resina [omisión en el texto fuente], y se agitó durante 1 min con 1 ml de 20 % de hexafluoroisopropanol en DCM. Se filtró y se enjuagó con más solución de escisión, después DCM. La concentración de los filtrados combinados produjo 20,67 mg (0,2983 mmol) de material escindido. De esta manera, la carga medida

fue de 0,39 meq/g, y el rendimiento incorporado fue de 93 %.

Preparación de resina de clorotritilo modificada 13C

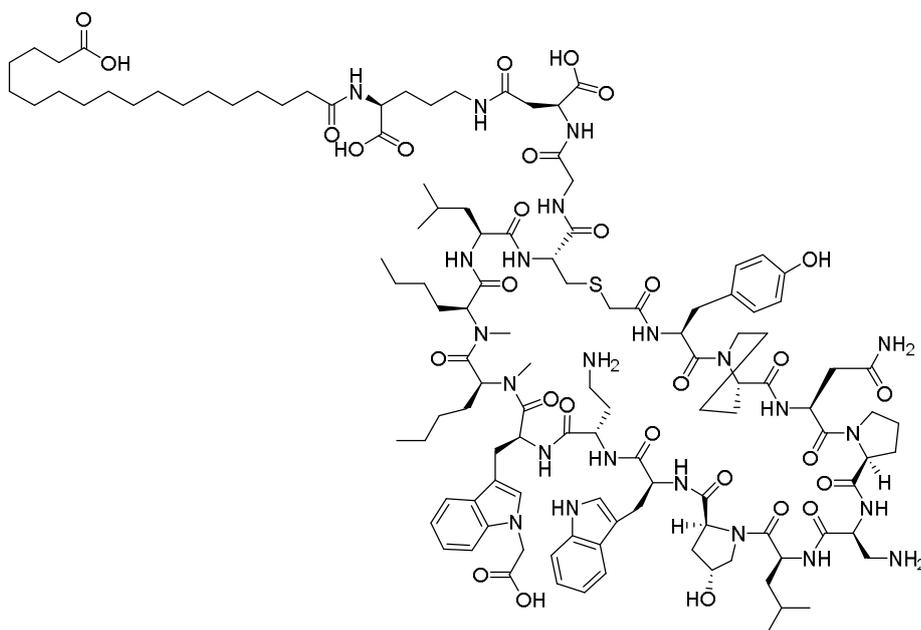
- 5 La resina de 2-clorotritilo (656 mg, 1,049 mmol) se expandió con CH₂Cl₂ (6431 µl). Después de 10 min, se añadieron 186 ul de base de Hunig, y el humo blanco resultante se purgó del matraz con nitrógeno. Se preparó una solución de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-((S)-5-(*terc*-butoxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)butanoico (288 mg, 0,328 mmol), base de Hunig (372 µl, 2,132 mmol) y 1-cloro-4-metilbenceno (19,42 µl, 0,164 mmol) en CH₂Cl₂ (3215 µl), se analizó mediante CL/EM y se añadió a la resina expandida. NOTA: Se añadió una porción de 0,5 ml de DMF para ayudar en la disolución del material de inicio. La mezcla se agitó a temperatura ambiente mientras se controlaba la desaparición del material de inicio. La reacción parecía estar deteniéndose, por lo que se añadieron 186 ul más de base de Hunig. Después de 30 min más, no se observó progreso significativo. Se añadieron 131 mg de resina de clorotritilo, y la mezcla se volvió a agitar a temperatura ambiente durante la noche. CL/EM aún mostraba material de inicio, pero la reacción se finalizó de todas maneras. Se añadieron 30 ml de 9:1 de MeOH/base de Hunig, y la mezcla se filtró durante un minuto. La resina se enjuagó 3 veces con DCM (con agitación durante ~20 s entre lavados). La resina después se agitó con ~20 ml de DMF durante 5 min, después se filtró. Esto se repitió 2 veces más con DMF, después 3 veces con DCM. La resina se secó en el embudo fritado mientras se hacía pasar N₂ a través de la resina.
- 10 El peso total de la resina fue de 954 mg. Se agitaron 49,96 mg de resina durante 1 min con 2 ml de 20 % de hexafluoroisopropanol en DCM. Se filtró y se enjuagó con más solución de escisión, después DCM. La concentración de los filtrados combinados produjo 10,16 mg (,01157 mmol) de material escindido. De esta manera, la carga medida fue de 0,23 meq/g, y el rendimiento incorporado fue de 67 %.

Preparación de resina de clorotritilo modificada 13D

- 25 La resina de 2-clorotritilo (2176 mg, 3,48 mmol) se expandió con CH₂Cl₂ (2,13E+04 µl). Después de 10 min, se añadieron 186 ul de base de Hunig, y el humo blanco resultante se purgó del matraz con nitrógeno. Se preparó una solución de ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-((S)-5-(*terc*-butoxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanamido)propanoico (940 mg, 1,088 mmol), base de Hunig (1235 µl, 7,07 mmol) y 1-cloro-4-metilbenceno (64,4 µl, 0,544 mmol) en CH₂Cl₂ (1,07E+04 µl), se analizó mediante CL/EM y se añadió a la resina expandida. La mezcla se agitó a temperatura ambiente mientras se controlaba la desaparición del material de inicio. La reacción estaba un ~97 % completa en ~1 h. Se añadieron 100 ml de 9:1 de MeOH/base de Hunig, y la mezcla se filtró durante 1 minuto. La resina se enjuagó 3 veces con DCM (con agitación durante ~20 s entre lavados). La resina después se agitó con ~60 ml de DMF durante 5 min, después se filtró. Esto se repitió 2 veces más con DMF, después 3 veces con DCM. La resina se secó en el embudo fritado mientras se hacía pasar N₂ a través de la resina. El peso total de la resina fue de 2,57 g. Se agitaron 85,11 mg de resina durante 1 min con 2 ml de 20 % de hexafluoroisopropanol en DCM. Se filtró y se enjuagó con más solución de escisión, después DCM. La concentración de los filtrados combinados produjo 17,51 mg (,02026 mmol) de material escindido. De esta manera, la carga medida fue de 0,238 meq/g, y el rendimiento incorporado fue de 56 %.

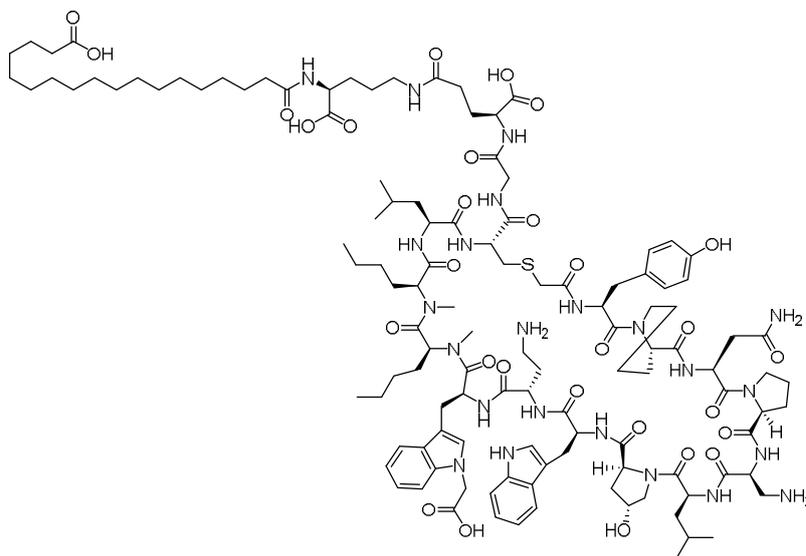
40

Preparación del Ejemplo 13141



El Ejemplo 13141 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAC-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13A]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 19 X 250 XSelect CSH Prep C18 5 um, 20 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se usó amoníaco concentrado para ajustar el pH de las fracciones a 7, y las fracciones se concentraron en la aspiradora de velocidad. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,13S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxi-bencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaioxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,15-tetraoxo-2,5,9,14-tetraazahentriacontan-6,13,31-tricarboxílico (6,01 mg, 2,242 μ mol, 2,242 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 9,96 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,61 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1220,1553 (M+2H) Encontrado: 1220,1573 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13142

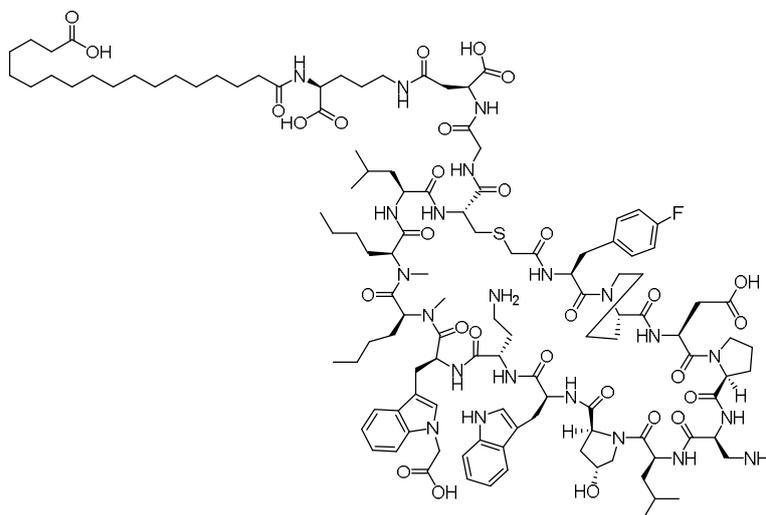


El Ejemplo 13142 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAC-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Glu(OtBu)-[Resina modificada 13A]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 19 X 250 XSelect CSH Prep C18 5 um, 20 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se usó amoníaco concentrado para ajustar el pH de las fracciones a 7, y las fracciones se concentraron en la aspiradora de velocidad. El sólido residual contenía una gran cantidad de trifluoroacetato de amonio, el cual se retiró mediante varios ciclos de liofilización para obtener (6S,14S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxi-bencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaioxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,9,16-tetraoxo-2,5,10,15-tetraazadotriacontan-6,14,32-tricarboxílico, 2 TFA (3,66 mg, 1,296 μ mol, 1,296 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,00 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,64 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1227,1631 (M+2H) Encontrado: 1227,1669 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13143

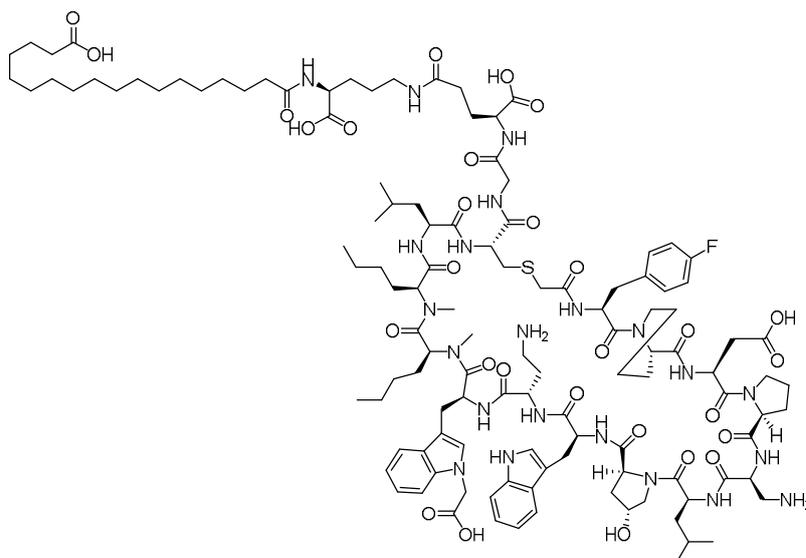
El Ejemplo 13144 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAC-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,12S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaioxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,14-tetraoxo-2,5,9,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (9,57 mg, 3,43 μmol, 3,43 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 9,98 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,66 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1213,1474 (M+2H) Encontrado: 1213,1513 (M+2H).

20 Preparación del Ejemplo 13145



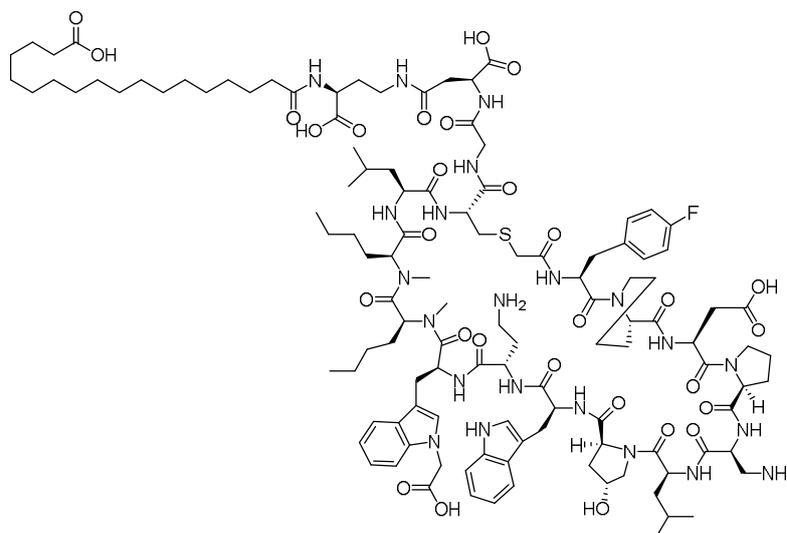
El Ejemplo 13145 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAC-[p-fluorofenilalanina]-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13A]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,13S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-50-(carboximetil)-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-7-(4-fluorobencil)-35-hidroxi-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaioxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,15-tetraoxo-2,5,9,14-tetraazahentriacontan-6,13,31-tricarboxílico, 2 TFA (10,57 mg, 3,88 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,43 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,57 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 814,7658 (M+3H) Encontrado: 814,7697 (M+3H).

Preparación del Ejemplo 13146



El Ejemplo 13146 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[p-fluorofenilalanina]-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Glu(OtBu)-[Resina modificada 13A]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron dos inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,14S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-50-(carboximetil)-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-7-(4-fluorobencil)-35-hidroxi-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolo[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,9,16-tetraoxo-2,5,10,15-tetraazadotriacontan-6,14,32-tricarboxílico, 2 TFA (4,03 mg, 1,441 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,50 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,55 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1228,6529 (M+2H) Encontrado: 1228,6581 (M+2H).

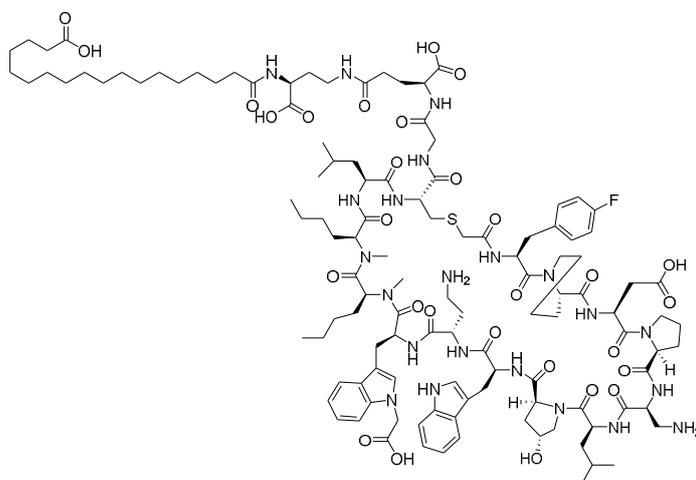
Preparación del Ejemplo 13147



El Ejemplo 13147 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[p-

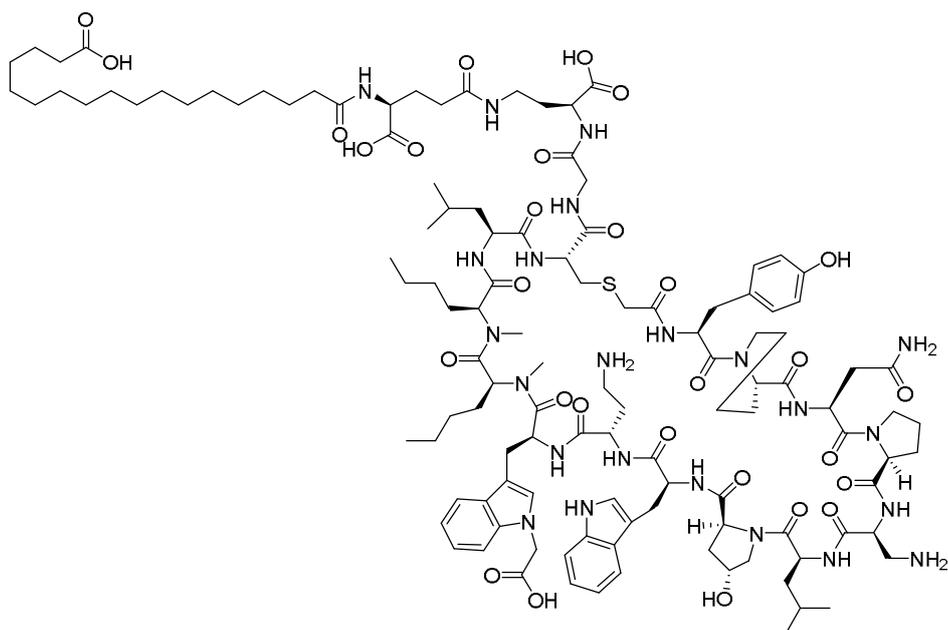
fluorofenilalanina]-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido *(S)*-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron dos inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,12S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-50-(carboximetil)-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-7-(4-fluorobencil)-35-hidroxi-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolo[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,14-tetraoxo-2,5,9,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (17,72 mg, 6,60 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,38 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,47 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1214,6355 (M+2H) Encontrado: 1214,6373 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13148



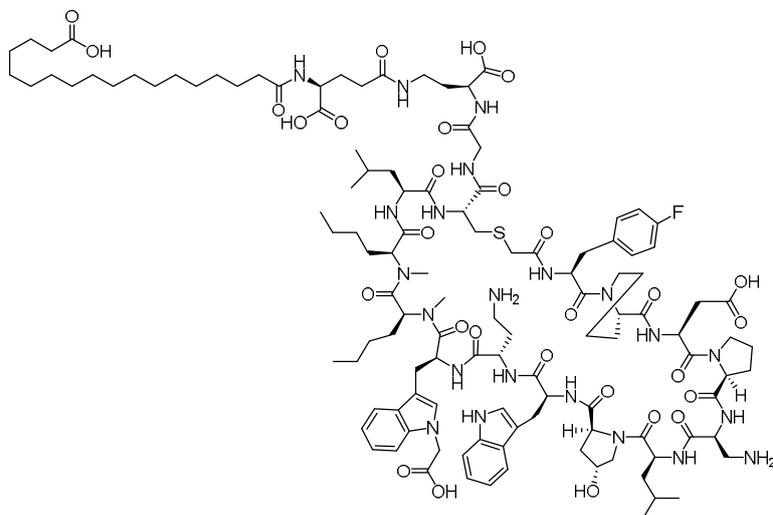
El Ejemplo 13148 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[p-fluorofenilalanina]-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido *(S)*-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Glu(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,13S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-50-(carboximetil)-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-7-(4-fluorobencil)-35-hidroxi-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolo[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,9,15-tetraoxo-2,5,10,14-tetraazahentriacontan-6,13,31-tricarboxílico, 2 TFA (13,42 mg, 4,77 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 12,60 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 10,67 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1221,6451 (M+2H) Encontrado: 1221,6421 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13149



El Ejemplo 13149 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido *(S)*-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[Resina modificada 13C]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,13S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,10,15-tetraoxo-2,5,9,14-tetraazahentriacontan-6,13,31-tricarboxílico, 2 TFA (22,17 mg, 7,64 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,04 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,76 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1220,1553 (M+2H) Encontrado: 1220,1526 (M+2H).

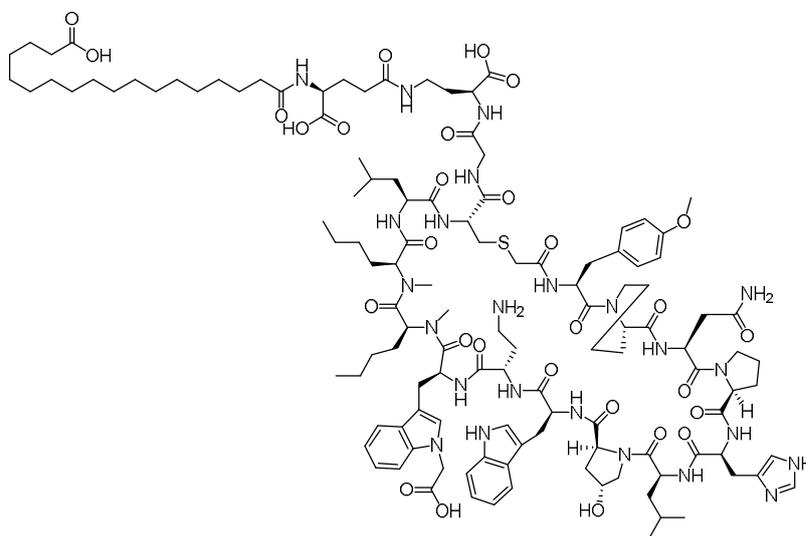
Preparación del Ejemplo 13150



El Ejemplo 13150 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores,

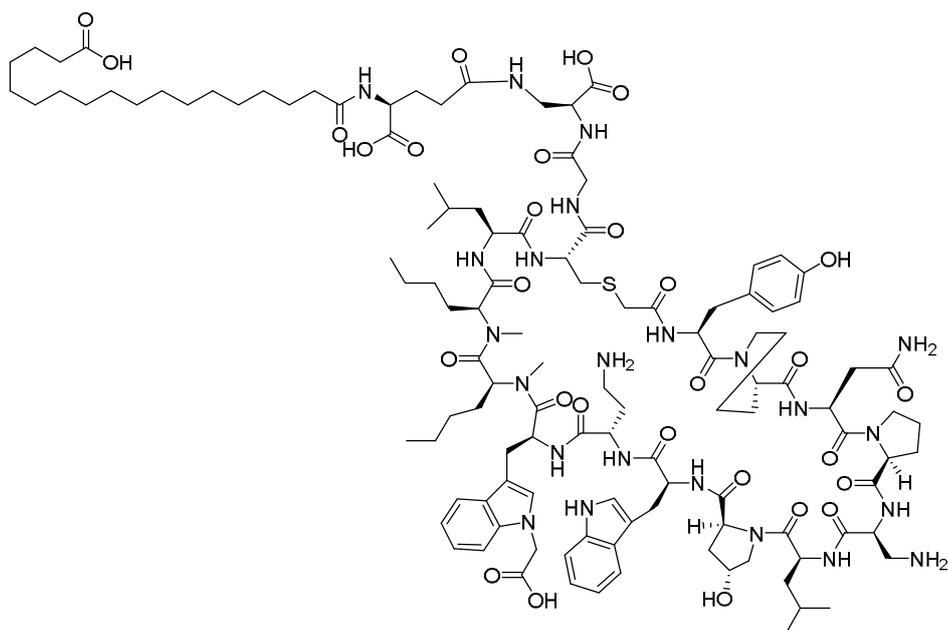
incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[p-fluorofenilalanina]-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[Resina modificada 13C]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,13S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-50-(carboximetil)-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-7-(4-fluorobencil)-35-hidroxi-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,10,15-tetraoxo-2,5,9,14-tetraazahentriacontan-6,13,31-tricarboxílico, 2 TFA (12,96 mg, 4,37 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 12,52 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 10,61 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1221,6451 (M+2H) Encontrado: 1221,6429 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13151



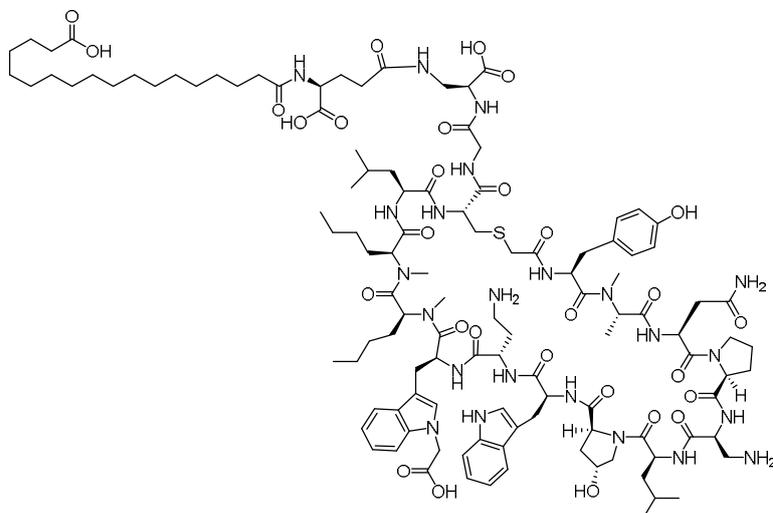
El Ejemplo 13151 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[p-metoxifenilalanina]-Pip-Asn-Pro-His-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[Resina modificada 13C]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,13S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-42-((1H-imidazol-4-il)metil)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-16,39-diisobutil-7-(4-metoxibencil)-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,10,15-tetraoxo-2,5,9,14-tetraazahentriacontan-6,13,31-tricarboxílico, 2 TFA (18,49 mg, 6,63 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,80 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 10,12 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1252,6685 (M+2H) Encontrado: 1252,6670 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13152



El Ejemplo 13152 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[Resina modificada 13D]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos confirmaron ácido (6S,12S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaioxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,9,14-tetraoxo-2,5,8,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (20,36 mg, 6,90 μmol, 6,90 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,51 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,22 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1213,1474 (M+2H) Encontrado: 1213,1440 (M+2H).

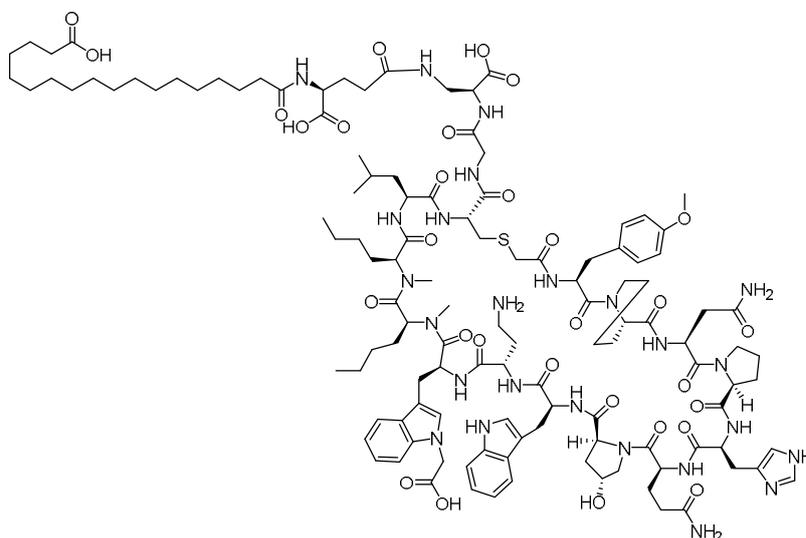
Preparación del Ejemplo 13153



El Ejemplo 13153 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores,

incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-[N-Me]Ala-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[Resina modificada 13D]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,12S)-1-((6S,9S,12S,18R,21S,24S,27S,30S,33S,36S,38aS,40R,44S,47S,49aS)-36-((1H-indol-3-il)metil)-6-(2-amino-2-oxoetil)-33-(2-aminoetil)-47-(aminometil)-24,27-dibutil-30-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-40-hidroxi-12-(4-hidroxibencil)-21,44-diisobutil-9,10,25,28-tetrametil-5,8,11,14,20,23,26,29,32,35,38,43,46,49-tetradecaaxooctatetracontahidrodipirrol[2,1-g₁:2',1'-x][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tiatetradecaazaciclopentatetracontin-18-il)-1,4,9,14-tetraoxo-2,5,8,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (21,88 mg, 7,91 μmol, 7,91 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,37 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,04 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1200,1396 (M+2H) Encontrado: 1200,1373 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13154

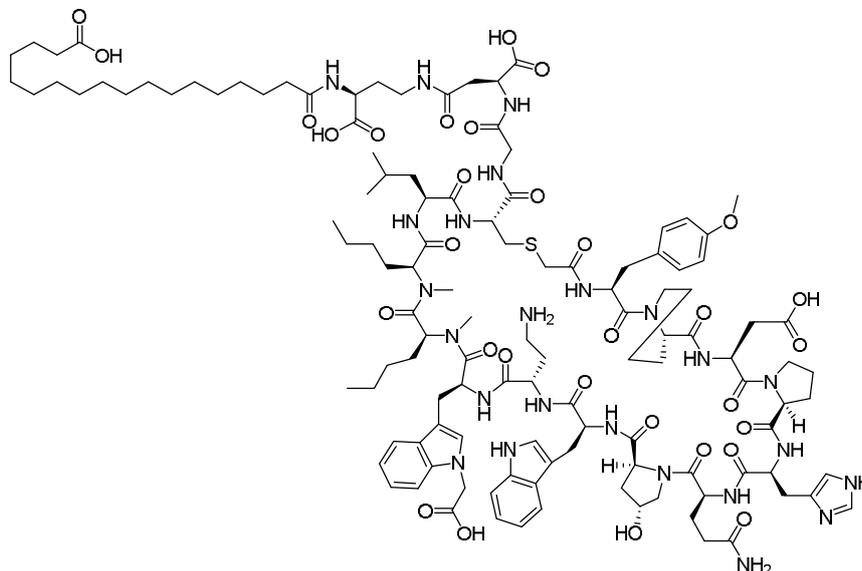


El Ejemplo 13154 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[p-metoxifenilalanina]-Pip-Asn-Pro-His-Gln-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[Resina modificada 13D]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,12S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-42-((1H-imidazol-4-il)metil)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-39-(3-amino-3-oxopropil)-28-(2-aminoetil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-16-isobutil-7-(4-metoxibencil)-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaaxooxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tiatetradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,9,14-tetraoxo-2,5,8,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (6,71 mg, 2,209 μmol, 2,209 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,04 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,34 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1253,1480 (M+2H) Encontrado: 1253,1443 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13155

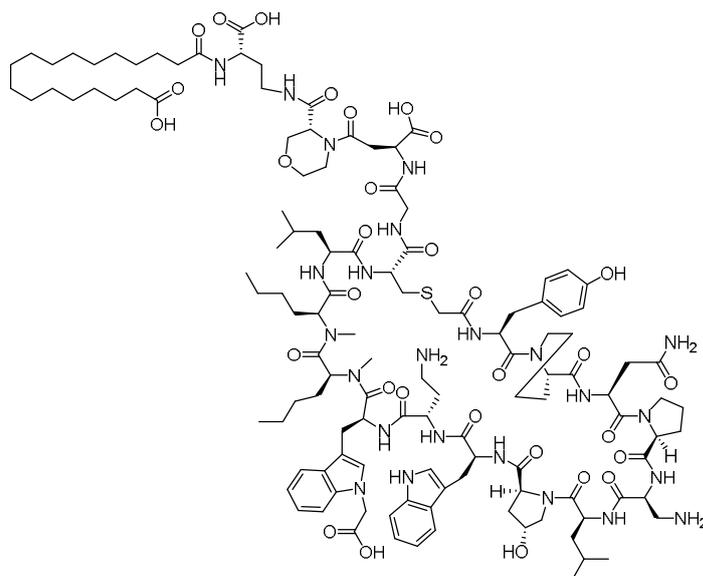
de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[*p*-metoxifenilalanina]-Pip-*Asn*-Pro-His-*Gln*-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,12S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-42-((1H-imidazol-4-il)metil)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-39-(3-amino-3-oxopropil)-28-(2-aminoetil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-16-isobutil-7-(4-metoxibencil)-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,14-tetraoxo-2,5,9,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (10,73 mg, 3,53 μmol, 3,53 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,92 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,27 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1253,1480 (M+2H) Encontrado: 1253,1448 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13157



El Ejemplo 13157 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-[*p*-metoxifenilalanina]-Pip-*Asp*-Pro-His-*Gln*-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,12S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-42-((1H-imidazol-4-il)metil)-31-((1H-indol-3-il)metil)-39-(3-amino-3-oxopropil)-28-(2-aminoetil)-19,22-dibutil-50-(carboximetil)-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-16-isobutil-7-(4-metoxibencil)-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,14-tetraoxo-2,5,9,13-tetraazatriacontan-6,12,30-tricarboxílico, 2 TFA (12,14 mg, 4,22 μmol, 4,22 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 11,09 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 9,42 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1253,6400 (M+2H) Encontrado: 1253,6367 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13158



El Ejemplo 13158 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento

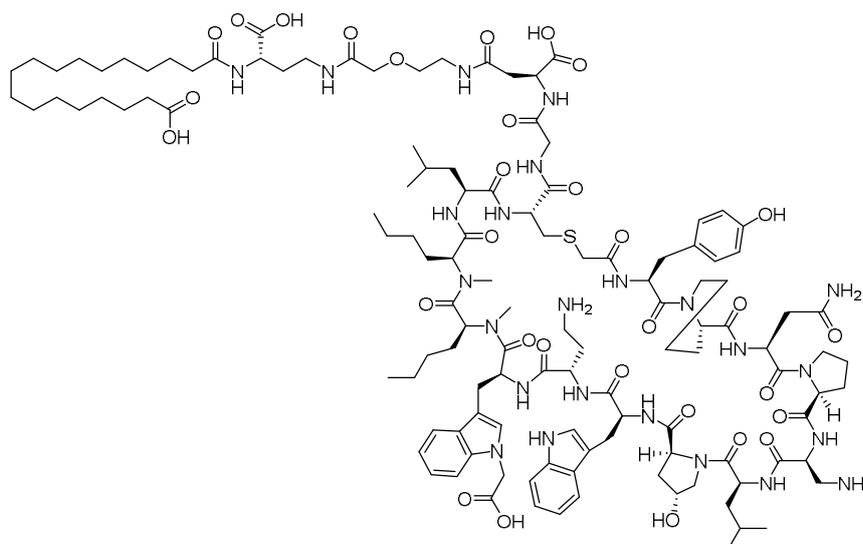
5 de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[ácido morfolin-3R-carboxílico]-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones

10 a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido 18-(((S)-3-((R)-4-((S)-3-(2-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-

15 oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrollo[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-carboxamido)acetamido)-3-carboxipropanoilo)morfolin-3-carboxamido)-1-carboxipropil)amino)-18-

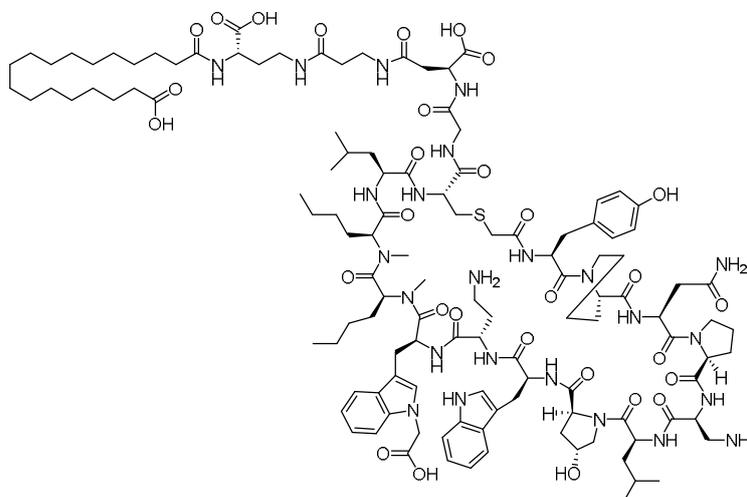
20 oxooctadecanoico, 2 TFA (22,68 mg, 7,38 μmol, 7,38 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,15 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,82 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1269,6713 (M+2H) Encontrado: 1269,6671 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13159



El Ejemplo 13159 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. CIAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[ácido 2-(2-aminoetoxi)acético]-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,18S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,14,20-pentaoxo-12-oxa-2,5,9,15,19-pentaazahexatriacontan-6,18,36-tricarboxílico, 2 TFA (12,14 mg, 3,97 μmol, 3,97 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,01 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,70 min; IEN-HRMS(+) m/z: Calculado: 1263,6713 (M+2H) Encontrado: 1263,6668 (M+2H).

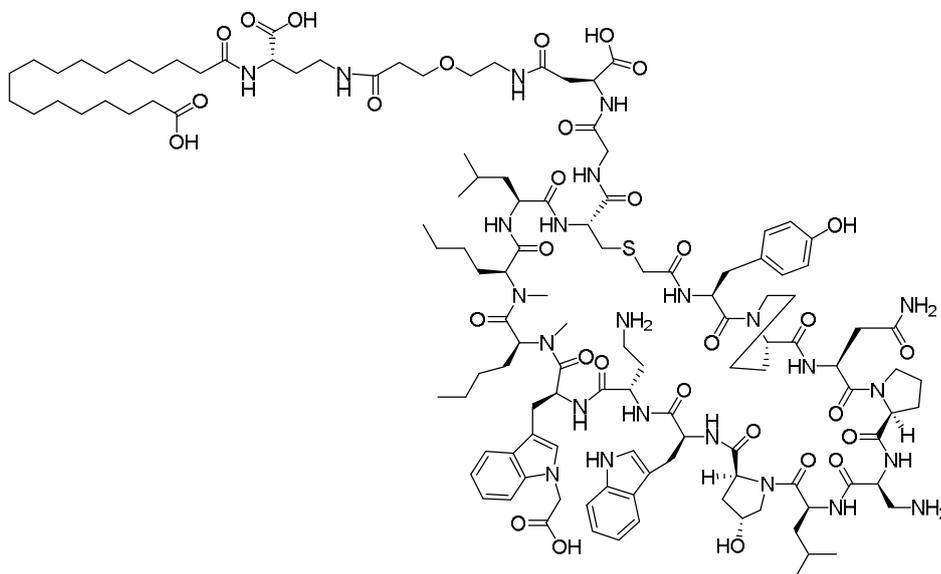
Preparación del Ejemplo 13160



El Ejemplo 13160 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento

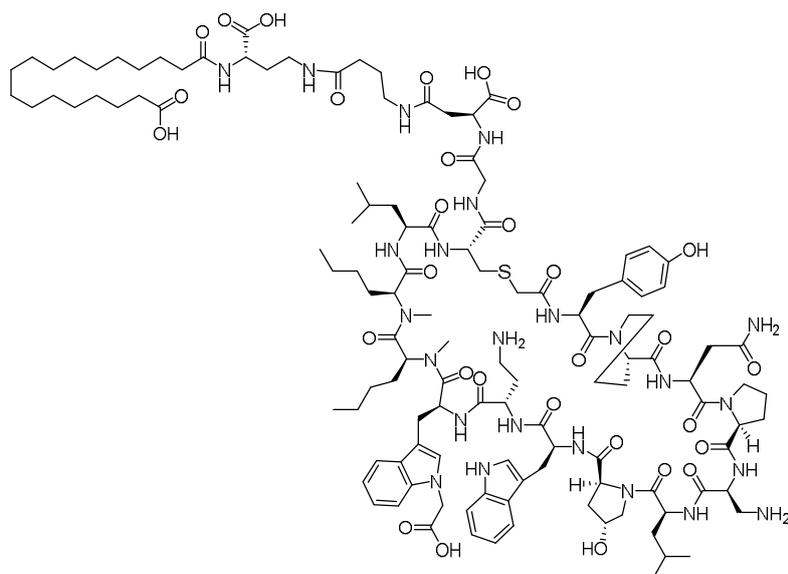
de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[ácido 3-aminopropanoico]-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,16S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolo[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,12,18-pentaoxo-2,5,9,13,17-pentaazatetracontan-6,16,34-tricarboxílico, 2 TFA (11,56 mg, 4,03 μmol). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,00 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,69 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1248,6660 (M+2H) Encontrado: 1248,6622 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13161



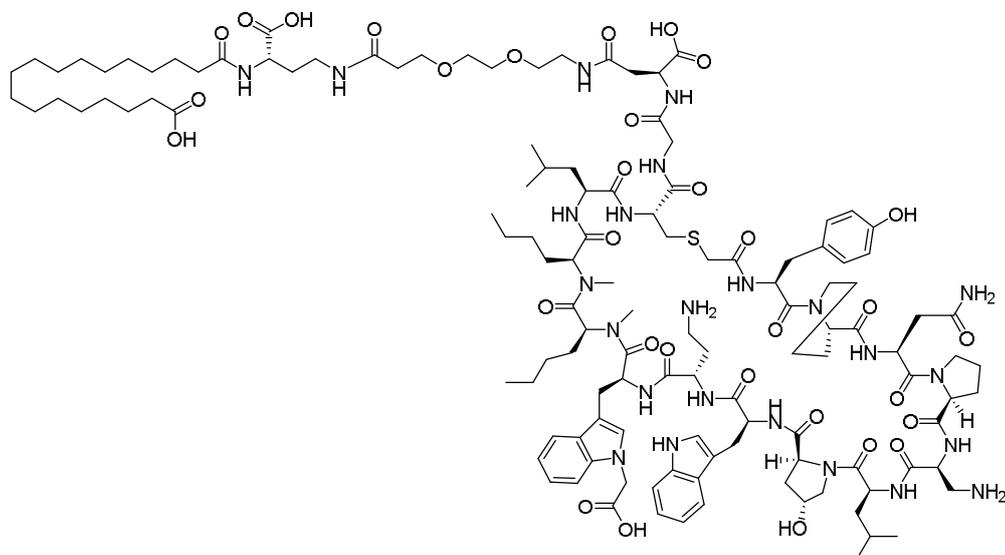
El Ejemplo 13161 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[ácido 3-(2-aminoetoxi)propanoico]-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,19S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolo[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,15,21-pentaoxo-12-oxa-2,5,9,16,20-pentaazaheptatriacontan-6,19,37-tricarboxílico, 2 TFA (22,02 mg, 7,55 μmol, 7,55 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,01 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,69 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1270,6791 (M+2H) Encontrado: 1270,6751 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13162



El Ejemplo 13162 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-[ácido 4-aminobutanoico]-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,17S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,13,19-pentaoxo-2,5,9,14,18-pentaazapentatriacontan-6,17,35-tricarboxílico, 2 TFA (17,91 mg, 6,08 μmol, 6,08 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,07 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,73 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1255,6738 (M+2H) Encontrado: 1255,6692 (M+2H).

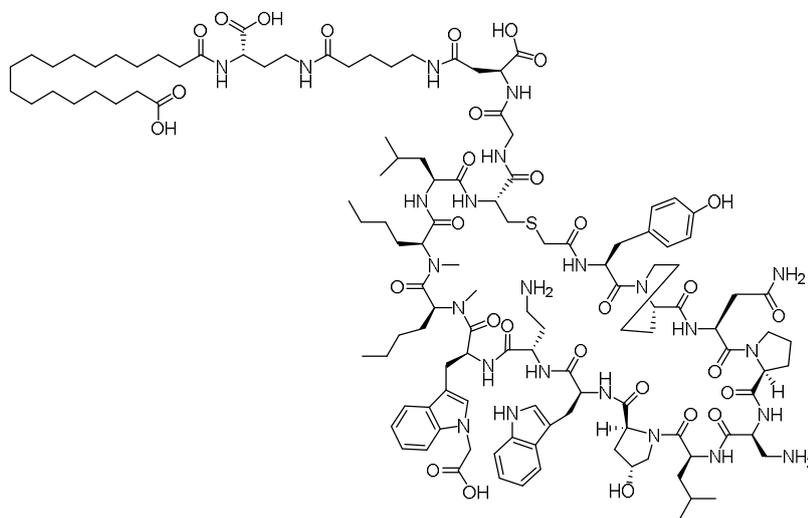
Preparación del Ejemplo 13163



El Ejemplo 13163 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento

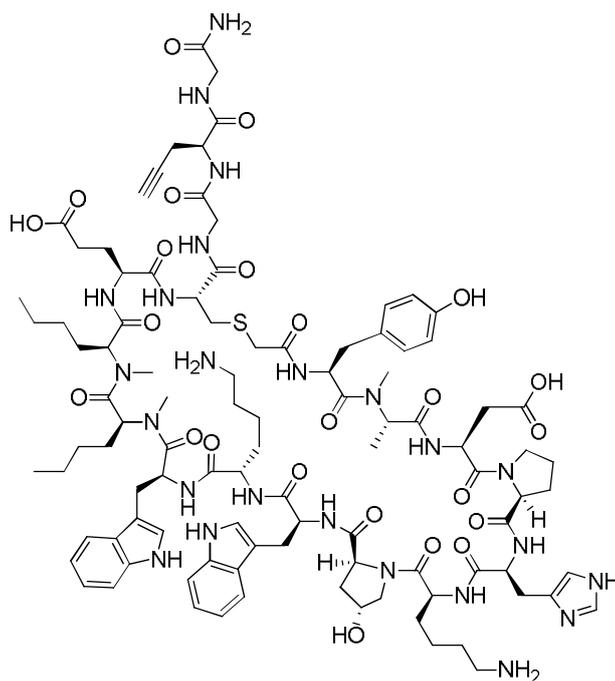
de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-*[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]*-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-*[ácido 3-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)propanoico]*-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,22S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,18,24-pentaoxo-12,15-dioxa-2,5,9,19-pentaazatetracontan-6,22,40-tricarboxílico, 2 TFA (18,29 mg, 5,85 μmol, 5,85 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,00 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,68 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1292,6713 (M+2H) Encontrado: 1292,6887 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 13164



El Ejemplo 13164 se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr-Pip-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-*[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]*-[N-Me]Nle-[N-Me]Nle-Leu-Cys-Gly-*[ácido 5-aminopentanoico]*-Asp(OtBu)-[Resina modificada 13B]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El residuo se dividió, y se realizaron varias inyecciones a una columna OBD de 30 X 150 XSelect CSH Prep C18 5 um, 40 ml/min, 20 a 65 % de B durante 25 min, 5 min a 100 % de B, 5 min a 20 % de B (A es 90 % de agua/10 % de ACN/0,1 % de TFA; B es 90 % de ACN/10 % de agua/0,1 % de TFA). Se retiró el ACN de las fracciones en el evaporador giratorio, y la porción acuosa se liofilizó. Los datos analíticos respaldaron la presentación de ácido (6S,18S)-1-((7S,13R,16S,19S,22S,25S,28S,31S,33aS,35R,39S,42S,44aS,50S,52aR)-31-((1H-indol-3-il)metil)-50-(2-amino-2-oxoetil)-28-(2-aminoetil)-42-(aminometil)-19,22-dibutil-25-((1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)metil)-35-hidroxi-7-(4-hidroxibencil)-16,39-diisobutil-20,23-dimetil-6,9,15,18,21,24,27,30,33,38,41,44,49,52-tetradecaoxopentacontahidro-1H-pirido[1,2-g]dipirrolol[1,2-m:1',2'-v][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43]tietradecaazaciclopentatetracontin-13-il)-1,4,8,14,20-pentaoxo-2,5,9,15,19-pentaazahexatriacontan-6,18,36-tricarboxílico, 2 TFA (10,63 mg, 3,48 μmol, 3,48 % de rendimiento). Condición 13A de análisis: tiempo de retención 10,06 min. Condición 13B de análisis: tiempo de retención 8,73 min; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1262,6816 (M+2H) Encontrado: 1262,6773 (M+2H).

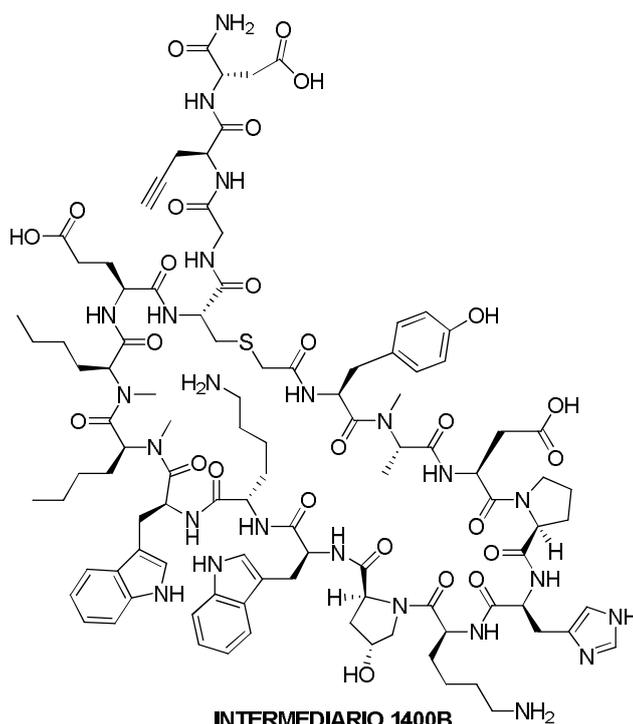
Preparación de INT-1400A



INTERMEDIARIO 1400A

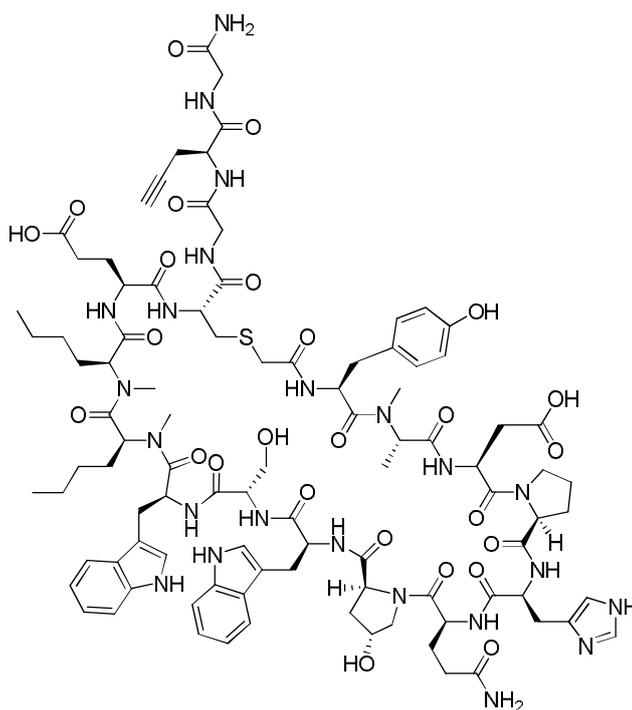
El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. CIAC-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-Trp-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]-Gly. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 97,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,39 min; IEN-EM(+) m/z 1046,9 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,05 min; IEN-EM(+) m/z 1046,8 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1046,5091 (M+2H) Encontrado: 1046,5058 (M+2H).

Preparación de INT-1400B



El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-Trp-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]-Asp; Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 59,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,69 min; IEN-EM(+) m/z 1076,2 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,91 min; IEN-EM(+) m/z 1076,1 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1075,5118 (M+2H) Encontrado: 1075,5094 (M+2H).

Preparación de INT-1400C

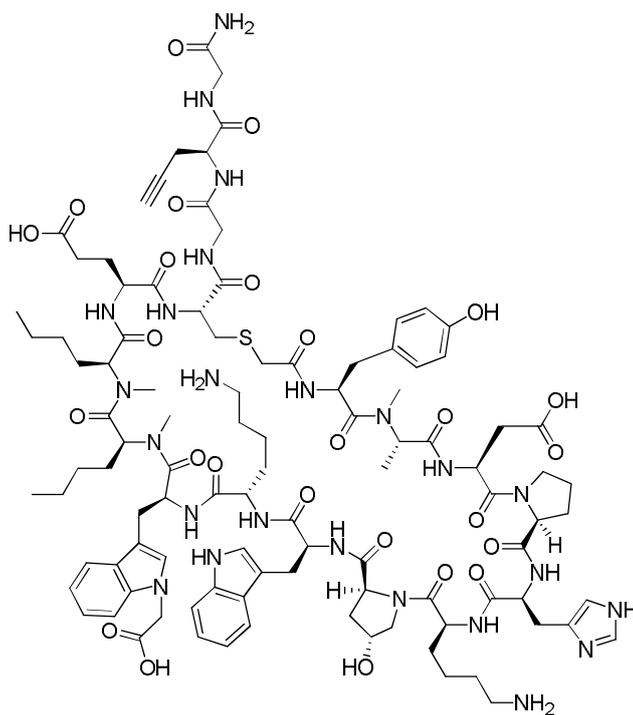


INTERMEDIARIO 1400C

5 El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Gln-Hyp-Trp-Ser-Trp-
 10 mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]-Gly. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

15 El rendimiento del producto fue de 20,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,40 min; IEN-EM(+) m/z 1026,5 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,79 min; IEN-EM(+) m/z 1026,5 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1025,9594 (M+2H) Encontrado: 1025,9591 (M+2H).

Preparación de INT-1400D

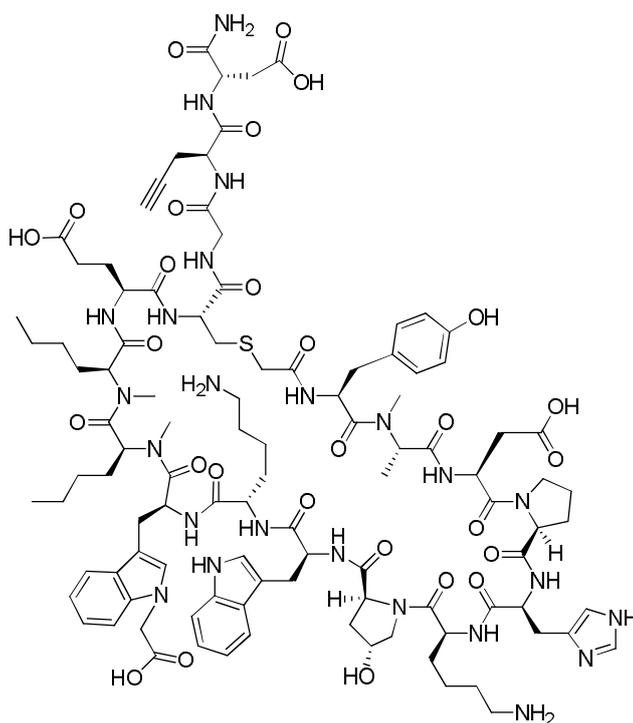


INTERMEDIARIO 1400D

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-"Trp"-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]-Gly. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 6 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 57,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,16 min; IEN-EM(-) m/z 1076,6 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,23 min; IEN-EM(+) m/z 1076,3 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1075,5118 (M+2H) Encontrado: 1075,5086 (M+2H).

15

Preparación de INT-1400E

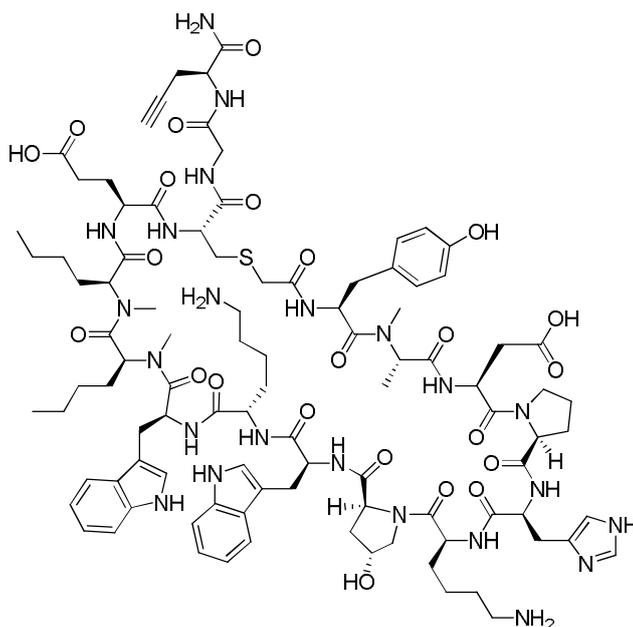


INTERMEDIARIO 1400E

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-Trp-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]-Asp. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 6 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 66,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 94 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,12 min; IEN-EM(-) m/z 1105,5 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,19 min; IEN-EM(+) m/z 11055,4 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1104,5146 (M+2H). Encontrado: 1104,5115 (M+2H).

15

Preparación de INT-1400F

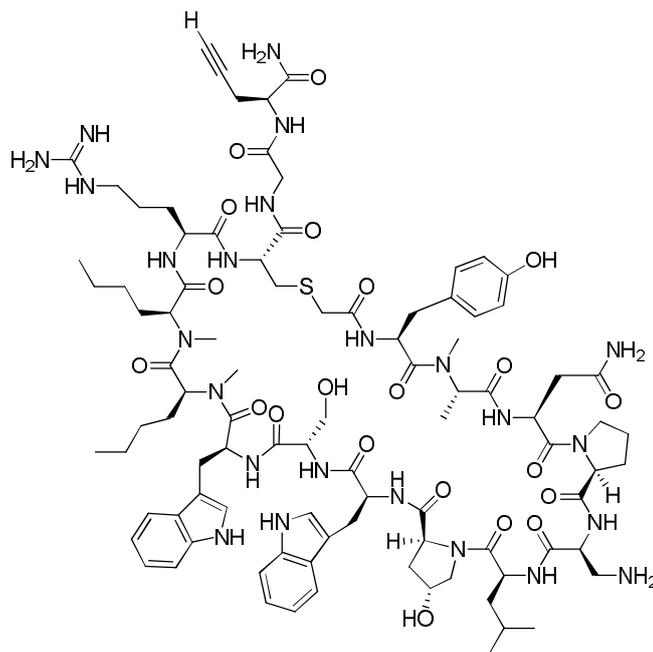


INTERMEDIARIO 1400F

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-Trp-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 87,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,39 min; IEN-EM(+) m/z 1019,0 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,53 min; IEN-EM(+) m/z 1018,9 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1017,9984 (M+2H) Encontrado: 1017,9944 (M+2H).

15

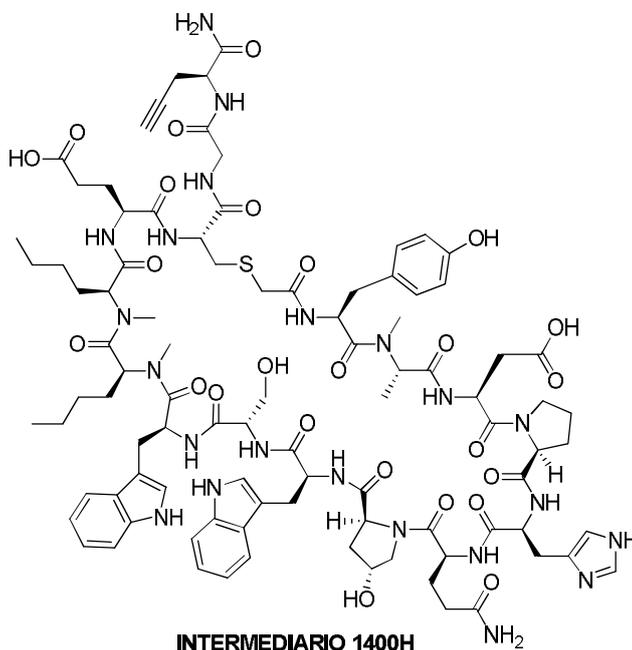
Preparación de INT-1400G



INTERMEDIARIO 1400G

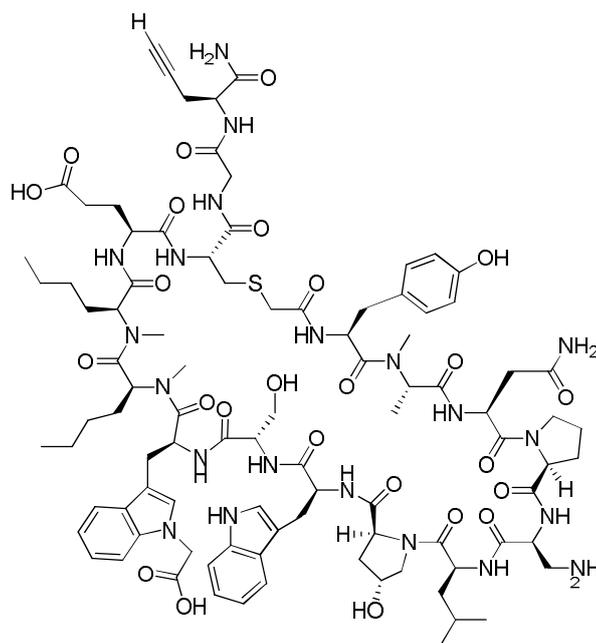
El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Ser-Trp-mNle-mNle-Arg-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 44,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,62 min; IEN-EM(+) m/z 977,7 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,16 min; IEN-EM(+) m/z 977,7 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 977,4933 (M+2H) Encontrado: 977,4906 (M+2H).

15 Preparación de INT-1400H



El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Gln-Hyp-Trp-Ser-Trp-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]; después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-45 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 23,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,45 min; IEN-EM(+) m/z 997,5 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,87 min; IEN-EM(+) m/z 997,9 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 997,4487 (M+2H) Encontrado: 997,4486 (M+2H).

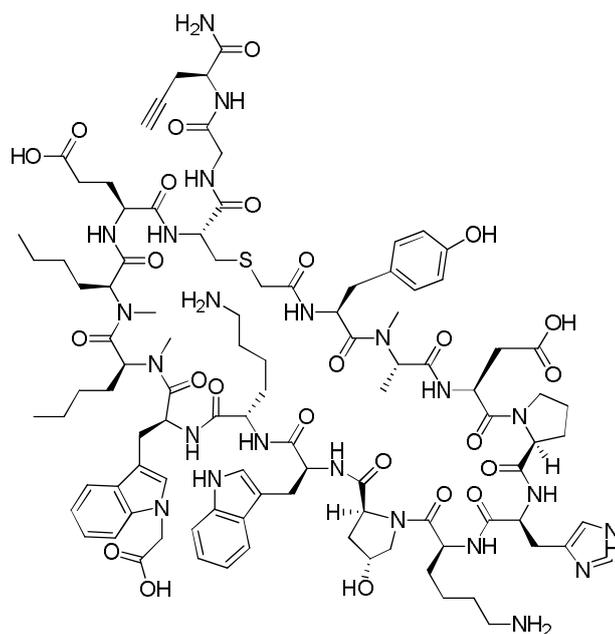
Preparación de INT-1400I



INTERMEDIARIO 1400I

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. CIAC-Tyr-mAla-Asn-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Ser-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-mNle-mNle-E-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 20-40 % de B durante 20 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 42,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 98 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,26 min; IEN-EM(+) m/z 993,3 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,68 min; IEN-EM(+) m/z 993,3 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 992,9667 (M+2H) Encontrado: 992,9660 (M+2H).

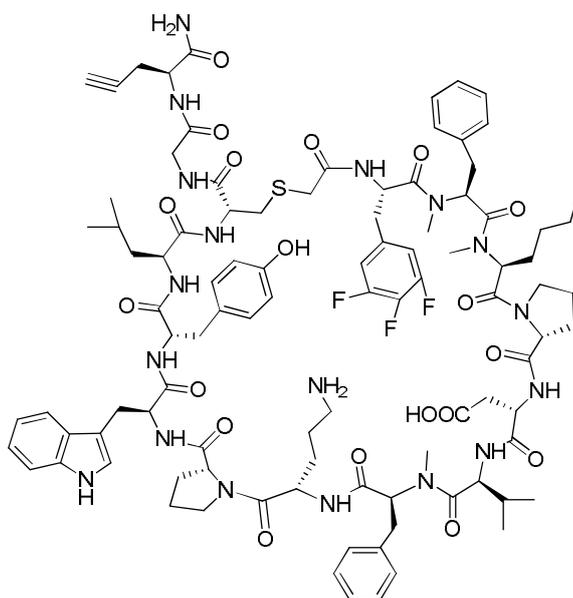
Preparación de INT-1400J



INTERMEDIARIO 1400J

- El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr-mAla-Asp-Pro-His-Lys-Hyp-Trp-Lys-[ácido (S)-2-amino-3-(1-(carboximetil)-1H-indol-3-il)propanoico]-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]; después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 0-40 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 78,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,25 min; IEN-EM(+) m/z 1047,6 (M + 2H), ion más abundante.
- Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,65 min; IEN-EM(+) m/z 1047,4 (M + 2H), ion más abundante IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1047,0011 (M+2H) Encontrado: 1046,9960 (M+2H).

Preparación de INT-1400K

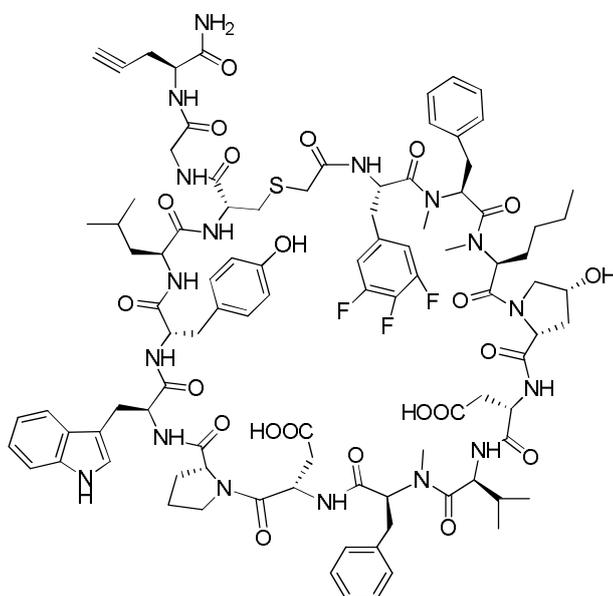


INTERMEDIARIO 1400K

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-F3Phe-mPhe-mNle-dPro-Asp-Val-mPhe- Orn - dPro-Trp-Tyr-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]. Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante

- 5 CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.
- 10 El rendimiento del producto fue de 88,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,87 min; IEN-EM(+) m/z 975,7 (M + 2H), ion más abundante. Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,25 min; IEN-EM(+) m/z 975,1 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 974,4593 (M+2H) Encontrado: 974,4571 (M+2H).

15 **Preparación de INT-1400L**



INTERMEDIARIO 1400L

El siguiente péptido se sintetizó a una escala de 0,1 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-F3Phe-mPhe-mNle-dHyp-Asp-Val-mPhe- Asp - dPro-Trp-Tyr-Leu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]; después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante

- 20 CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 50-90 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 70,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de
- 25 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,47 min; IEN-EM(+) m/z 983,5 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,74 min; IEN-EM(+) m/z 983,7 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 982,9306 (M+2H) Encontrado: 982,9300 (M+2H).

Datos analíticos:

Espectrometría de masa: "IEN-EM(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion positivo; "IEN-EM(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa realizadas en modo de ion negativo; "IEN-HRMS(+)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion positivo; "IEN-HRMS(-)" significa ionización por electropulverización-espectrometría de masa de alto rendimiento realizadas en modo de ion negativo. Las masas detectadas se informan de acuerdo con la designación de unidad " m/z ". En general, los compuestos con masas exactas mayores de 1000 se detectaron como iones de doble carga o de triple carga.

Condición A de análisis:

Columna: Waters BEH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

5

Condición *B de análisis*:

Columna: Waters BEH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; temperatura: 50 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

10

Condición *C de análisis*:

Columna: Waters Aquity UPLC BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 100 % de agua:0,05 % de TFA; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo:0,05 % de TFA; temperatura: 40 °C; gradiente: 2-98 % de B durante 1,5 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

15

Condición *D de análisis*:

Columna: PHENOMENEX-LUNA 2,0 X 30 mm 3 um; fase móvil A: 90 % de agua -10 % de metanol- 0,1 % de TFA; fase móvil B: 10 % de agua - 90 % de metanol - 0,1 % de TFA; gradiente: 0-100 % de B durante 2 minutos, después un mantenimiento de 1 a 4 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

20

Condición *E de análisis*:

Columna: Xbridge Phenyl, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 5-100 % de B en 15 minutos; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

30

Condición *F de análisis*:

Columna: XBridge C18, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-100 % de B en 30 minutos; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

35

Condición *G de análisis*:

Columna: Waters CSH C18, 2,0 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; temperatura: 50 °C; gradiente: 0 % de B, 0-100 % de B durante 3 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 1 ml/min; detección: UV a 220 nm.

40

Condición *H de análisis*:

Columna: Xbridge C18, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-100 % de B en 18 minutos; flujo: 0,5 ml/min; detección: UV a 220 nm.

45

Condición *I de análisis*:

Columna: XSelectCSH C18, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-100 % de B en 15 minutos; flujo: 1,0 ml/min; detección: UV a 220 nm.

50

Condición *J de análisis*:

Columna: Zorbax Bonus RP, 3,0 x 150 mm, partículas de 3,5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de TFA; gradiente: 10-100 % de B en 15 minutos; flujo: 1,0 ml/min; detección: UV a 220 nm.

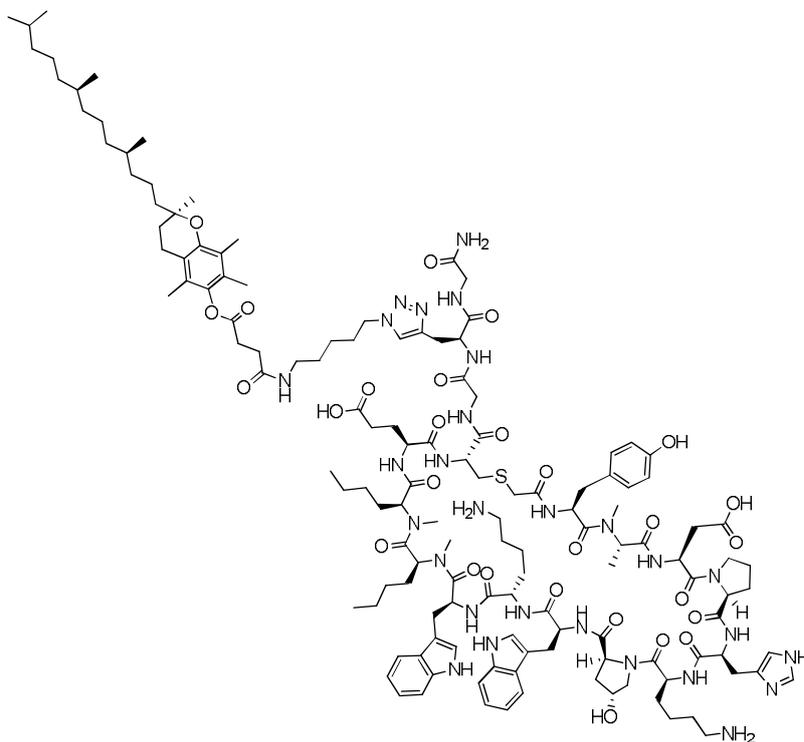
55

Condición *K de análisis*:

Columna: Waters Aquity UPLC BEH C18, 2,1 x 50 mm, partículas de 1,7 µm; fase móvil A: 100 % de agua:0,05 % de TFA; fase móvil B: 100 % de acetonitrilo:0,05 % de TFA; temperatura: 50 °C; gradiente: 2-98 % de B durante 3,0 minutos, después un mantenimiento de 0,5 minutos a 100 % de B; flujo: 0,8 ml/min; detección: UV a 220 nm.

65

Preparación de 14051

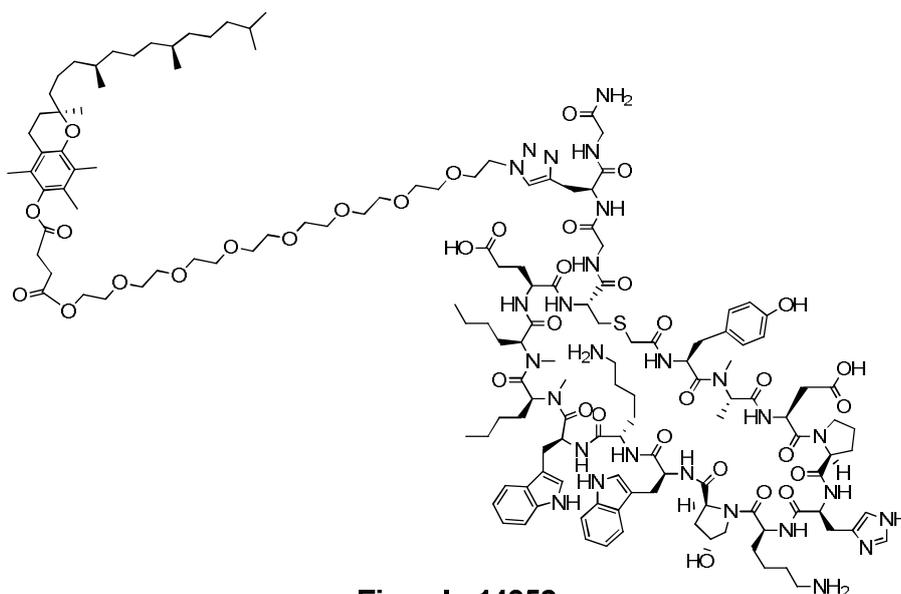


Ejemplo 14051

- 5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (20 mg, 9,56 μ mol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (18,38 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 10 25 min, después un mantenimiento de 6 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 7,22 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,64 min; IEN-EM(+) m/z 1367,8 (M + 2H), ion más abundante. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,48 min; IEN-EM(+) m/z 1367,4 (M + 2H), ion más abundante.

15

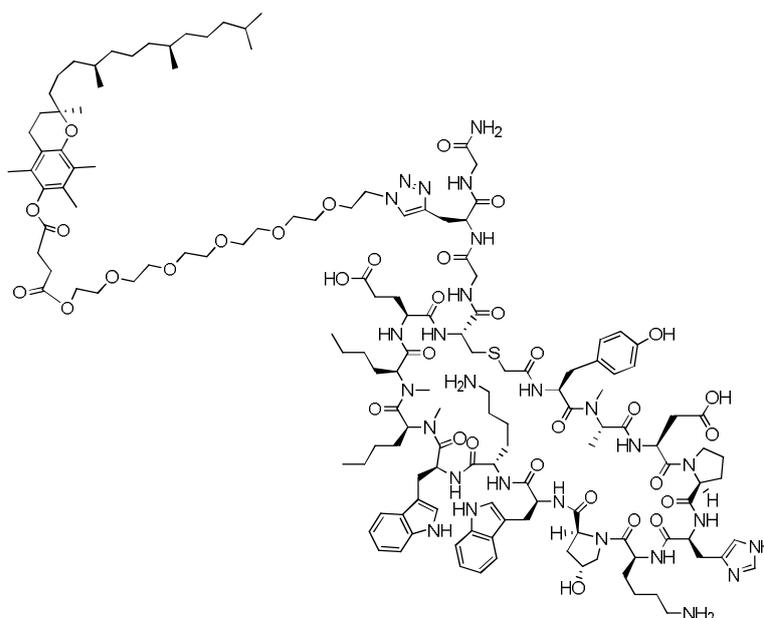
Preparación de 14052



Ejemplo 14052

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (20 mg, 9,56 μmol) y 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-hepta-oxatricosil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (26,0 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 25 min, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 11 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,66 min; IEN-EM(+) m/z 1501,5 (M + 2H), ion más abundante; Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,63 min; IEN-EM(+) m/z 1001,1 (M + 3H), ion más abundante.

Preparación de 14053

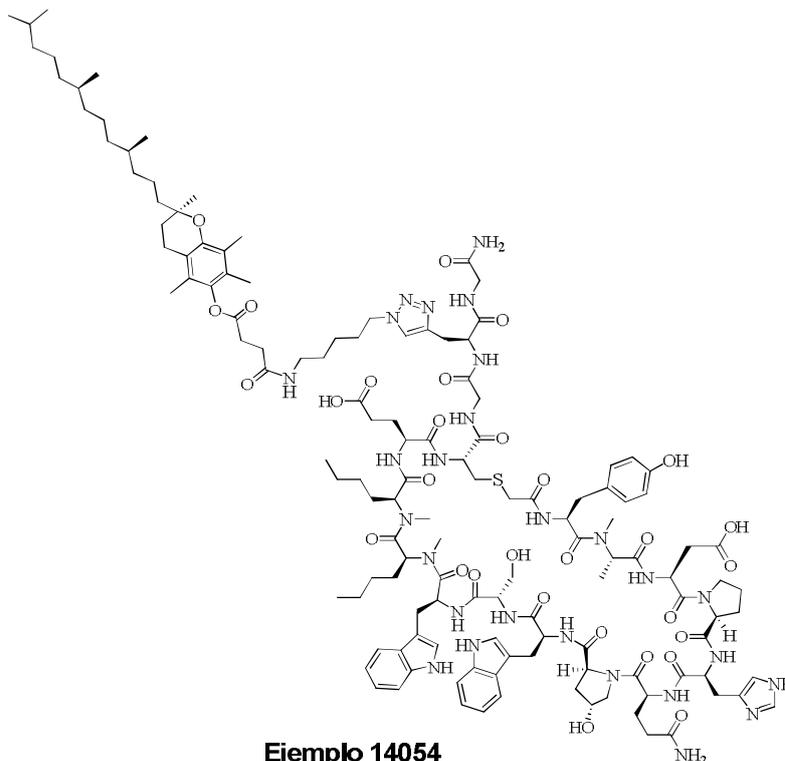


Ejemplo 14053

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (20 mg, 9,56 μmol) y 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (23,52 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 -

100 % de B, 25 min, después un mantenimiento de 7 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 5,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,66 min; IEN-EM(+) m/z 1457,4 (M + 2H), ion más abundante; Condición D de análisis: Tiempo de retención = 3,22 min; IEN-EM(+) m/z 971,8 (M + 3H), ion más abundante.

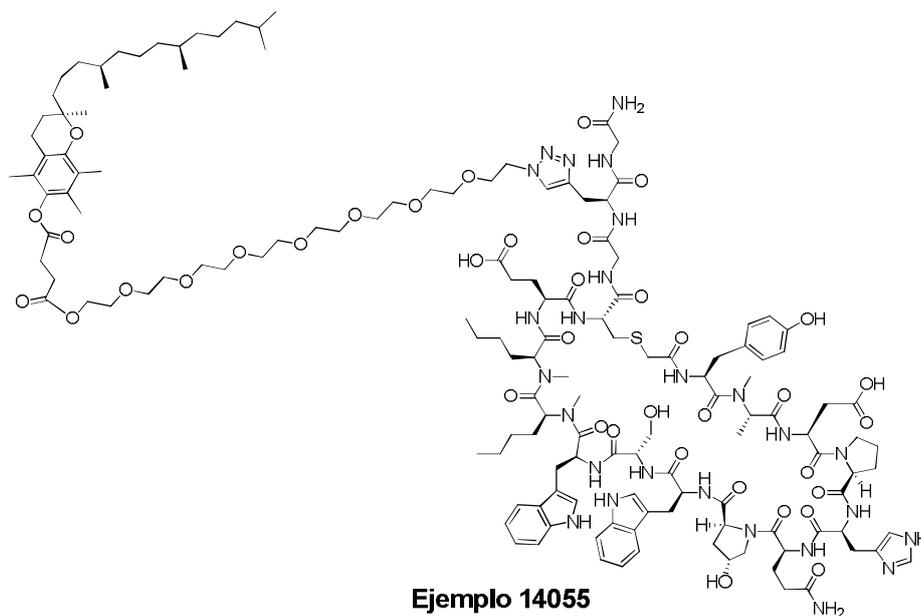
Preparación de 14054



Ejemplo 14054

10 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400C (20 mg, 9,75 μ mol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-
 2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (18,38 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento
 general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante
 15 HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 %
 de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B,
 25 min, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado
 se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de
 8,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención
 = 1,76 min; IEN-EM(+) m/z 1347,3 (M + 2H), ion más abundante. Condición D de análisis: Tiempo de retención =
 20 2,79 min; IEN-EM(+) m/z 898,3 (M + 3H), ion más abundante.

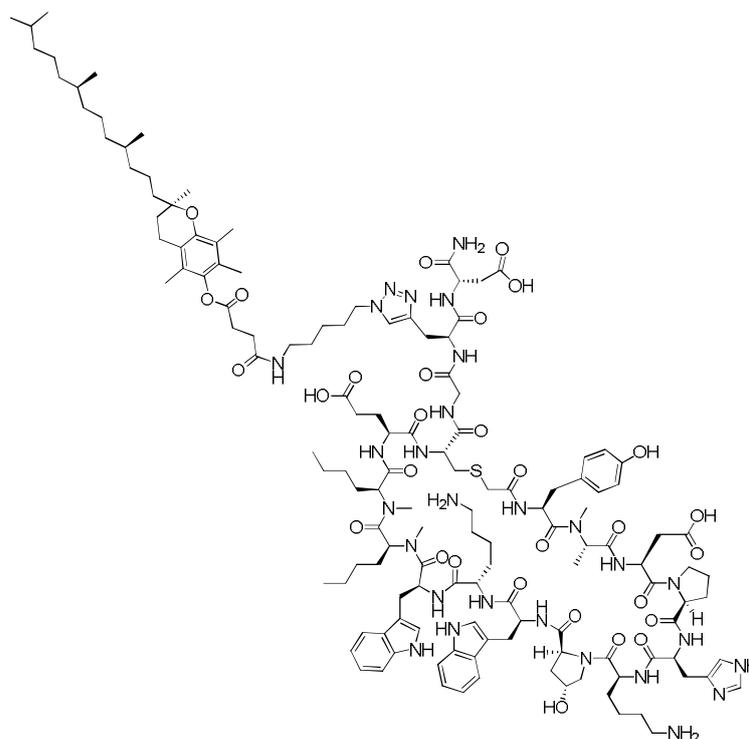
Preparación de 14055



Ejemplo 14055

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400C (20 mg, 9,75 μmol) y 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatricosil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (26,6 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 25 min, después un mantenimiento de 15 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 9,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,82 min; IEN-EM(+) m/z 1480,9 (M + 2H), ion más abundante; Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,99 min; IEN-EM(+) m/z 1480,9 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación de 14056

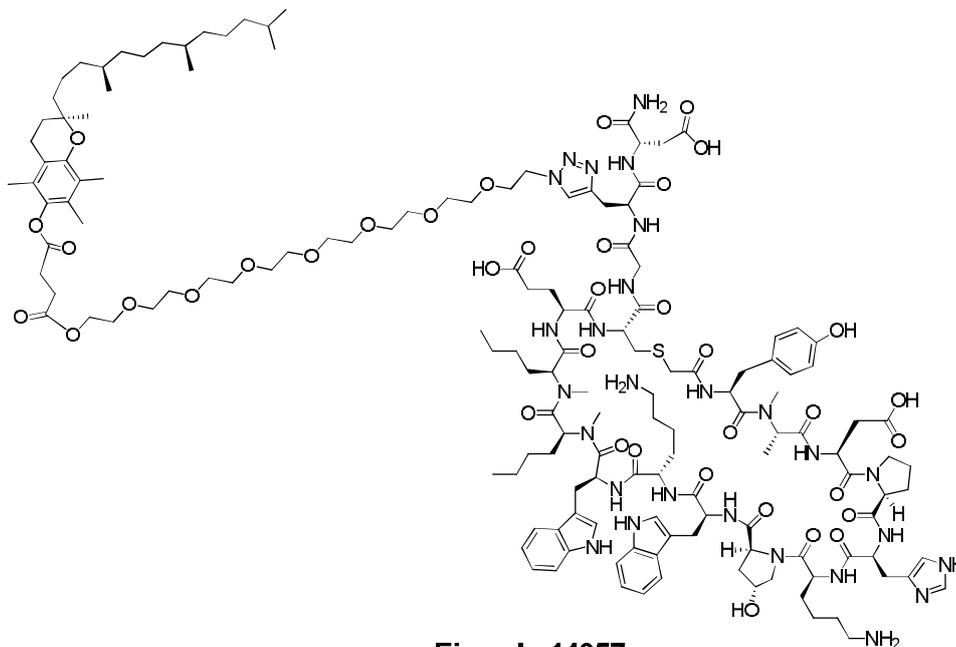


Ejemplo 14056

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400B (20 mg, 9,30 μmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-

2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (17,88 mg, 0,028 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 25 min, después un mantenimiento de 6 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 4,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,42 min; IEN-EM(+) *m/z* 931,4 (M + 3H), ion más abundante.

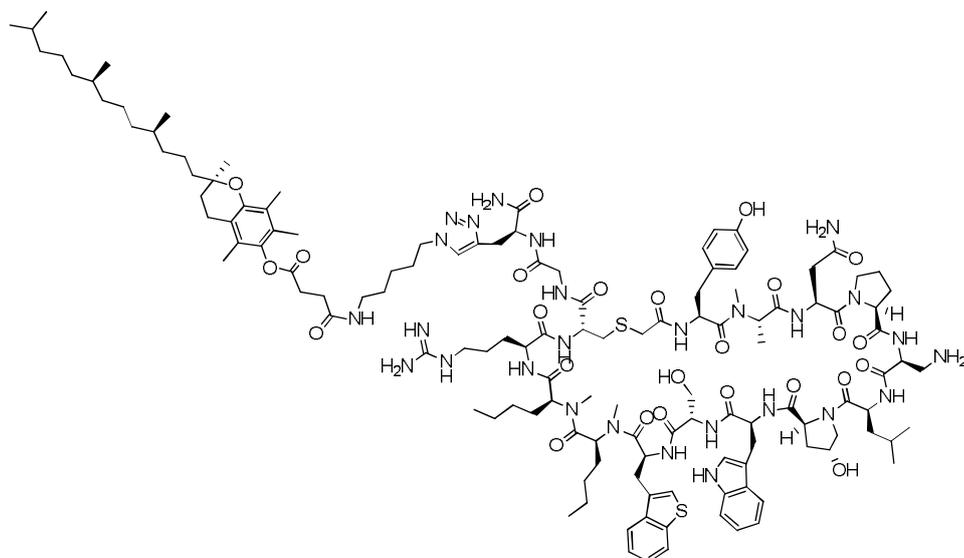
10 *Preparación del Ejemplo 14057*



Ejemplo 14057

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400B (20 mg, 9,30 μ mol) y 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-hepta-oxatricosil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo) succinato (25,3 mg, 0,028 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 25 min, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 4,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,44 min; IEN-EM(+) *m/z* 929,3 (M + 2H); Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,66 min; IEN-EM(+) *m/z* 929,8 (M + 2H), ion más abundante.

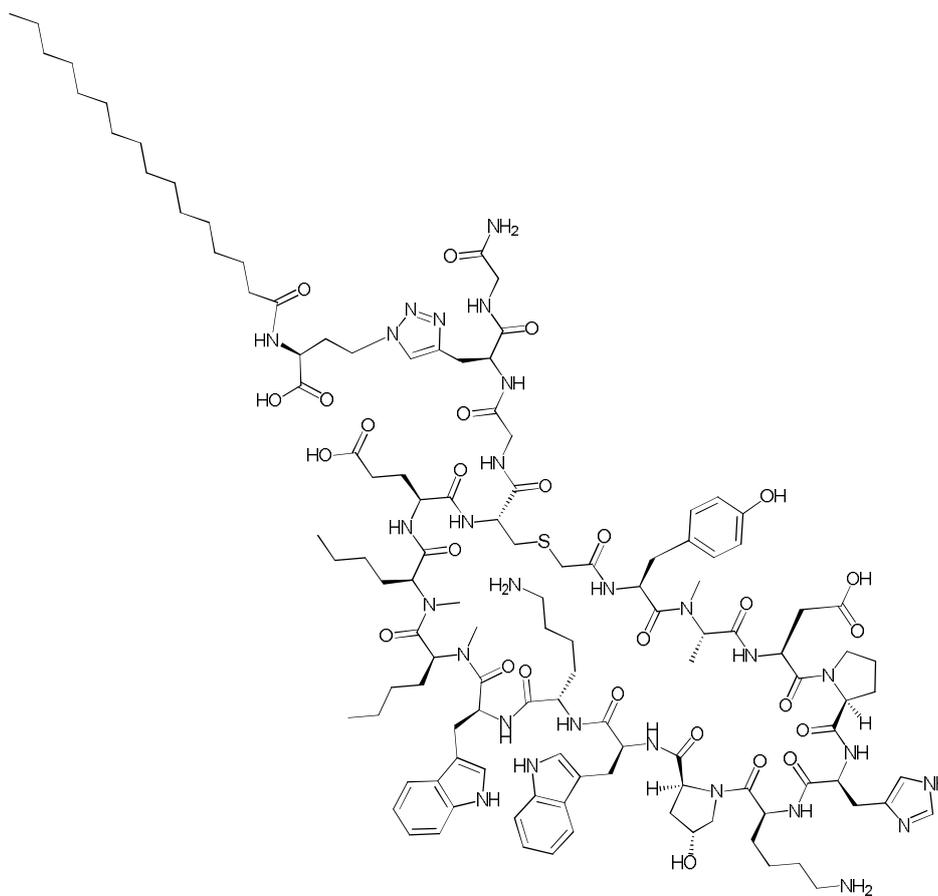
25 *Preparación del Ejemplo 14058*



Ejemplo 14058

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300A (20 mg, 10,15 μmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (19,51 mg, 0,030 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 25 min, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 1,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,77 min; IEN-EM(+) m/z 1307,3 (M + 2H).

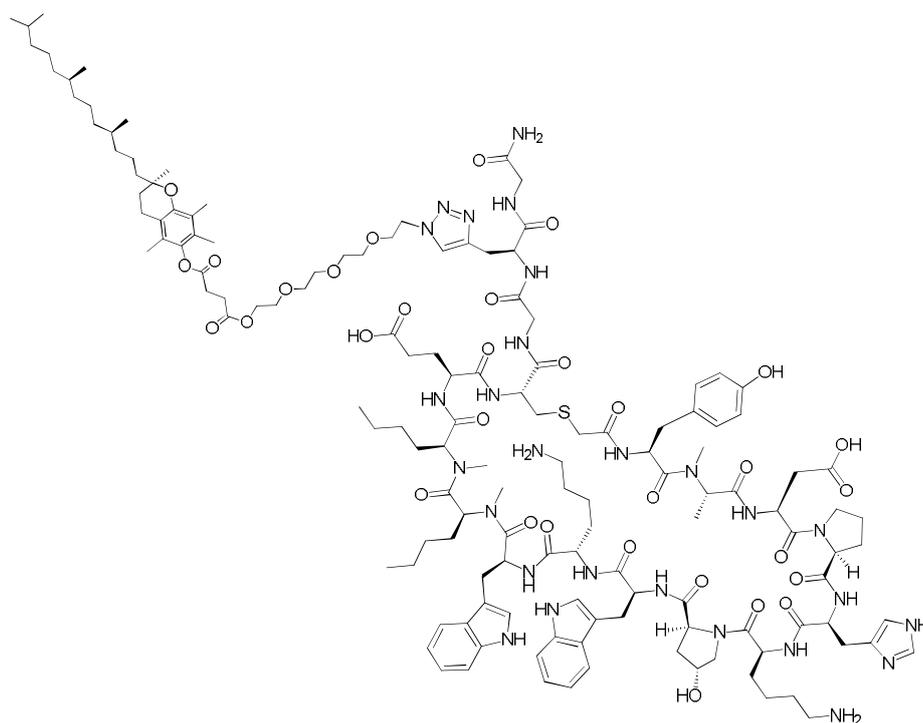
Preparación del Ejemplo 14059



Ejemplo 14059

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (25 mg, 0,012 mmol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (13,71 mg, 0,036 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 30 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 1,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,32 min; IEN-EM(+) *m/z* 1238,8 (M + 2H).

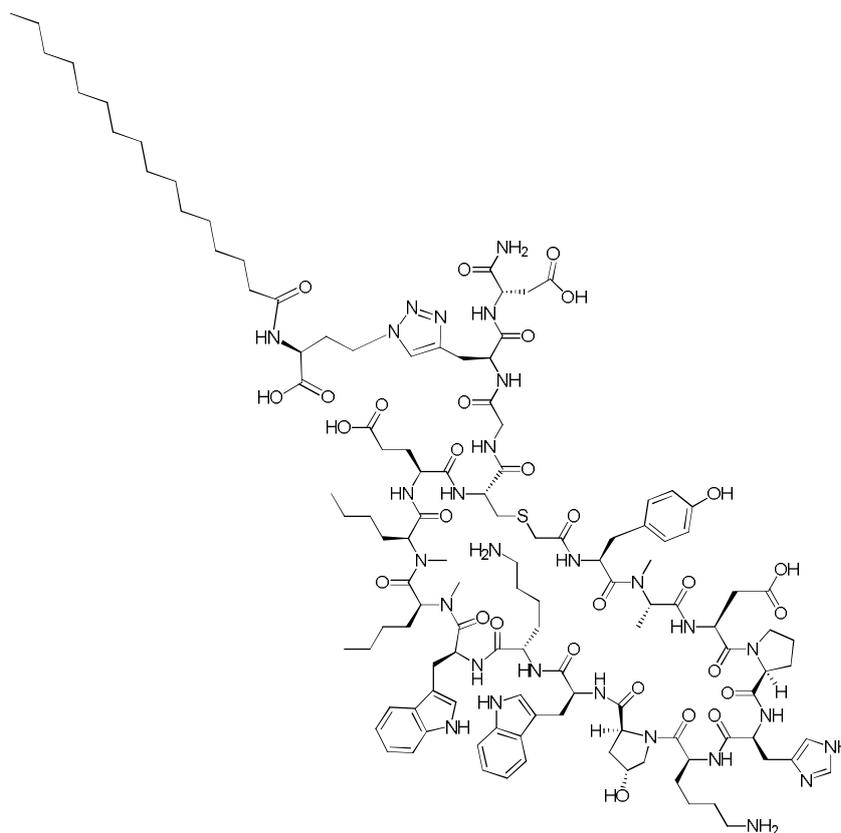
Preparación del Ejemplo 14060



Ejemplo 14060

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (20 mg, 9,56 μmol) y 2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etil ((R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-il) succinato (20,99 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 30 min, después un mantenimiento de 3 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 1,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,52 min; IEN-EM(+) m/z 1413,1 (M + 2H), ion más abundante.

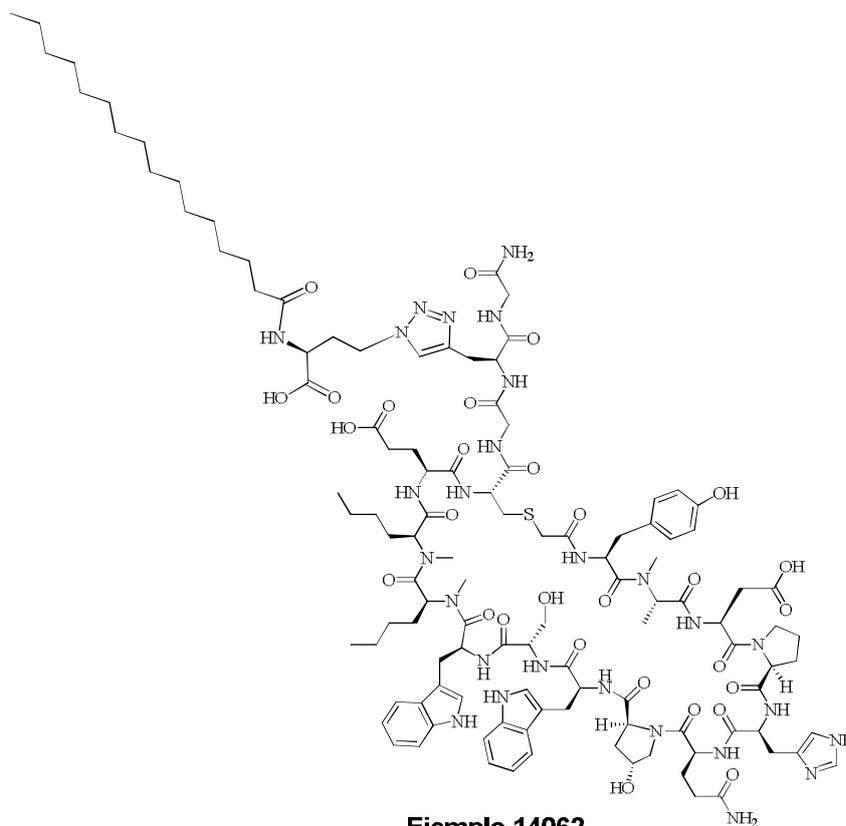
Preparación del Ejemplo 14061



Ejemplo 14061

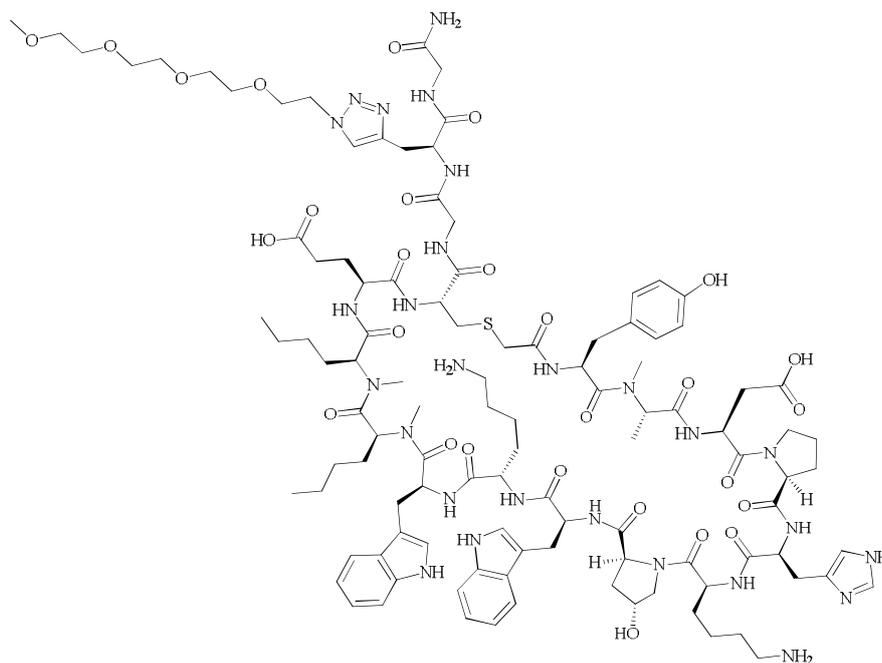
Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400B (25 mg, 0,012 mmol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (13,34 mg, 0,035 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 30 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 9,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,31 min; IEN-EM(+) *m/z* 1267,7 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14062



Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400C (25 mg, 0,012 mmol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (13,99 mg, 0,037 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 30 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 10,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,47 min; IEN-EM(+) *m/z* 1217,9 (M + 2H), ion más abundante.

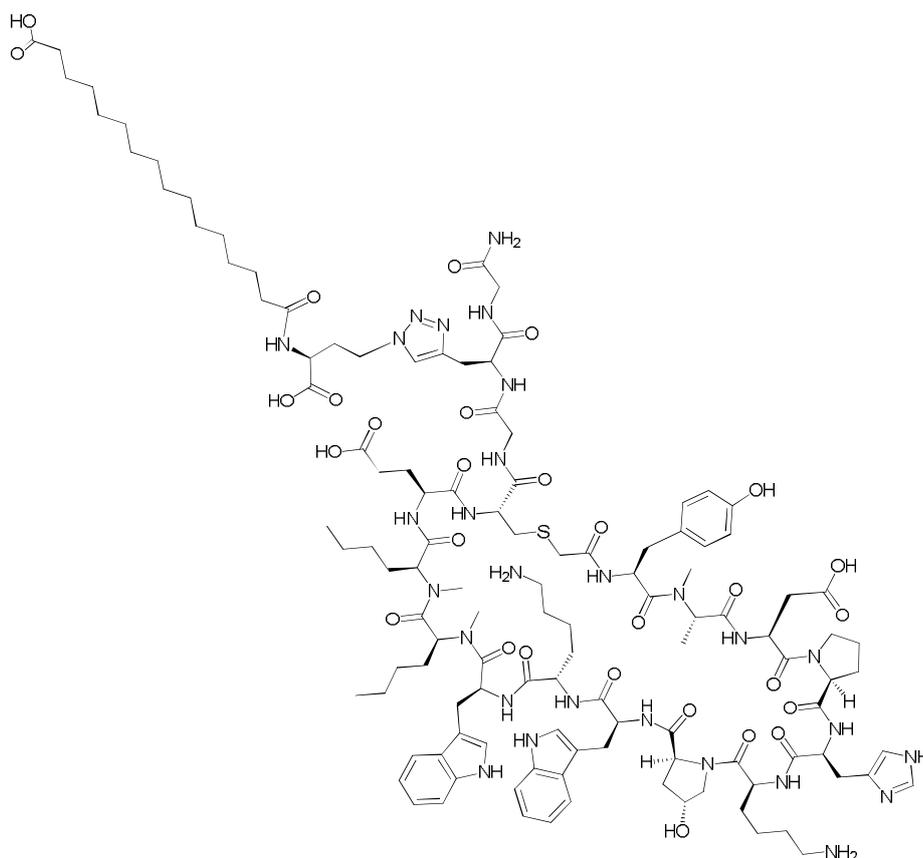
Preparación del Ejemplo 14063



Ejemplo 14063

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (20 mg, 9,56 μmol) y 13-azido-2,5,8,11-tetraoxatridecano (6,69 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 35 - 100 % de B, 45 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 9,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 1,83 min; IEN-EM(+) m/z 1163,7 (M + 2H), ion más abundante.

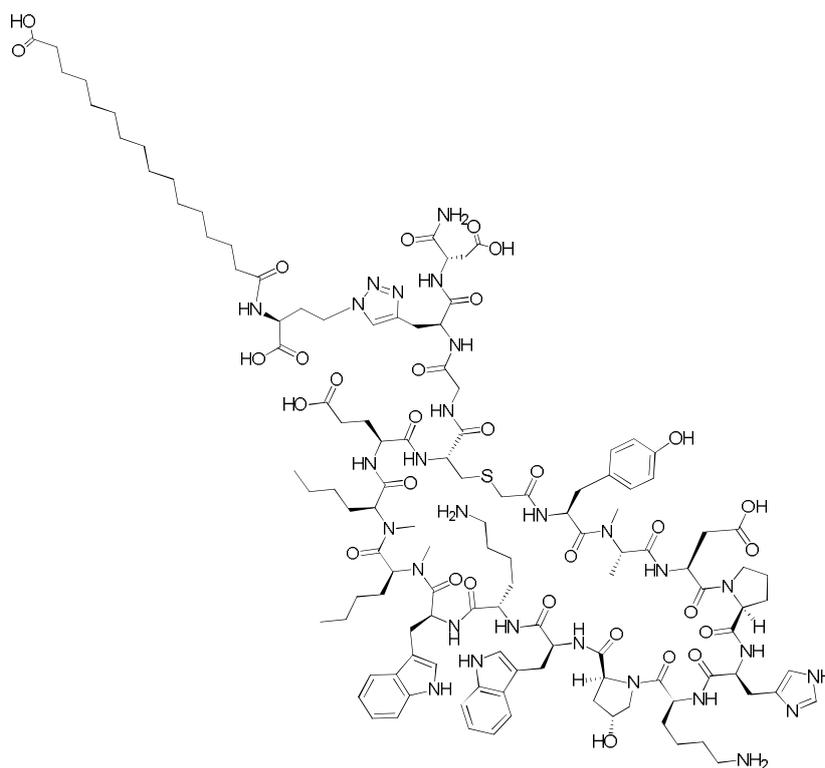
Preparación del Ejemplo 14064



Ejemplo 14064

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400A (25 mg, 0,012 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (14,79 mg, 0,036 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para
 5 obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 45 - 100 % de B, 40 min, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 20,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,09 min; IEN-EM(+) *m/z* 1253,6 (M + 2H).

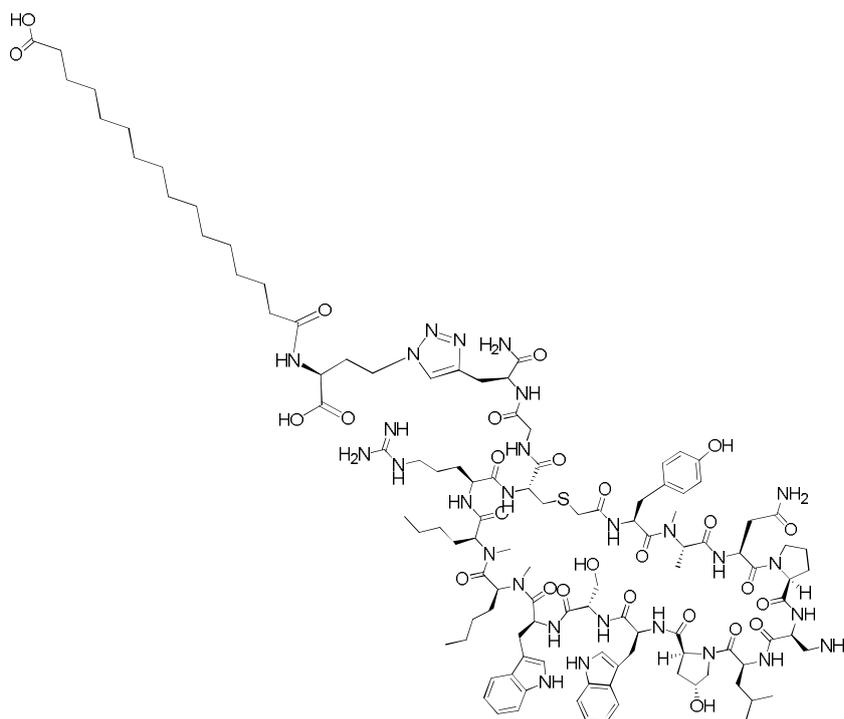
Preparación del Ejemplo 14065



Ejemplo 14065

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400B (25 mg, 0,012 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (14,39 mg, 0,035 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para
- 5 obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 50 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación rápida al vacío.
- 10 El rendimiento del producto fue de 13,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,15 min; IEN-EM(+) *m/z* 1282,5 (M + 2H), ion más abundante.

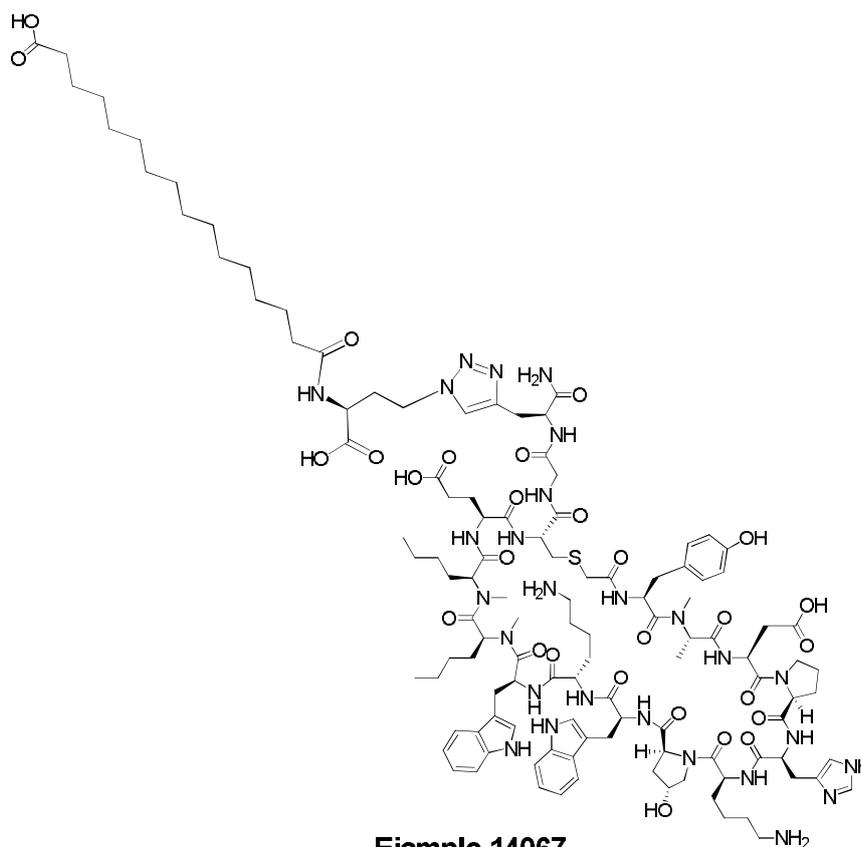
Preparación del Ejemplo 14066



Ejemplo 14066

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400G (25 mg, 0,013 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (6,33 mg, 0,015 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 90 % de B, 60 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 10,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis:
- 5
- 10 Tiempo de retención = 2,18 min; IEN-EM(+) *m/z* 1184,6 (M + 2H), ion más abundante.

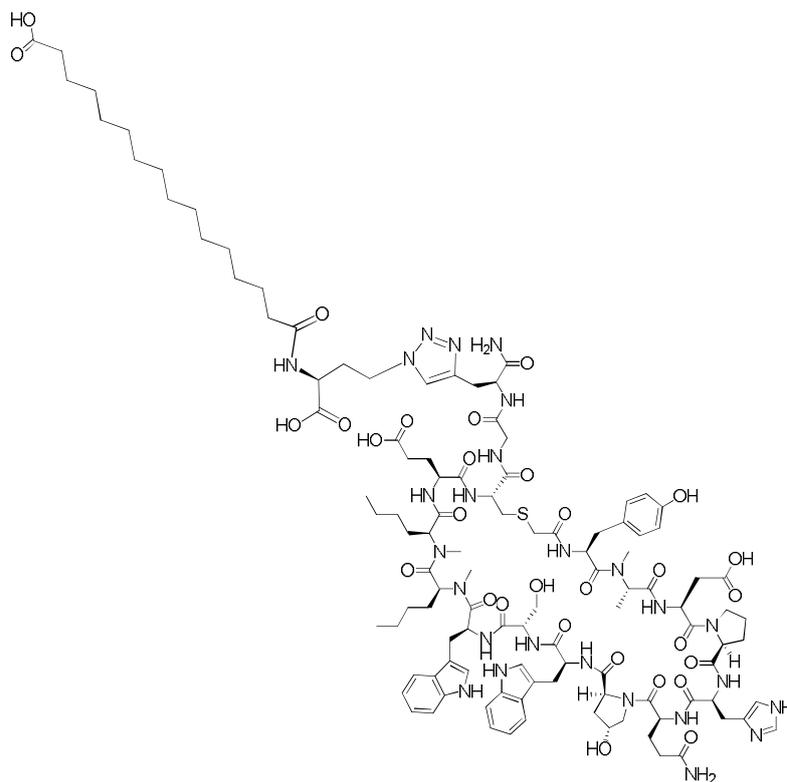
Preparación del Ejemplo 14067



Ejemplo 14067

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400F (25 mg, 0,013 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (7,60 mg, 0,018 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 90 % de B, 60 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación en aspiradora de velocidad. El rendimiento del producto fue de 2,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis:
- 5
- 10 Tiempo de retención = 2,16 min; IEN-EM(+) *m/z* 1225,1 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14068

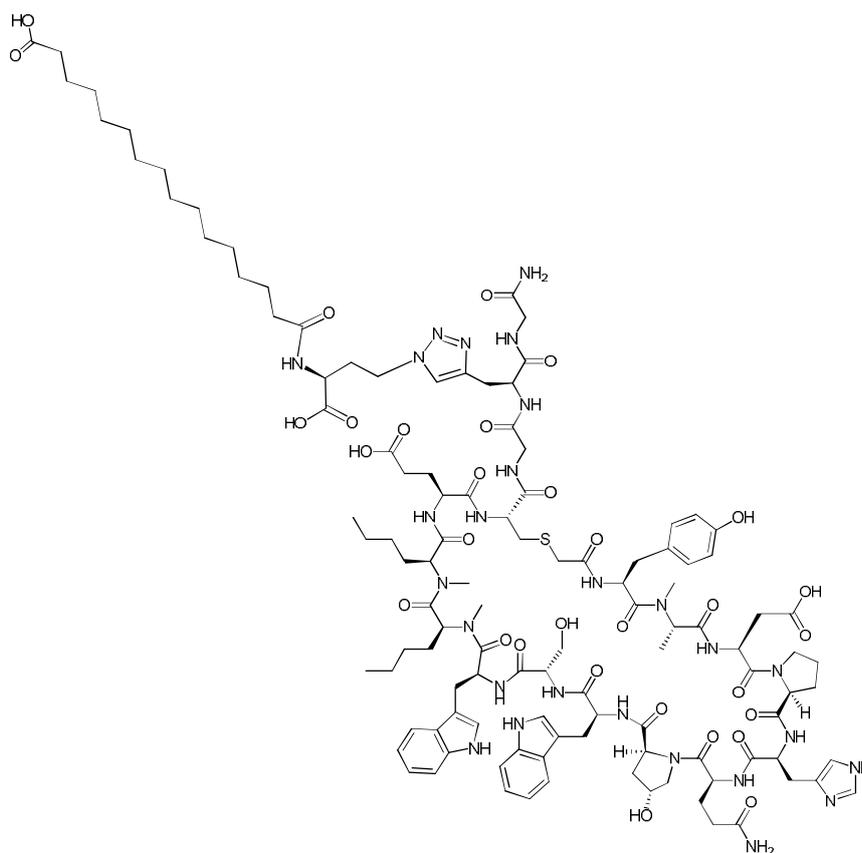


Ejemplo 14068

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400H (25 mg, 0,013 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (6,21 mg, 0,015 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge Shield RP18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 20-60 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 15 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 6,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición B de análisis: Tiempo de retención = 1,76 min; IEN-EM(+) m/z 1204,3 (M + 2H), ion más abundante. IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1203,5830 (M+2H) Encontrado: 1203,5818 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 14069

15

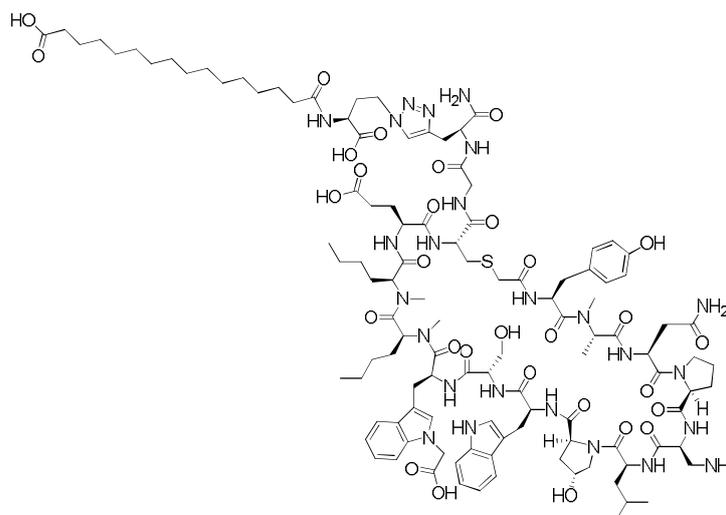


Ejemplo 14069

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400C (19,5 mg, 9,51 μmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (4,71 mg, 0,011 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para
 5 obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge Shield RP18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las
 10 fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición B de análisis: Tiempo de retención = 1,75 min; IEN-EM(+) m/z 1232,8 (M + 2H), ion más abundante. IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1232,0937 (M+2H) Encontrado: 1232,0902 (M+2H).

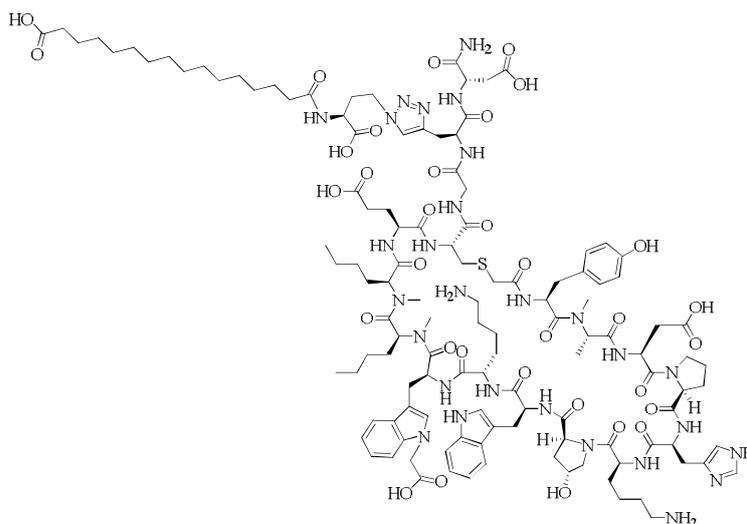
Preparación del Ejemplo 14070

15

**Ejemplo 14070**

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400I (30 mg, 0,015 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (7,48 mg, 0,018 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 99 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,43 min; IEN-EM(+) m/z 1199,4 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,57 min; IEN-EM(+) m/z 1199,9 (M + 2H), ion más abundante. IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1199,1010 (M+2H) Encontrado: 1199,1018 (M+2H).

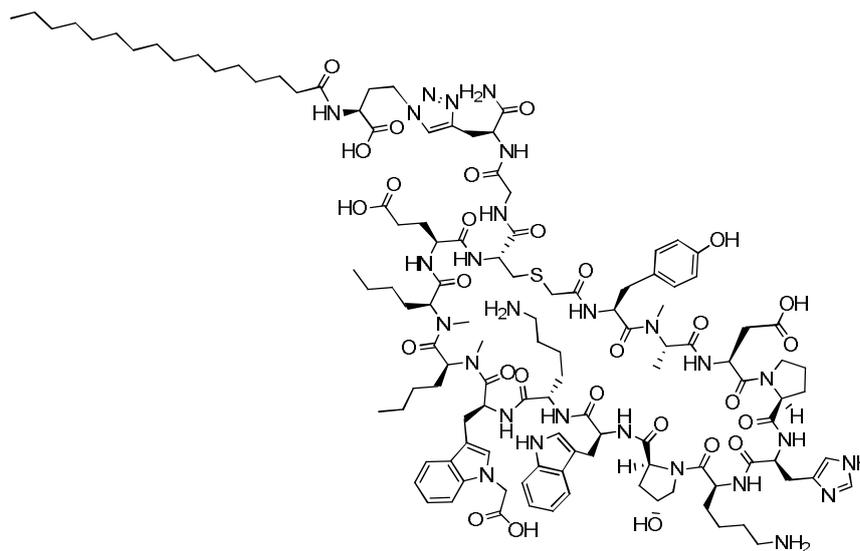
20 Preparación del Ejemplo 14071

**Ejemplo 14071**

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400E (39 mg, 0,018 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (8,74 mg, 0,021 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM

de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 14,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,32 min; IEN-EM(+) m/z 874,5 (M + 3H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,71 min; IEN-EM(+) m/z 874,8 (M + 3H); IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1310,6489 (M+2H) Encontrado: 1310,6461 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 14072

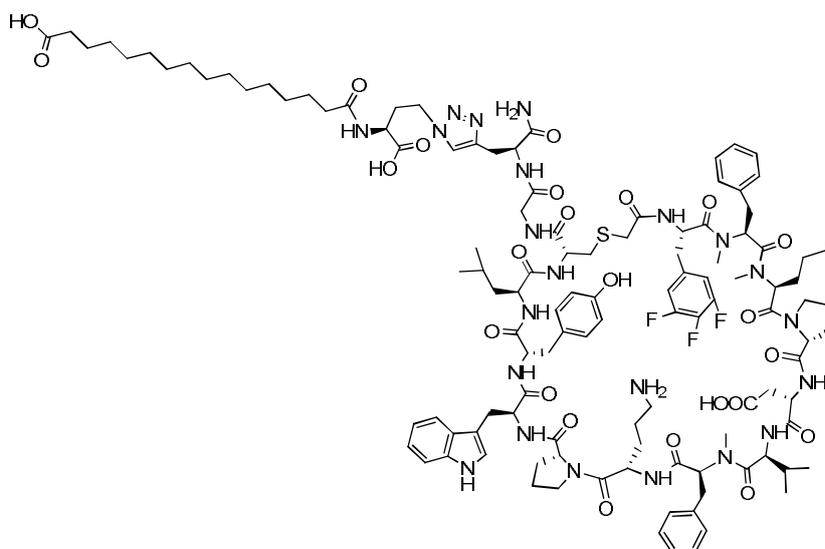


Ejemplo 14072

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400J (35 mg, 0,017 mmol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (7,68 mg, 0,020 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 55-95 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 9,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,80 min; IEN-EM(+) m/z 826,1 (M + 3H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,13 min; IEN-EM(+) m/z 1238,8 (M + 2H)

IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1238,1483 (M+2H) Encontrado: 1238,1484 (M+2H).

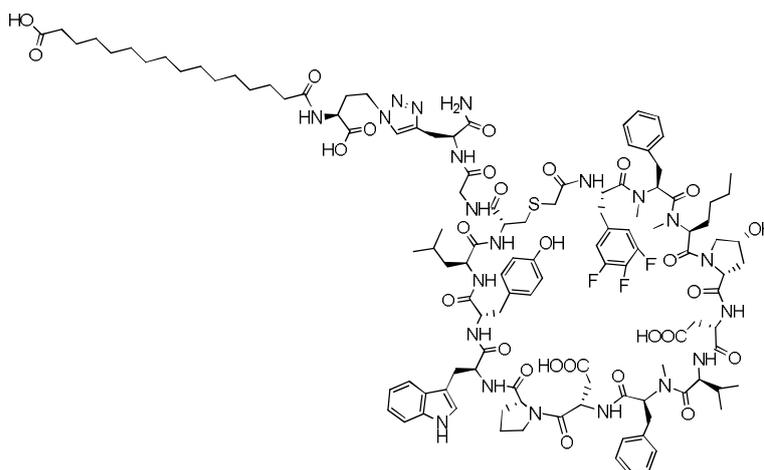
Preparación del Ejemplo 14073



Ejemplo 14073

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400K (30 mg, 0,015 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (7,62 mg, 0,018 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 60-100 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 12,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,92 min; IEN-EM(+) m/z 1181,0 (M + 2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,12 min; IEN-EM(+) m/z 1181,1 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1180,5936 (M+2H) Encontrado: 1180,5931 (M+2H).

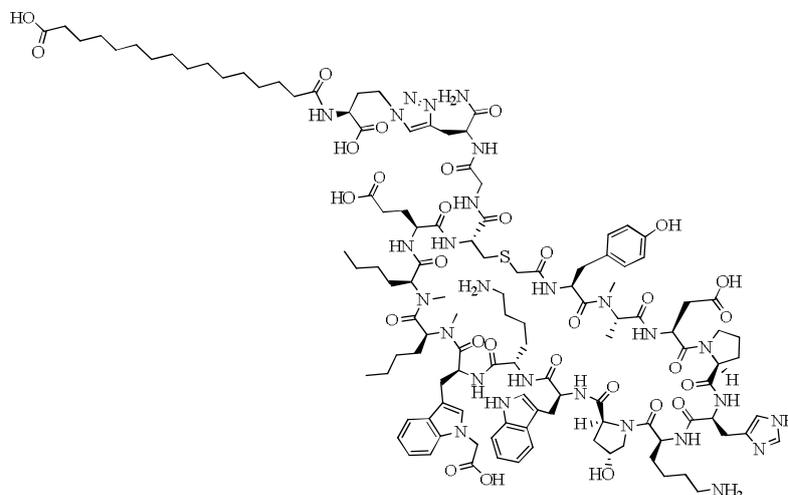
15 Preparación del Ejemplo 14074



Ejemplo 14074

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400L (30 mg, 0,015 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (7,56 mg, 0,018 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 45-85 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,68 min; IEN-EM(+) m/z 1189,5 (M + 2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,20 min; IEN-EM(+) m/z 1189,5 (M + 2H); IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1189,0649 (M+2H) Encontrado: 1189,0642

(M+2H).

Preparación del Ejemplo 14075

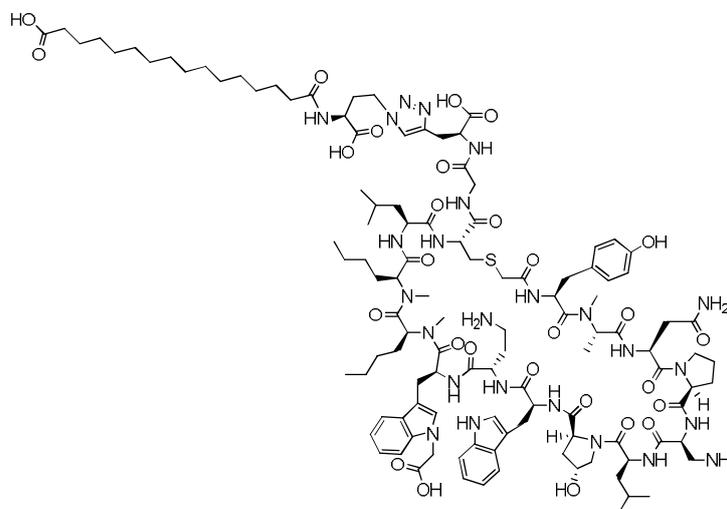
5

Ejemplo 14075

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400J (40 mg, 0,019 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (9,46 mg, 0,023 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 0-35 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 5,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,34 min; IEN-EM(+) *m/z* 936,2 (M + 2H); Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,97 min; IEN-EM(+) *m/z* 936,2 (M + 2H); IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 960,9769 (M+2H) Encontrado: 960,9749 (M+2H).

15

20

Preparación del Ejemplo 14076

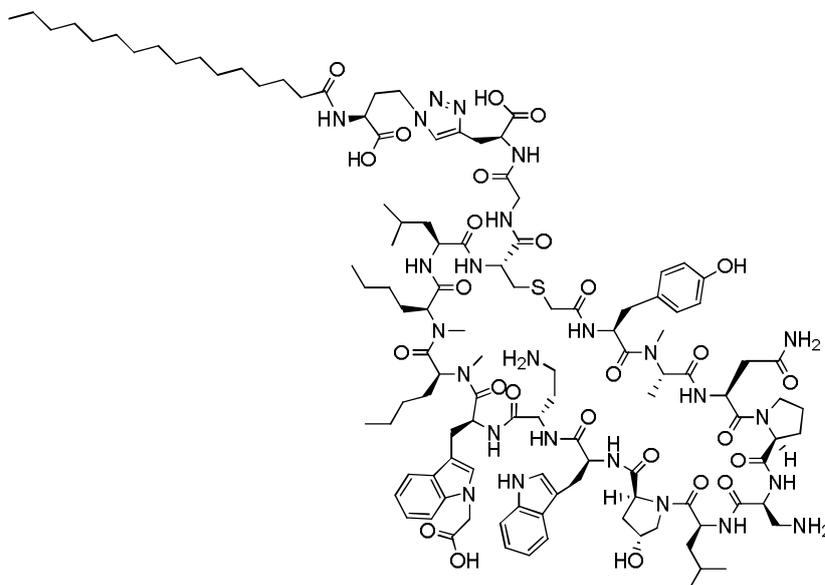
25

Ejemplo 14076

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (30 mg, 0,015 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (7,49 mg, 0,018 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para

obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,43 min; IEN-EM(+) m/z 1198,6 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,86 min; IEN-EM(+) m/z 1198,7 (M + 2H), ion más abundante.

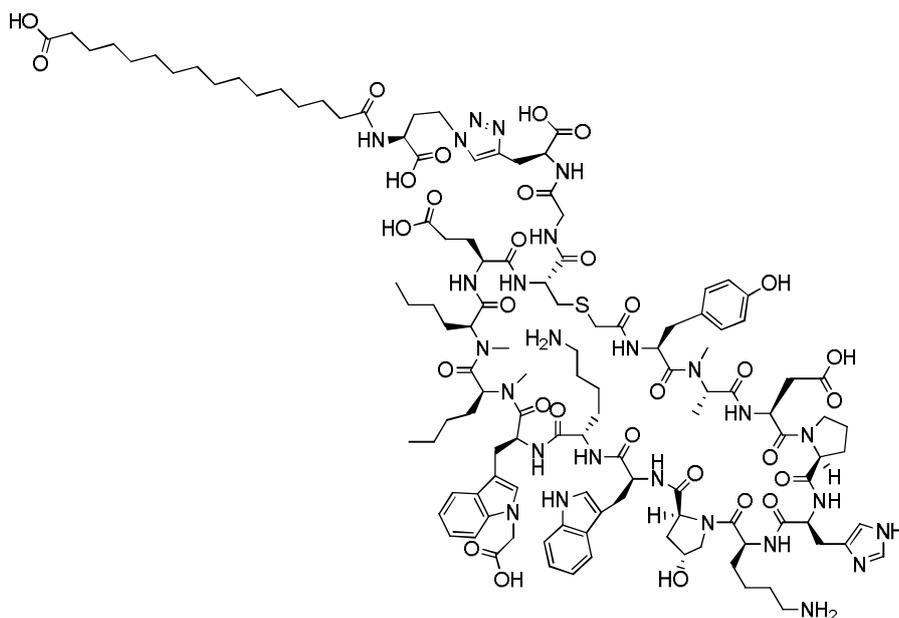
15 *Preparación del Ejemplo 14077*



Ejemplo 14077

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (10 mg, 5,04 μmol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (2,32 mg, 6,05 μmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,85 min; IEN-EM(+) m/z 1184,2 (M + 2H); IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1003,5215 (M+2H) Encontrado: 1003,5189 (M+2H).

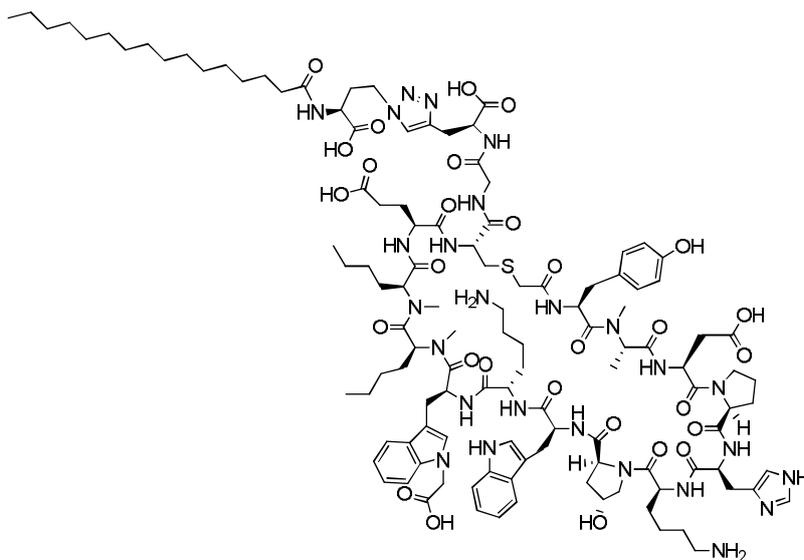
30 *Preparación del Ejemplo 14078*



Ejemplo 14078

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300Y (30 mg, 0,014 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (7,09 mg, 0,017 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 10,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,28 min; IEN-EM(+) m/z 836,3 (M + 3H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,35 min; IEN-EM(+) m/z 836,8 (M + 3H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14079

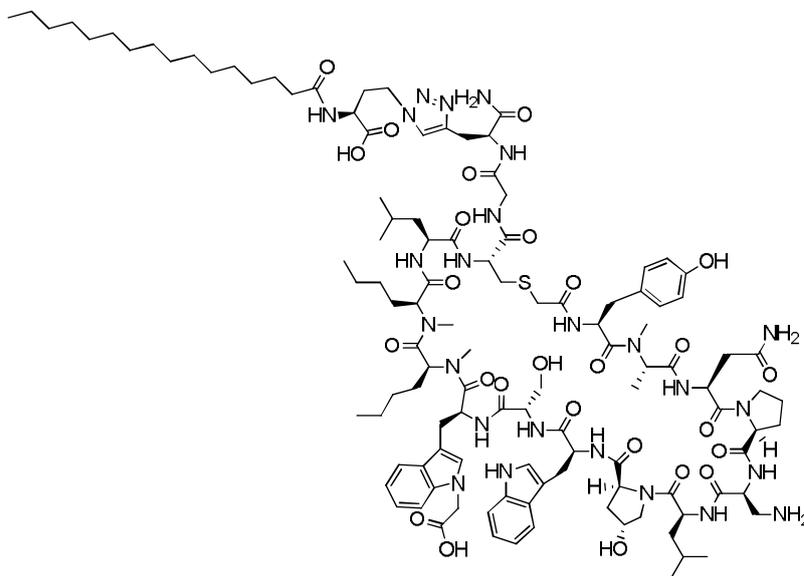


Ejemplo 14079

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300Y (10 mg, 4,77 µmol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (2,19 mg, 5,73 µmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de

amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,50 min; IEN-EM(+) m/z 1239,5 (M + 2H), ion más abundante.

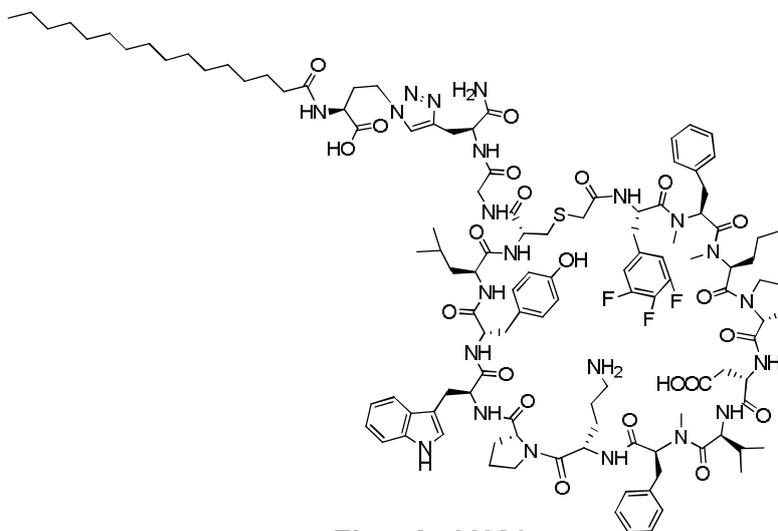
Preparación del Ejemplo 14080



Ejemplo 14080

10 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300X (8 mg, 4,06 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (1,87 mg, 4,87 μ mol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 2,12 min; IEN-EM(+) m/z 1176,7 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14081

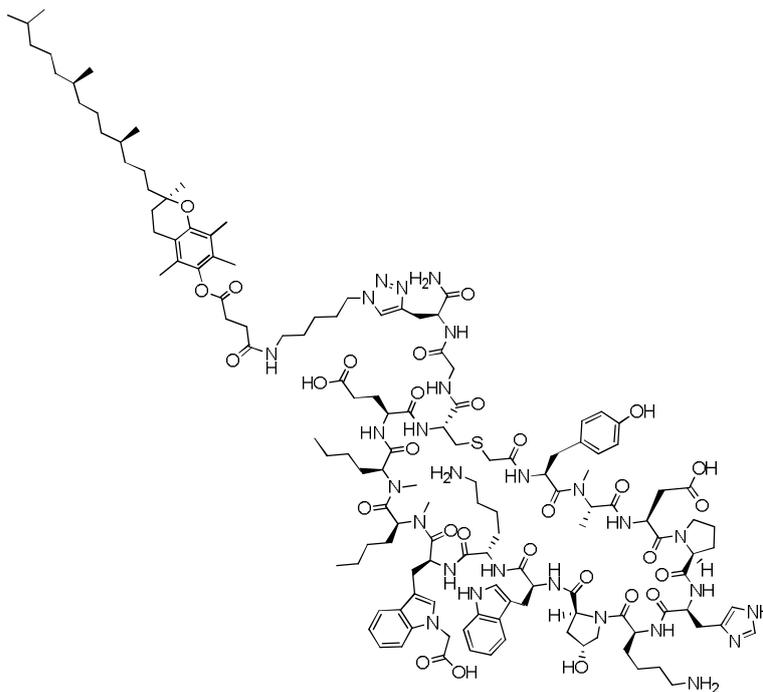


Ejemplo 14081

25 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400K (10 mg, 5,13 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico

(2,36 mg, 6,16 μmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo: agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,5 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 2,44 min; IEN-EM(+) m/z 1166,0 (M + 2H), ion más abundante.

10 *Preparación del Ejemplo 14082*

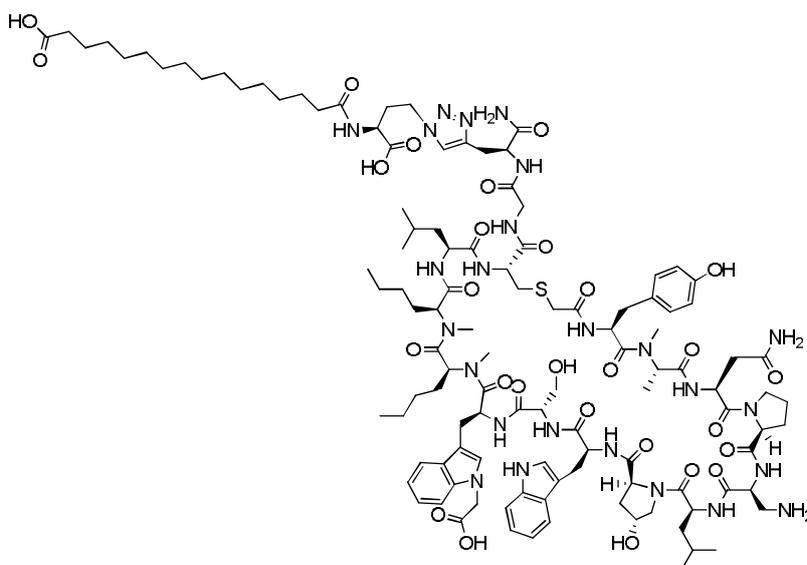


Ejemplo 14082

15 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400J (48 mg, 0,023 mmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (17,64 mg, 0,028 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters Xbridge c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo: agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 60-100 % de B durante 25 minutos, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge Phenyl, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 38-78 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,62 min; IEN-EM(+) m/z 912,8 (M + 3H), ion más abundante.

25 *Preparación del Ejemplo 14083*

30

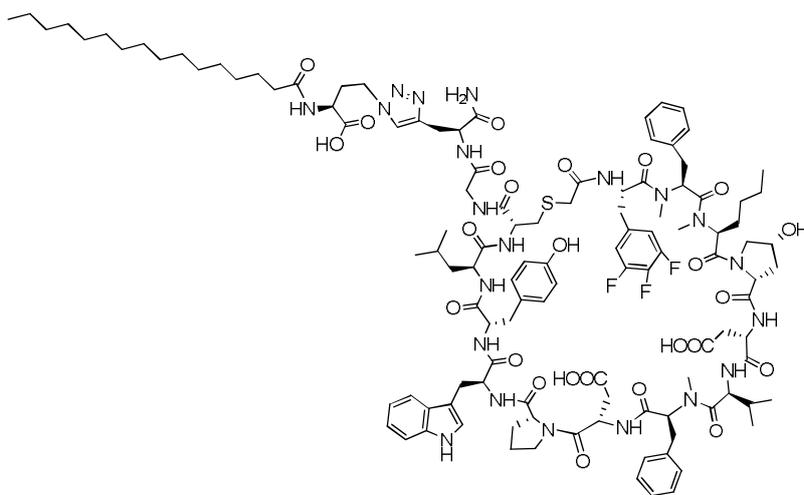


Ejemplo 14083

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300X (26 mg, 0,013 mmol) y ácido (S)-16-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-16-oxohexadecanoico (6,54 mg, 0,016 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 3,1 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,42 min; IEN-EM(+) m/z 1191,8 (M + 2H), ion más abundante. Condición B de análisis: Tiempo de retención = 2,86 min; IEN-EM(+) m/z 1191,6 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14084

20



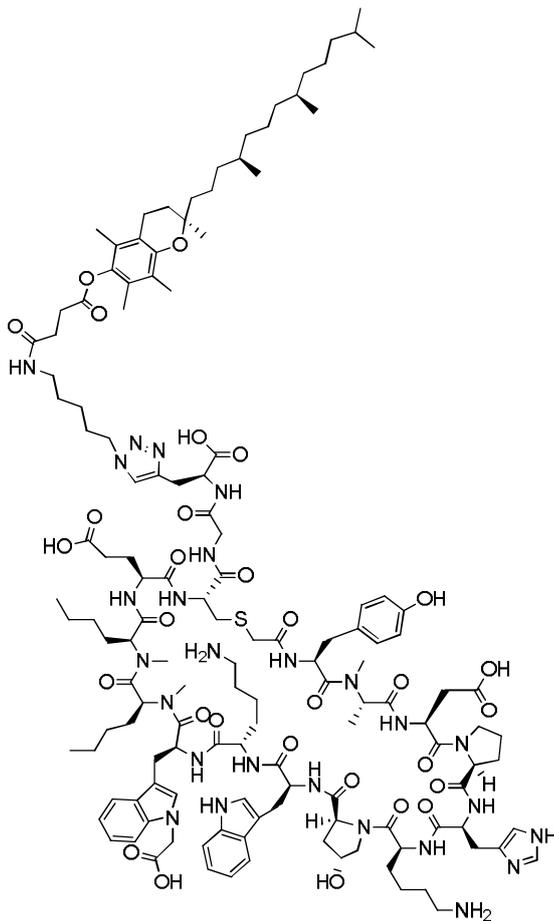
Ejemplo 14084

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400L (10 mg, 5,09 μ mol) y ácido (S)-4-azido-2-palmitamidobutanoico (2,34 mg, 6,11 μ mol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase

25

móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,87 min; IEN-EM(+) m/z 1175,3 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,10 min; IEN-EM(+) m/z 1175,7 (M + 2H), ion más abundante.

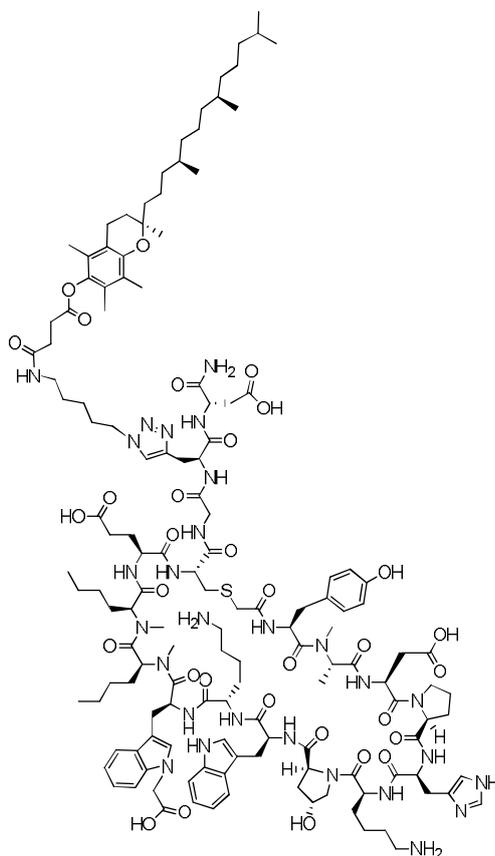
Preparación del Ejemplo 14085



Ejemplo 14085

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300Y (54,8 mg, 0,026 mmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (20,12 mg, 0,031 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge Phenyl, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 40-80 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 15,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,87 min; IEN-EM(+) m/z 912,8 (M + 3H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14086

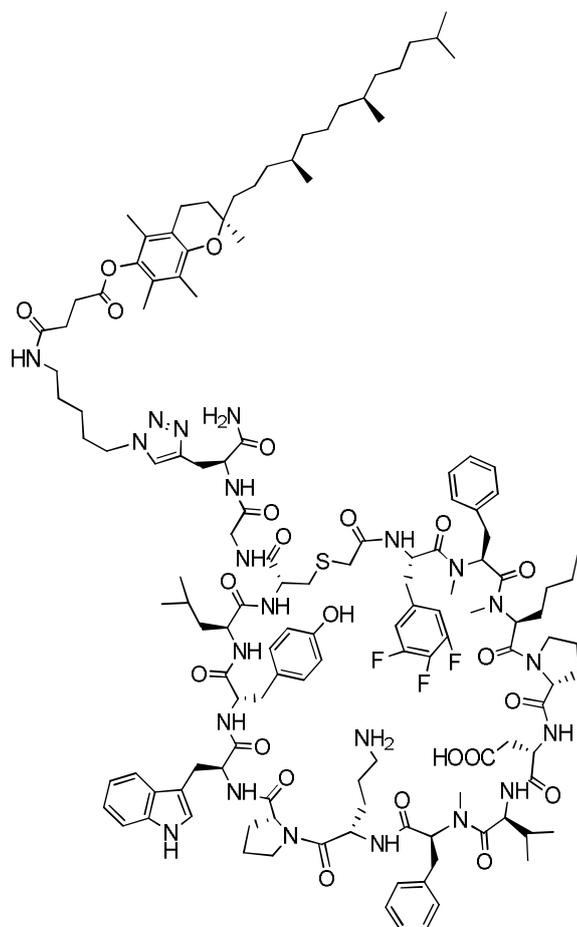


Ejemplo 14086

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400E (48,5 mg, 0,022 mmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (16,89 mg, 0,026 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge Phenyl, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 18,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 2,90 min; IEN-EM(+) m/z 951,3 (M + 3H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14087

15

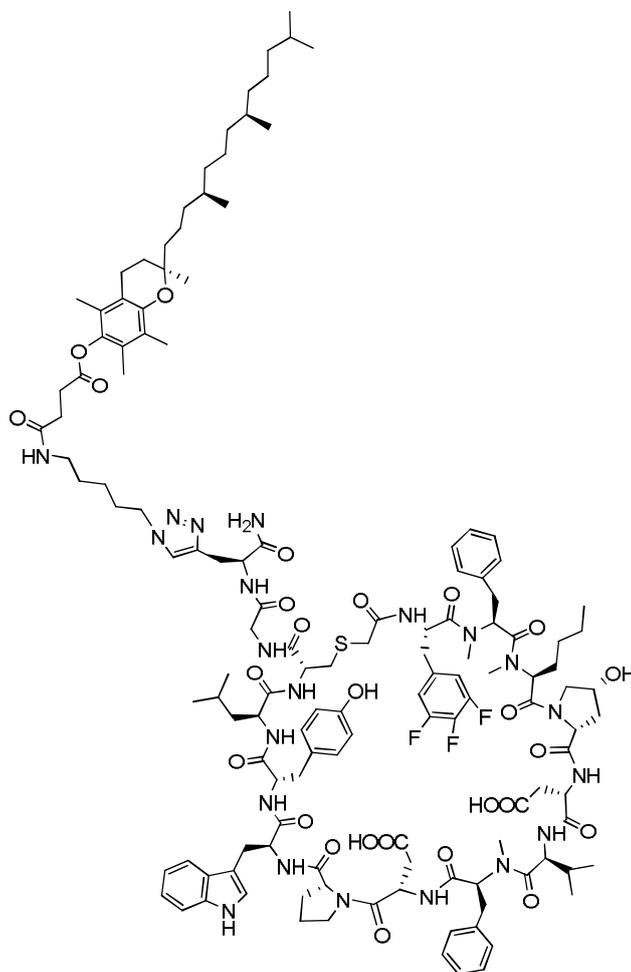


Ejemplo 14087

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400K (54 mg, 0,028 mmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (21,32 mg, 0,033 mmol) como en el procedimiento
 5 general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge Phenyl, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 60-100 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 10 minutos a
 10 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 35,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 3,23 min; IEN-EM(+) m/z 1295,2 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14088

15

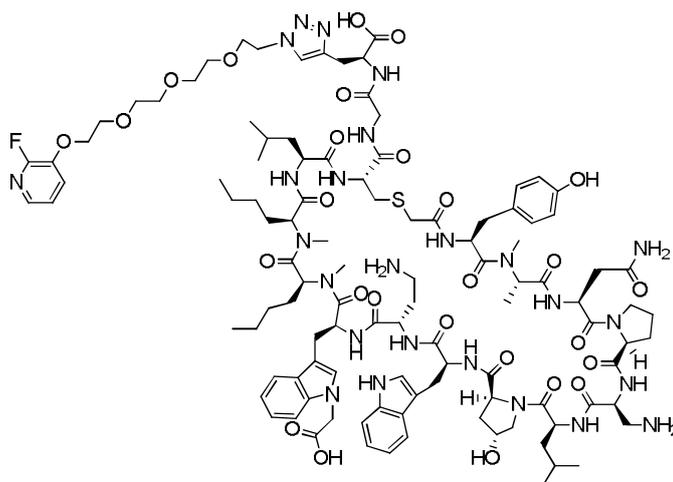


Ejemplo 14088

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400L (54 mg, 0,027 mmol) y 4-((5-azidopentil)amino)-4-oxobutanoato de (R)-2,5,7,8-tetrametil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)croman-6-ilo (21,13 mg, 0,033 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: waters CSH c-18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 80-100 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 15 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29,2 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 2,91 min; IEN-EM(+) m/z 869,9 (M + 3H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14089

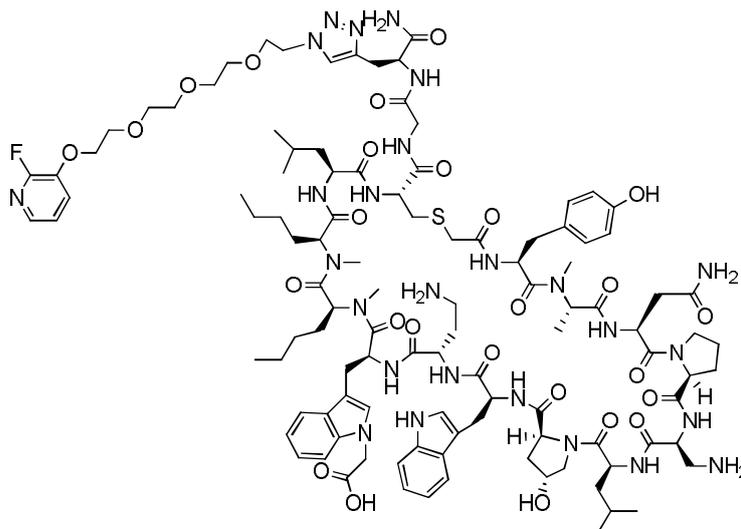
15



Ejemplo 14089

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (13 mg, 6,55 μmol) y 3-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-2-fluoropiridina (2,060 mg, 6,55 μmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 1,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,60 min; IEN-EM(+) m/z 1149,3 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,13 min; IEN-EM(+) m/z 1149,4 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1149,0648 (M+2H) Encontrado: 1149,0635 (M+2H).

20 Preparación del Ejemplo 14090

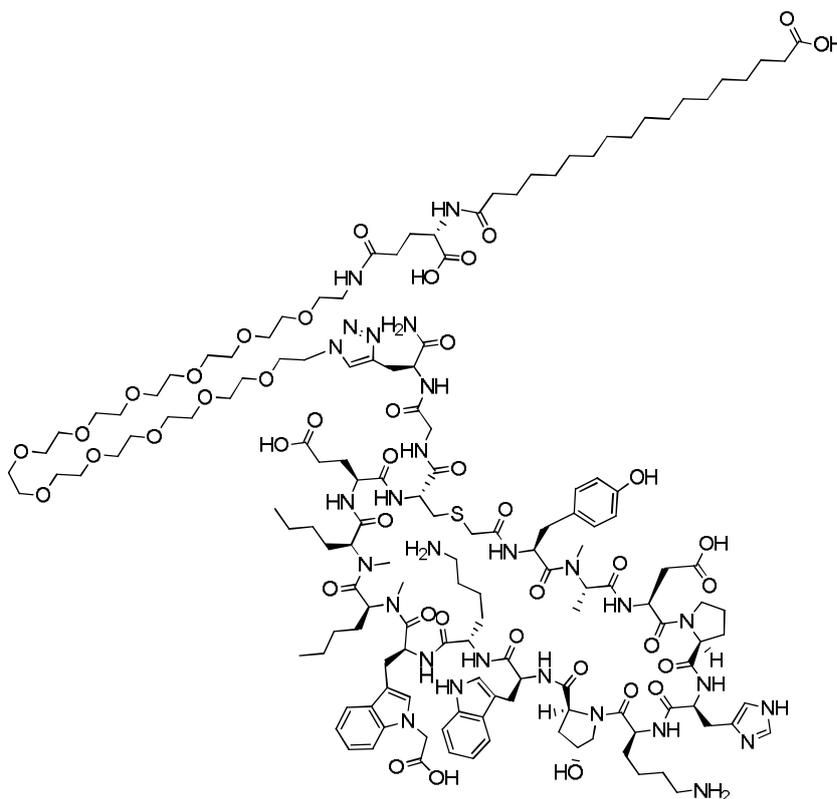


Ejemplo 14090

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300W (12,7 mg, 6,41 μmol) y 3-(2-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)etoxi)-2-fluoropiridina (2,014 mg, 6,41 μmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de metanol:agua con 10 mM de acetato

de amonio; fase móvil B: 95:5 de metanol:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 45-85 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 10-50 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 1,7 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,63 min; IEN-EM(+) m/z 1148,9 (M + 2H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,20 min; IEN-EM(+) m/z 1148,9 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14092



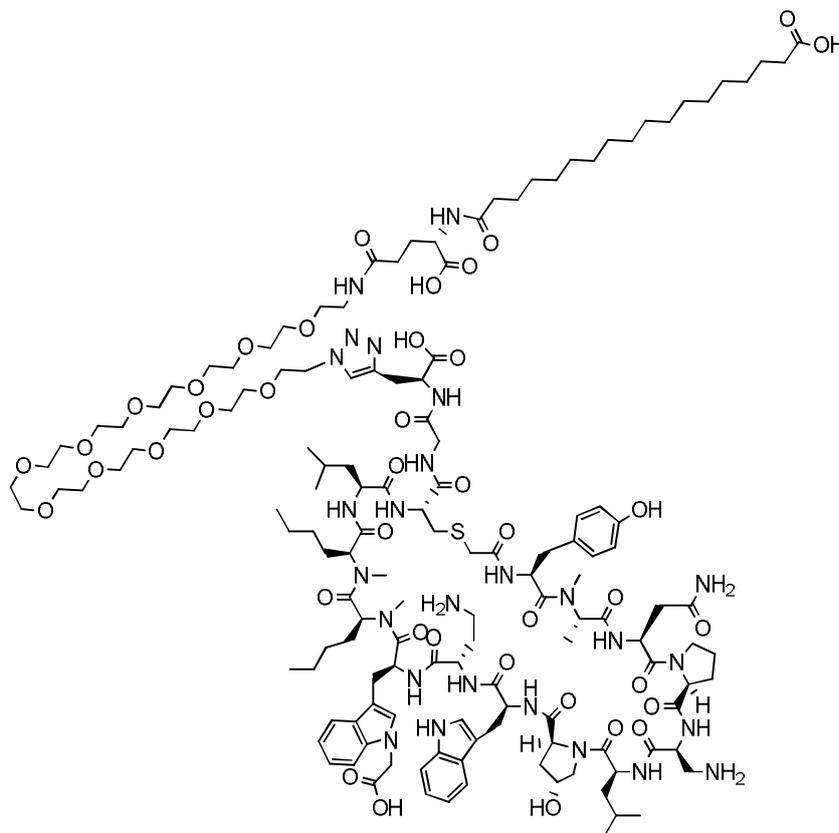
15

Ejemplo 14092

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400J (20 mg, 9,55 µmol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (11,42 mg, 0,011 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 20-60 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 10 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 4,9 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,39 min; IEN-EM(+) m/z 1028,8 (M - 3H), ion más abundante; Condición B de análisis: Tiempo de retención = 3,08 min; IEN-EM(+) m/z 1028,8 (M - 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1544,8138 (M+2H) Encontrado: 1544,8114 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 14093

30

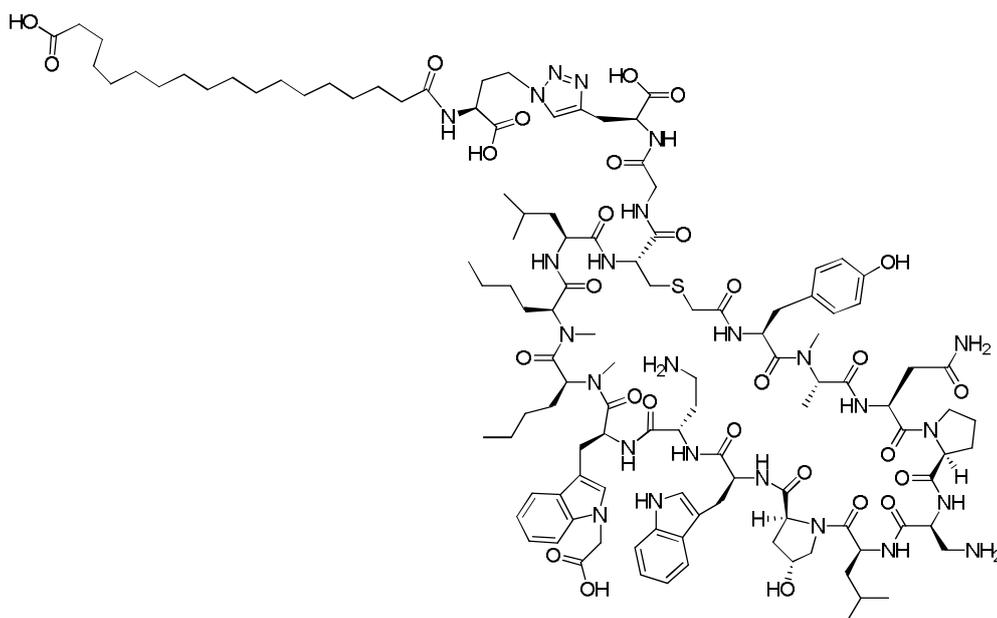


Ejemplo 14093

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (30 mg, 15,0 μmol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (18,08 mg, 0,018 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 35-75 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 7 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 30-70 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 2,6 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 100 %. Condición A de análisis: Tiempo de retención = 1,96 min; IEN-EM(+) m/z 994,3 (M + 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1489,8080 (M+2H) Encontrado: 1489,8043 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 14095

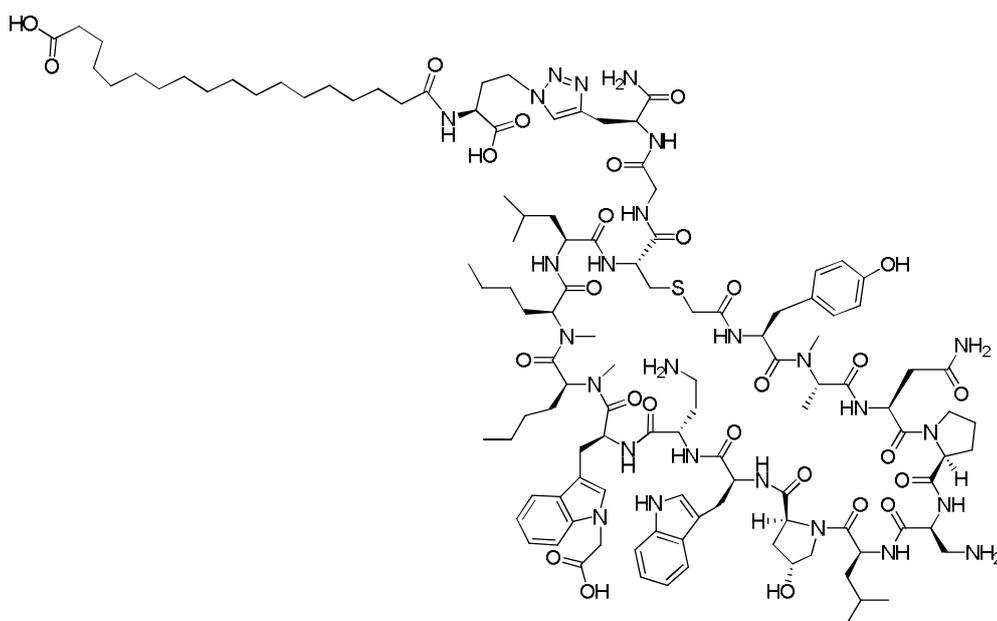
20



Ejemplo 14095

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (80 mg, 40,0 μmol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (17,77 mg, 0,040 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μm , disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H_2O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H_2O /ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 24 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,51 min; IEN-EM(+) m/z 1213,12 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1212,1452 (M+2H) Encontrado: 1212,1405 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 14096

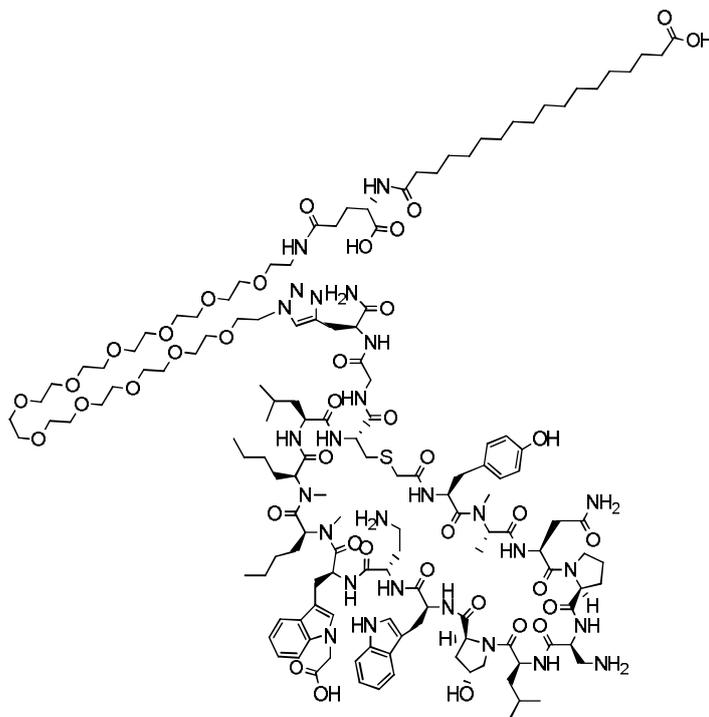


Ejemplo 14096

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300W (50 mg, 25,0 μmol) y ácido (S)-18-((3-amino-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (11,11 mg, 0,025 mmol), como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18

30 x100 mm 5 um, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 14 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,62 min; IEN-EM(+) *m/z* 1212,31 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1211,6532 (M+2H) Encontrado: 1211,6525 (M+2H).

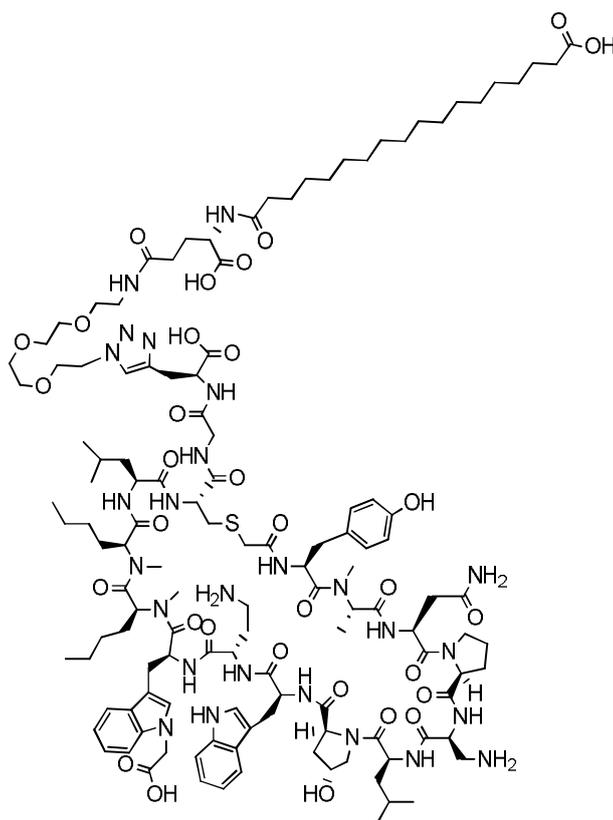
Preparación del Ejemplo 14097



Ejemplo 14097

10 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300W (500 mg, 25,0 μmol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (25,10 mg, 0,025 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 um, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 11 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,57 min; IEN-EM(+) *m/z* 1489,99 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1489,3160 (M+2H) Encontrado: 1489,3155 (M+2H).

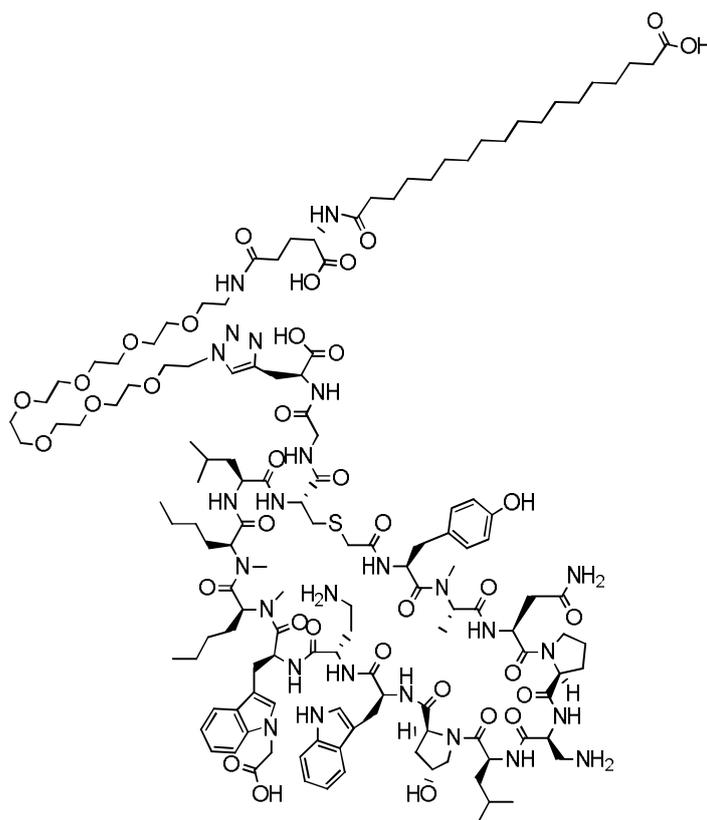
20 Preparación del Ejemplo 14098



Ejemplo 14098

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (50 mg, 25,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-16-carboxi-13,18-dioxo-3,6,9-trioxa-12,17-diazapentatriacontan-35-oico (16,23 mg, 0,025 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μ m, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 29 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,50 min; IEN-EM(+) m/z 1314,37 (M + 2H), ion más abundante IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1313,7031 (M+2H) Encontrado: 1313,7031 (M+2H).

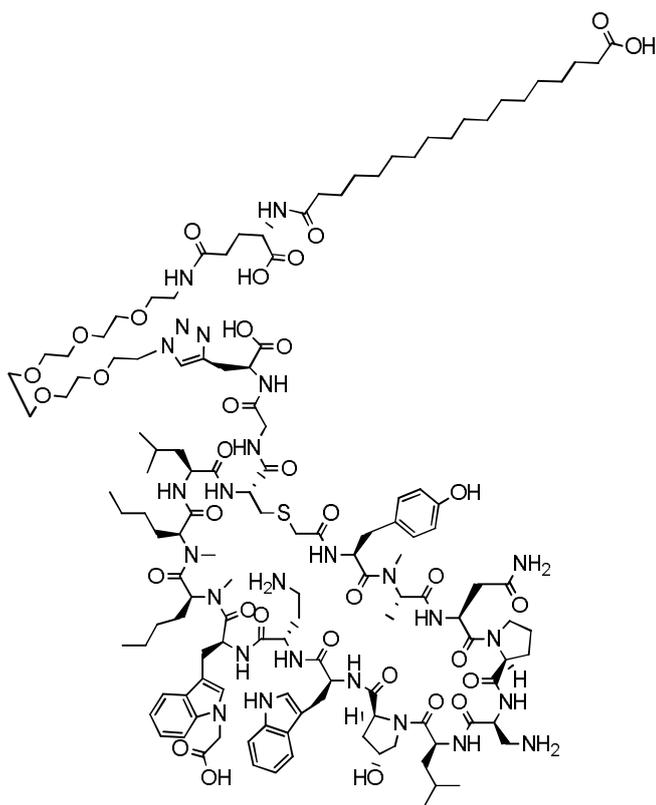
Preparación del Ejemplo 14099



Ejemplo 14099

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (50 mg, 25,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-28-carboxi-25,30-dioxo-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxa-24,29-diazaheptatetracontan-47-oico (20,67 mg, 0,025 mmol) como en el procedimiento
 5 general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μ m, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 51 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de
 10 CLEM fue de 90 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,52 min; IEN-EM(+) m/z 1402,83 (M + 2H), ion más abundante IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1401,7555 (M+2H) Encontrado: 1401,7561 (M+2H).

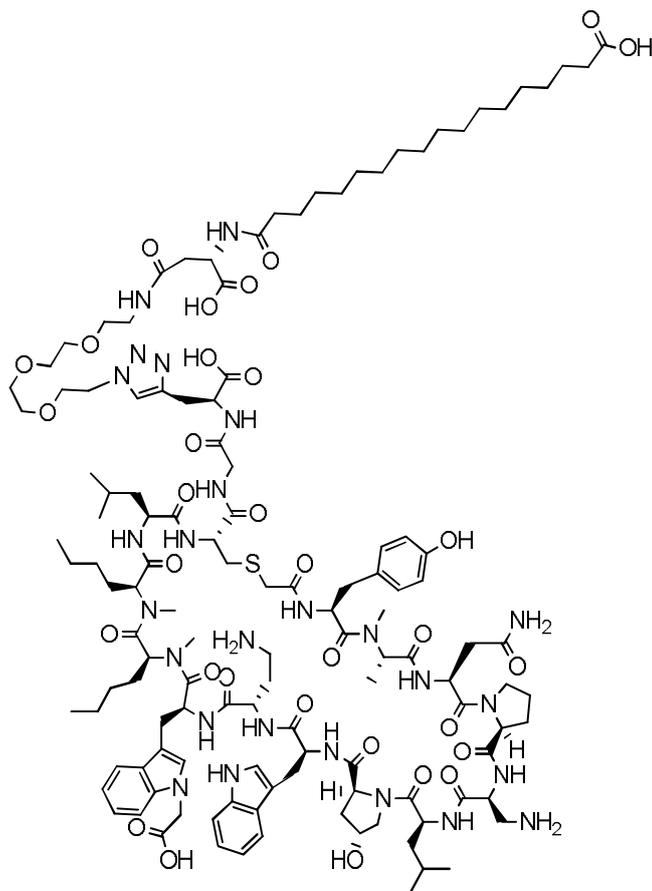
Preparación del Ejemplo 14100



Ejemplo 14100

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (50 mg, 25,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-22-carboxi-19,24-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,23-diazahentetracontan-41-oico (18,45 mg, 0,025 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto.
- 5 El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μ m, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 26 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención =
- 10 2,25 min; IEN-EM(+) m/z 1358,8 (M + 2H), ion más abundante IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1357,7293 (M+2H) Encontrado: 1357,7263 (M+2H).

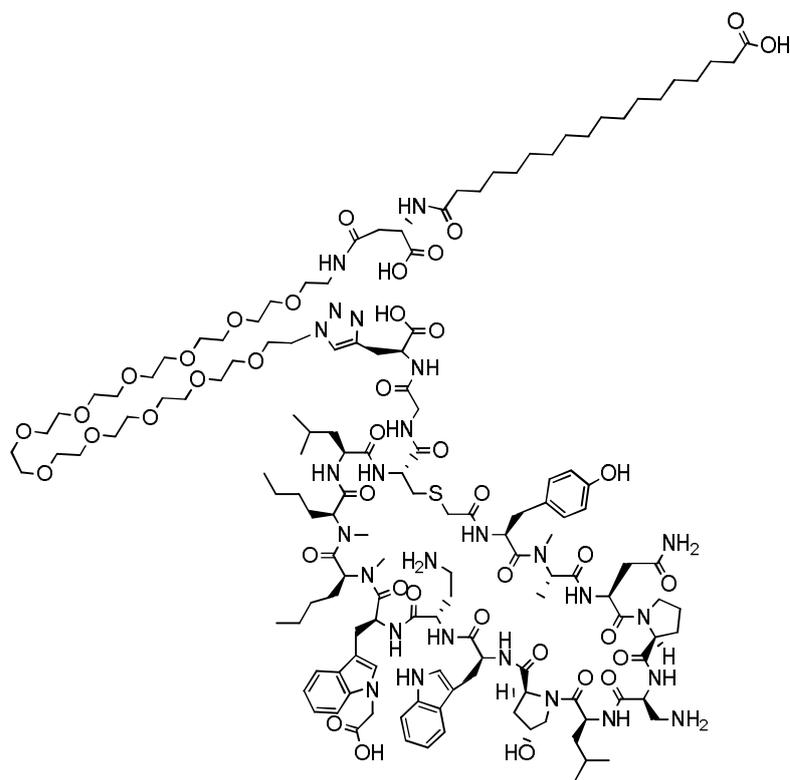
Preparación del Ejemplo 14101



Ejemplo 14101

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (57 mg, 29,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-15-carboxi-13,17-dioxo-3,6,9-trioxa-12,16-diazatetracontan-34-oico (18,10 mg, 0,029 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μ m, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 -50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 15 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,50 min; IEN-EM(+) m/z 1307,4 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1306,6953 (M+2H) Encontrado: 1306,6927 (M+2H).

Preparación del Ejemplo 14102

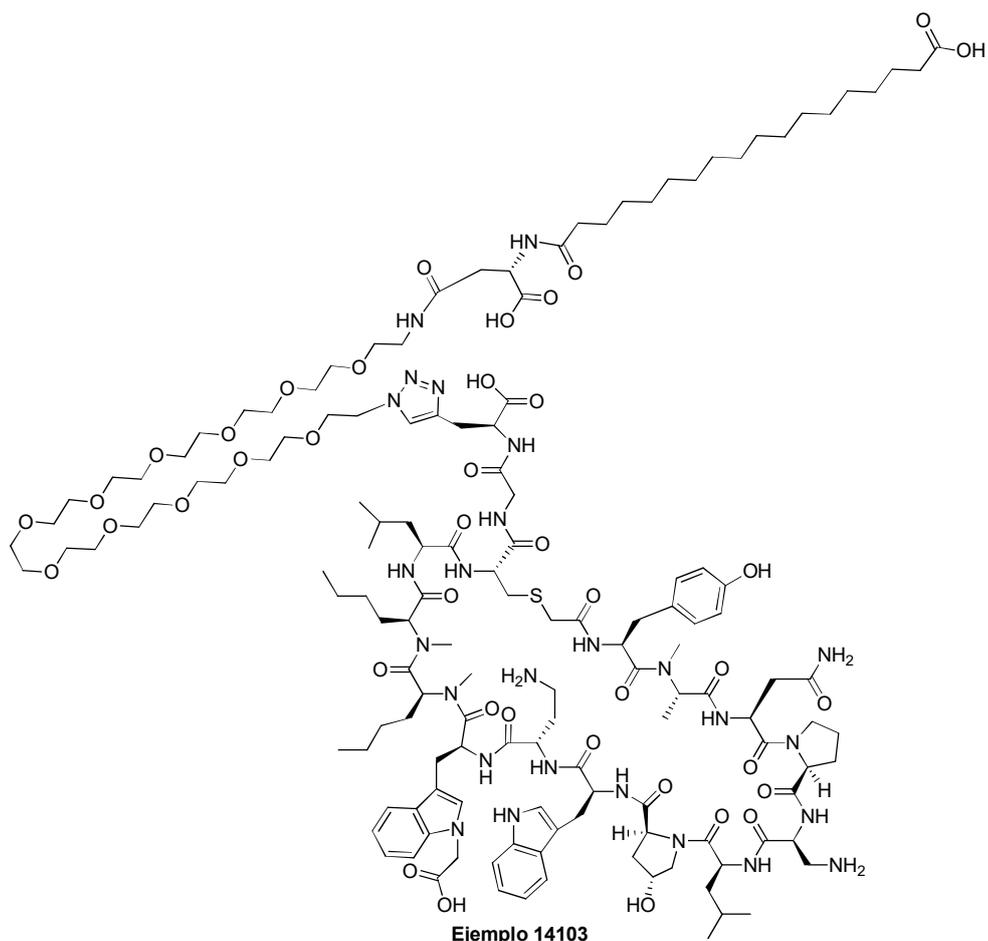


Ejemplo 14102

5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (75 mg, 38,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-39-carboxi-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-oico (37,1 mg, 0,038 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μ m, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15-50 % de B, 60 min, Sens = 100 %). El rendimiento del producto fue de 25 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,31 min; IEN-EM(+) m/z 1483,4 (M + 2H), ion más abundante. IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 988,8692 (M+3H) Encontrado: 988,8696 (M+3H).

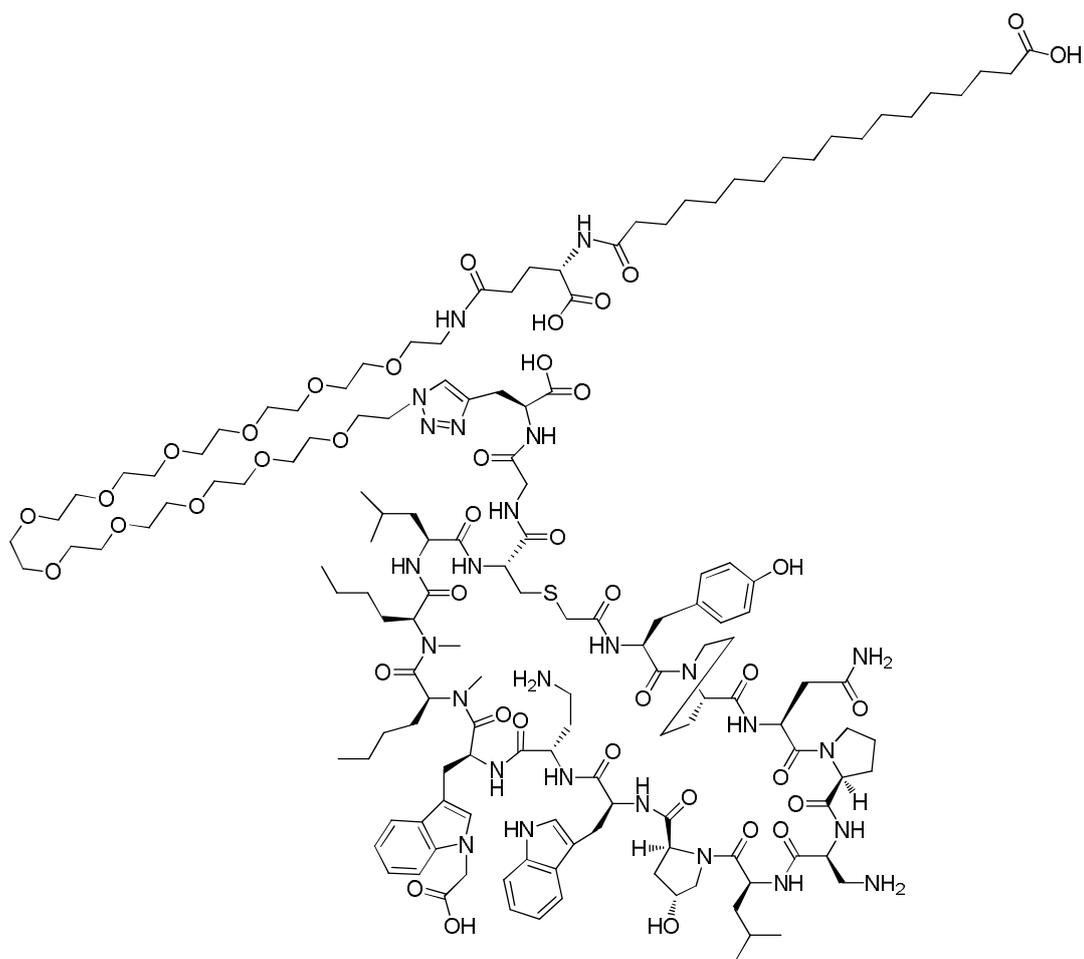
10

Preparación del Ejemplo 14103



5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (75 mg, 38,0 μmol) y ácido (S)-1-azido-39-carboxi-37,41-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,40-diazaoctapentacontan-58-oico (37,1 mg, 0,038 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Xbridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 10 mm de acetato de amonio en 95 : 5 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$; fase móvil B: 10 mm de acetato de amonio en 5:95 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$; gradiente: 15-50 % de B durante 60 minutos, flujo: 40 ml/min, Sens: 100 %. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 25 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,243 min; IEN-EM(+) m/z 1483,4 (M + 2H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1482,8001 (M+2H) Encontrado: 1482,7974 (M+2H).

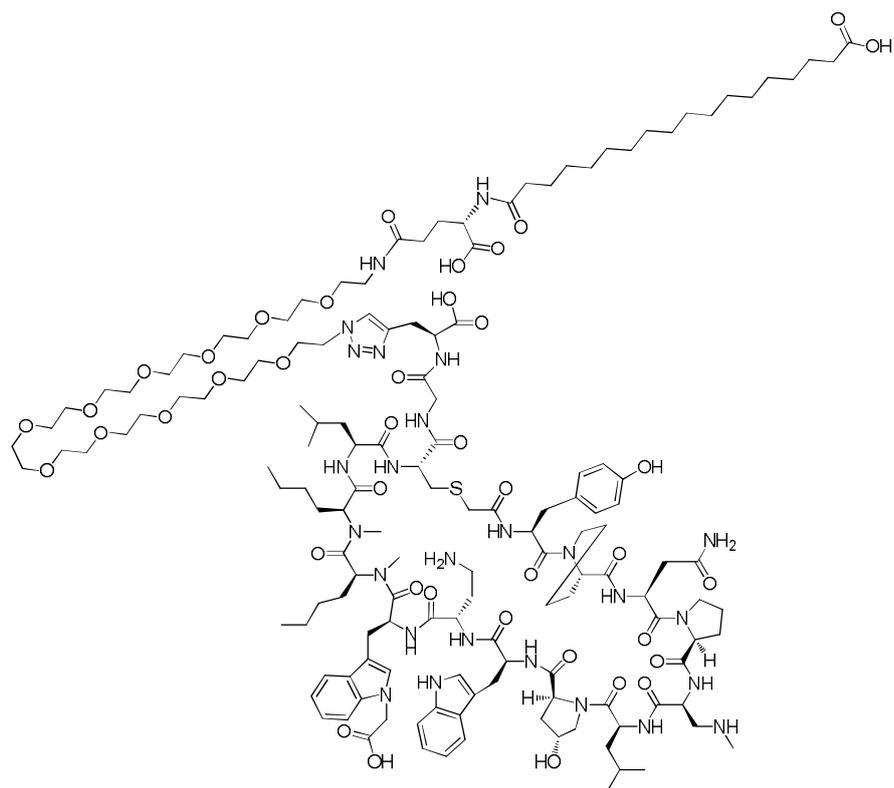
15 *Preparación del Ejemplo 14104*



5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 130A1 (75 mg, 37,0 μmol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (37,2 mg, 0,037 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Xbridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 10 mm de acetato de amonio en 95 : 5 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$; fase móvil B: 10 mm de acetato de amonio en 5:95 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$; gradiente: 15-50 % de B durante 60 minutos, flujo: 40 ml/min, Sens: 100 %. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 33 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,27 min; IEN-EM(+) m/z 1002,5 (M + 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1502,8163 (M+2H) Encontrado: 1502,8137.

Preparación del Ejemplo 14105

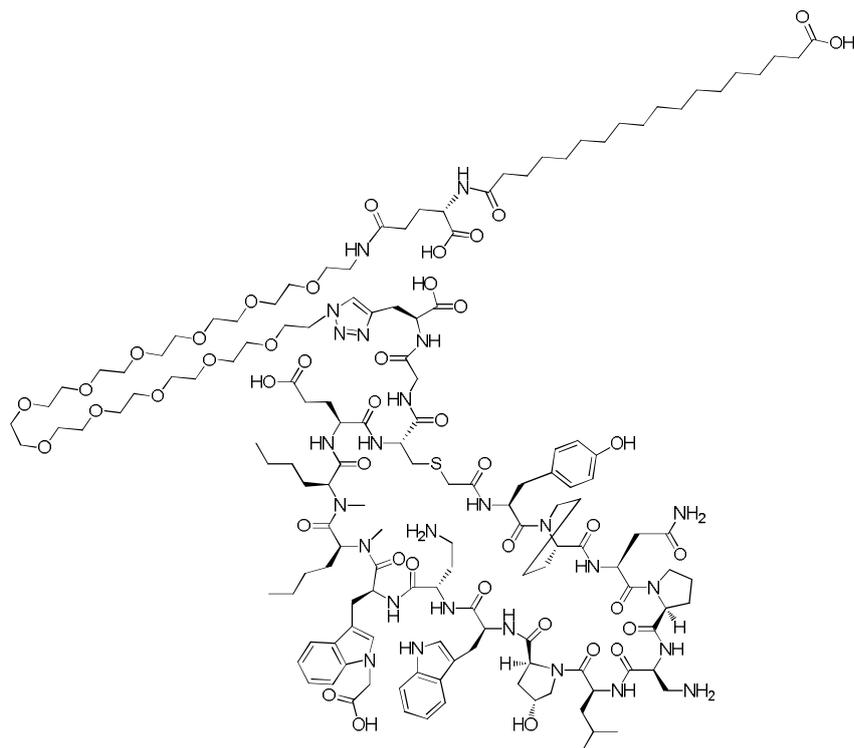
15



- 5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AK (75 mg, 37,0 μmol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (36,9 mg, 0,037 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Xbridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μm ; fase móvil A: 10 mm de acetato de amonio en 95 : 5 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$; fase móvil B: 10 mm de acetato de amonio en 5:95 de $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$; gradiente: 15-50 % de B durante 60 minutos, flujo: 40 ml/min, Sens: 100 %. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 31 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,27 min; IEN-EM(+) m/z 1007,2 (M + 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1509,8242 (M+2H) Encontrado: 1509,8224.

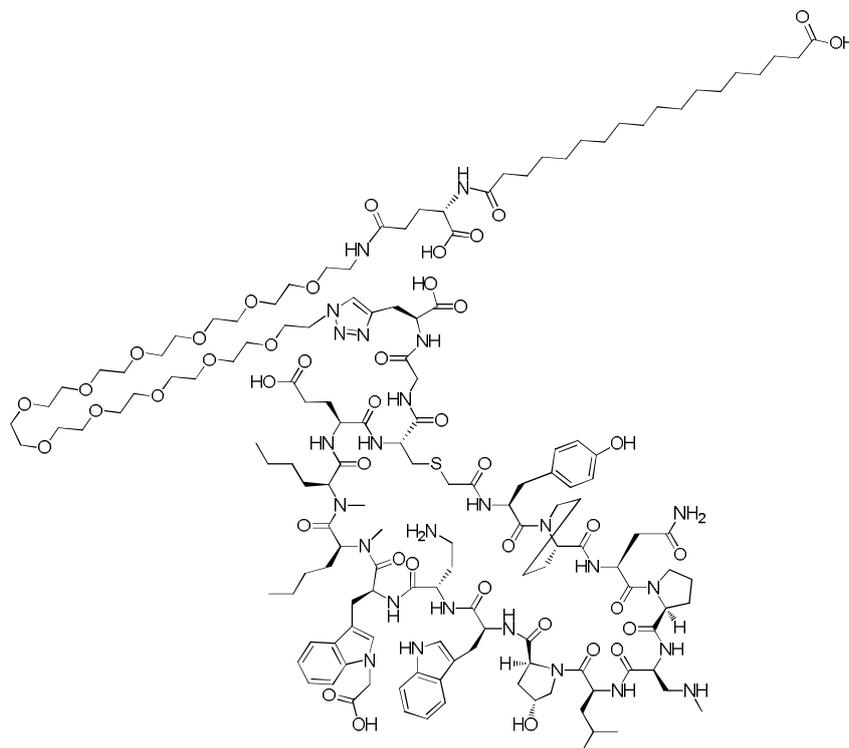
15 *Preparación del Ejemplo 14106*

15



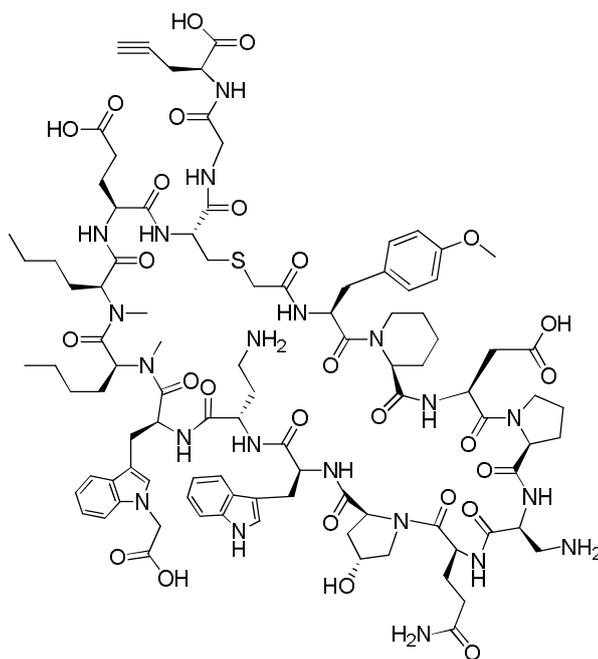
5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AJ (75 mg, 37,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (36,9 mg, 0,037 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Xbridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 10 mm de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O:ACN; fase móvil B: 10 mm de acetato de amonio en 5:95 de H₂O:ACN; gradiente: 15-50 % de B durante 60 minutos, flujo: 40 ml/min, Sens: 100 %. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 26 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,24 min; IEN-EM(+) *m/z* 1007,8 (M + 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1510,7956 (M+2H) Encontrado: 1510,7940.

15 *Preparación del Ejemplo 14107*



5 Se hicieron reaccionar el Intermediario 130AL (75 mg, 37,0 μ mol) y ácido (S)-1-azido-40-carboxi-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (36,6 mg, 0,037 mmol) como en el procedimiento general de formación de triazol anterior para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Xbridge C18, 30 x 100 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 10 mm de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O:ACN; fase móvil B: 10 mm de acetato de amonio en 5:95 de H₂O:ACN; gradiente: 15-50 % de B durante 60 minutos, flujo: 40 ml/min, Sens: 100 %. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 29 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 90 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,23 min; IEN-EM(+) m/z 1012,5 (M + 3H), ion más abundante; IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1517,8034 (M+2H) Encontrado: 1517,8015.

15 *Preparación de INT-1400 M*

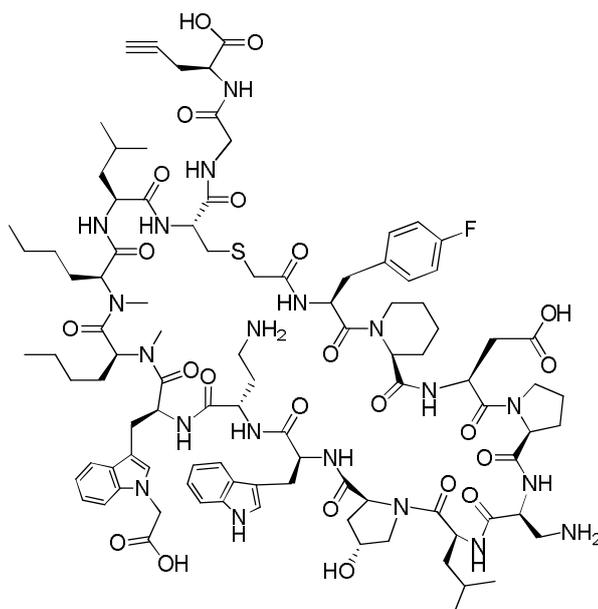
**INTERMEDIARIO 1400M**

El péptido anterior se sintetizó a una escala de 1,0 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr(Me)-Pip-Asp-Pro-Dap-Gln-Hyp-Trp-Dab-Trp'-mNle-mNle-Glu-Cys-Gly-[(S)-propargilglicina]

Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 30 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 7 minutos a 100 % de B; flujo: 50 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 30 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 66,9 %.

Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,55 min; IEN-EM(-) m/z 1026,7 (M - 2H), ion más abundante.

Preparación de INT-1400N



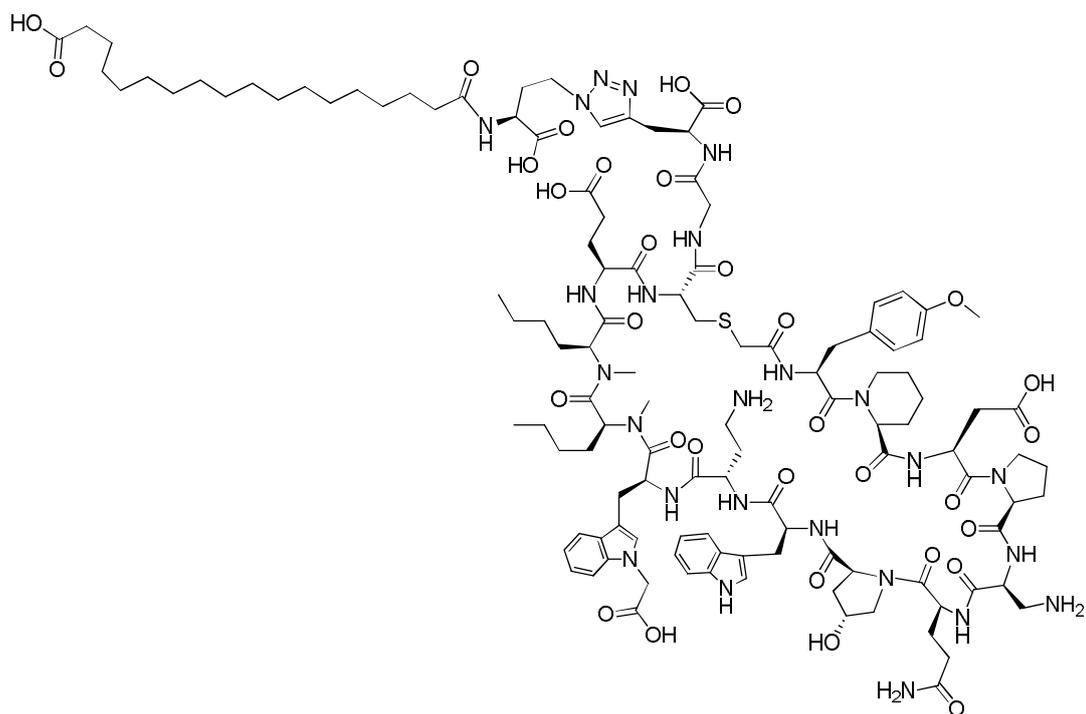
INTERMEDIARIO 1400N

El péptido anterior se sintetizó a una escala de 1,8 mmol de acuerdo con los procedimientos anteriores. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble. ClAc-Tyr(4-F)-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-Trp'-mNle-mNle-Leu-Cys-Gly -[(S)-propargilglicina]

Después de la desprotección y la ciclación de acuerdo con los procedimientos anteriores, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 30 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 15-55 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 50 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

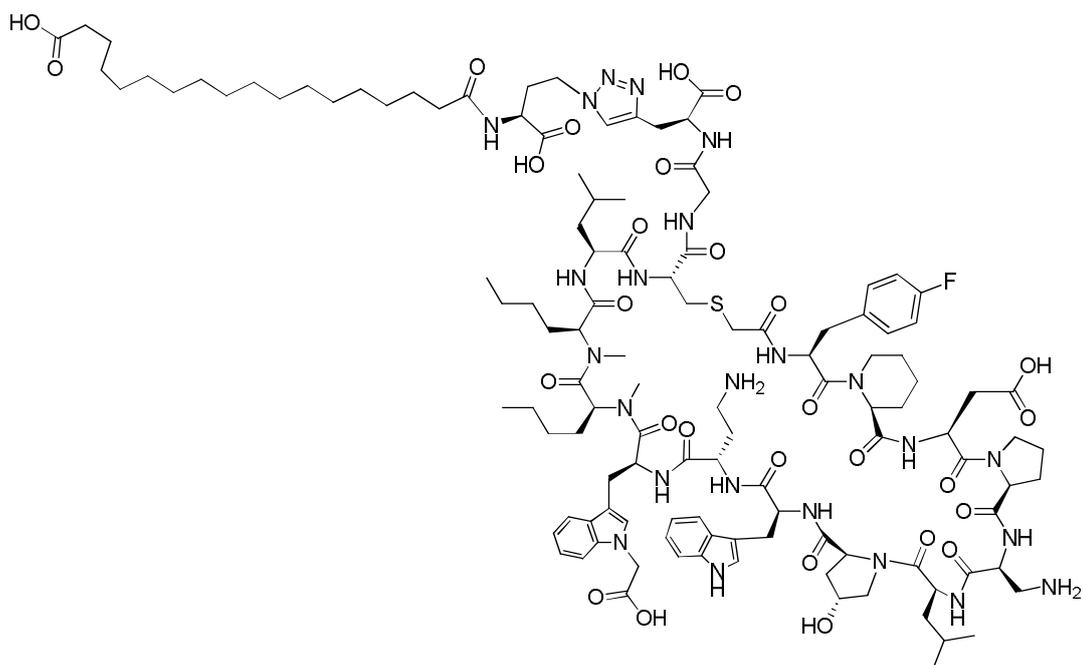
El rendimiento del producto fue de 90 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 52,5 %. Condición E de análisis: Tiempo de retención = 1,73 min; IEN-EM(+) m/z 1007,0 (M + 2H), ion más abundante.

Preparación del Ejemplo 14121



Ejemplo 14121

- Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400 M (30 mg, 7,59 μmol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (3,34 mg, 7,59 μmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: (Columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μm , disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H_2O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H_2O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 - 50 % de B, 60 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 8,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.
- 5
- 10 Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,15 min; IEN-EM(+) m/z 832,9 (M + 3H) Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,29 min; IEN-EM(+) m/z 1248,4 (M + 2H) Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,45 min; IEN-EM(-) m/z 830,0 (M - 3H) IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1248,1194 (M+2H) Encontrado: 1248,1185 (M+2H).
- 15 *Preparación del Ejemplo 14122*



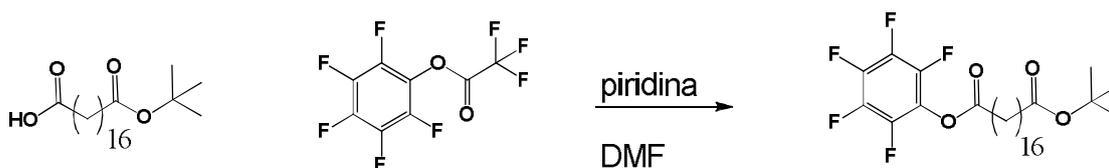
Ejemplo 14122

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1400N (90 mg, 23 μ mol) y ácido (S)-18-((3-azido-1-carboxipropil)amino)-18-oxooctadecanoico (10,34 mg, 23 μ mol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: (Columna: XBridge Prep C18 30 x100 mm 5 μ m, disolvente A = 10 mM de acetato de amonio en 95 : 5 de H₂O / ACN, disolvente B = 10 mM de acetato de amonio en 5 : 95 de H₂O / ACN. Caudal: 40 ml / min, 15 - 50 % de B, 60 min). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

El rendimiento del producto fue de 12,0 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %.

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,47 min; IEN-EM(+) m/z 1227,2 (M + 2H) Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,45 min; IEN-EM(+) m/z 1227,2 (M + 2H) IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1226,6429 (M+2H) Encontrado: 1226,6408 (M+2H).

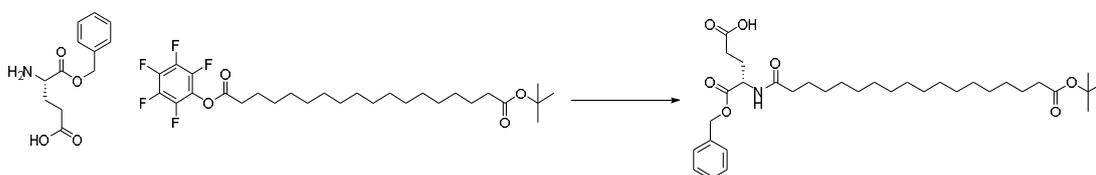
Preparación de 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-terc-butilo



A una solución de ácido 18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanoico (5,00 g, 13,49 mmol) en DMF (54,0 ml), se le añadió piridina (3,82 ml, 47,2 mmol), y después trifluoroacetato de pentafluorofenilo (5,81 ml, 33,7 mmol). Se formó un gel, y se añadió una barra de agitación adicional a la mezcla de reacción. La mezcla se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró (embudo Buchner/papel) para obtener un sólido blanco, que se lavó con una pequeña cantidad de DMF. Se aspiró una atmósfera rica en nitrógeno a través de la torta de filtro durante algunas horas para obtener 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-terc-butilo (6,50 g, 11,63 mmol, 90 % de rendimiento).

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 4,12 min; IEN-EM(+) m/z 559,1 (M + Na).

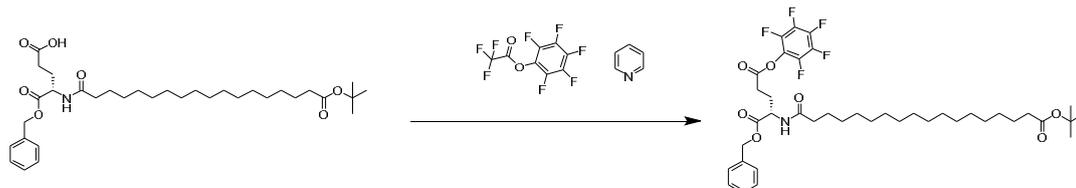
Preparación de ácido (S)-5-(benciloxi)-4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico



La mezcla de ácido (S)-4-amino-5-(benciloxi)-5-oxopentanoico (1,1 g, 4,64 mmol), 1- 18-(perfluorofenil)

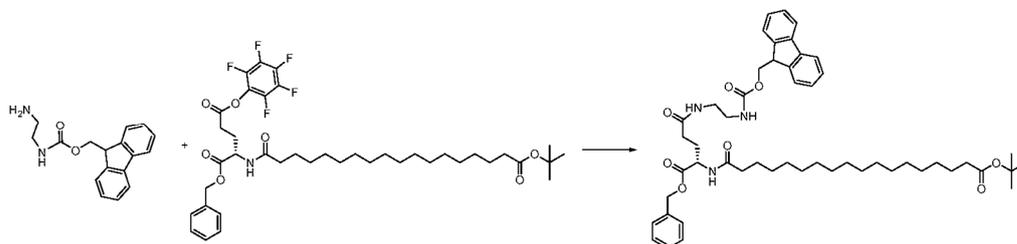
octadecandioato de *terc*-butilo (2,488 g, 4,64 mmol) y base de Hunig (1,053 ml, 6,03 mmol) en DMF (15,45 ml) se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto resultante se purificó mediante Biotage (SG, 300 g, 0 a 25 % de acetona / CH₂Cl₂) para obtener ácido (S)-5-(benciloxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (1,31 g, 2,221 mmol, 47,9 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,99 min; IEN-EM(+) *m/z* 591,2 (M + 1); RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,41 - 7,28 (m, 5H), 5,22 - 5,14 (m, 2H), 4,49 (dd, *J*=9,2, 5,3 Hz, 1H), 2,42 - 2,35 (m, 2H), 2,27 - 2,19 (m, 4H), 2,19 - 2,13 (m, 1H), 1,96 (ddt, *J*=14,2, 9,0, 7,1 Hz, 1H), 1,65 - 1,52 (m, 4H), 1,48 - 1,41 (m, 9H), 1,37 (s a, 1H), 1,33 - 1,26 (m, 24H).

Preparación de (S)-1-bencil 5-(perfluorofenil) 2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato



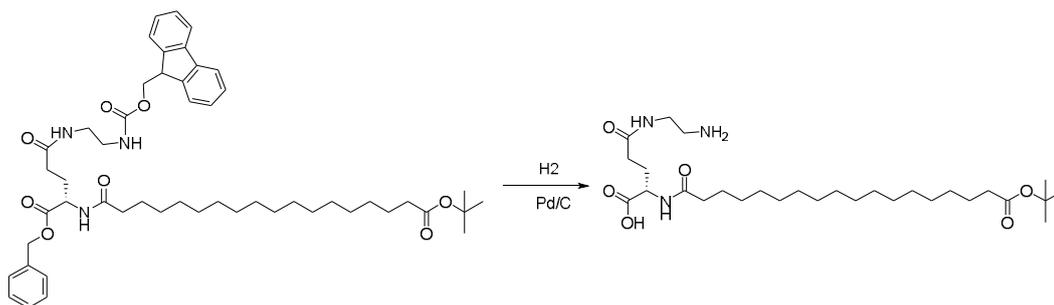
A un matraz de fondo redondo de 100 ml, se le añadieron ácido (S)-5-(benciloxi)-4-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (1,31 g, 2,221 mmol), N,N-dimetilformamida (7,40 ml), piridina (0,387 g, 4,89 mmol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (1,244 g, 4,44 mmol). La reacción se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El aceite en bruto (S)-1-bencil 5-(perfluorofenil) 2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato se usó en el estado en el cual se encontraba en la siguiente etapa. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 3,60 min; IEN-EM(+) *m/z* 757,2 (M + 1).

Preparación de 11-((benciloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,8,13-trioxo-2-oxa-4,7,12-triazatriacontan-30-oato de (S)-*terc*-butilo



La mezcla de (2-aminoetil)carbamato de (9H-fluoren-9-il)metilo, HCl (0,850 g, 2,67 mmol), (S)-1-bencil 5-(perfluorofenil) 2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)pentandioato (1,679 g, 2,221 mmol) y base de Hunig (1,164 ml, 6,66 mmol) en DMF (10 ml) se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se evaporaron al vacío. El producto en bruto se trituro con MeCN para obtener 11-((benciloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,8,13-trioxo-2-oxa-4,7,12-triazatriacontan-30-oato de (S)-*terc*-butilo (1,448 g, 1,695 mmol, 76,3 % de rendimiento). Condición D de análisis: Tiempo de retención = 3,61 min; IEN-EM(+) *m/z* 855,5 (M + 1) RMN ¹H (500 MHz, METANOL-d₄) δ 7,81 (d, *J*=7,6 Hz, 2H), 7,66 (d, *J*=7,5 Hz, 2H), 7,40 (t, *J*=7,5 Hz, 2H), 7,37 - 7,24 (m, 7H), 5,12 (d, *J*=2,3 Hz, 2H), 4,49 - 4,42 (m, 1H), 4,33 (dd, *J*=6,9, 4,4 Hz, 2H), 4,24 - 4,16 (m, 1H), 3,26 - 3,14 (m, 4H), 2,34 - 2,13 (m, 7H), 1,93 (dt, *J*=9,5, 6,9 Hz, 1H), 1,66 - 1,52 (m, 4H), 1,46 (s, 9H), 1,37 - 1,20 (m, 24H).

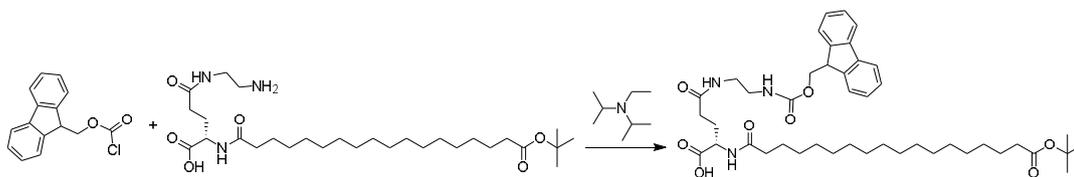
Preparación de ácido (S)-5-((2-aminoetil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico



A la mezcla de 11-((benciloxi)carbonil)-1-(9H-fluoren-9-il)-3,8,13-trioxo-2-oxa-4,7,12-triazatriacontan-30-oato de (S)-*terc*-butilo (1,448 g, 1,695 mmol) en metanol (28,3 ml), se le añadió paladio sobre carbono (0,180 g, 0,170 mmol). El matraz se cerró herméticamente con un tapón superior y se cargó con hidrógeno mediante un globo. El día siguiente, la reacción se filtró a través de celite para retirar el catalizador, y el filtrado se evaporó al vacío para obtener ácido (S)-5-((2-aminoetil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico, que se usó en el estado en el cual se encontraba.

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,44 min; IEN-EM(+) m/z 542,2 (M + 1)

Preparación de ácido (S)-5-((2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico

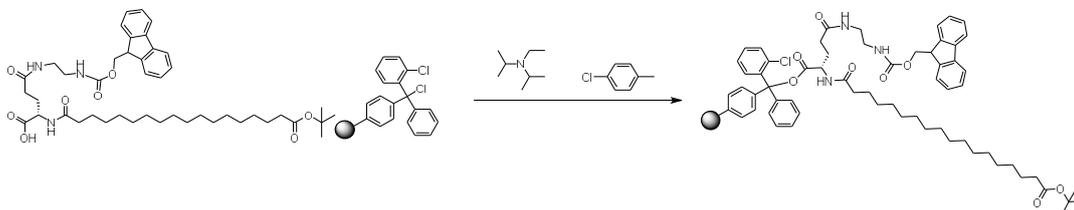


Al ácido (S)-5-((2-aminoetil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (0,918 g, 1,694 mmol) en DCM (42,4 ml) a 0 °C, se le añadieron DIEA (0,888 ml, 5,08 mmol) y cloroformiato de 9-fluorenilmetilo (0,482 g, 1,864 mmol). La solución resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de acetonitrilo - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de acetonitrilo - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: Waters-sunFire OBD 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 45 - 100 % de B, 10 min, 6 min más después de 100 % de B) para obtener ácido (S)-5-((2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (443 mg, 0,580 mmol, 34,2 % de rendimiento), 2 etapas.

Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,84 min; IEN-EM(+) m/z 764,5 (M + 1)

RMN ¹H (500 MHz, METANOL-*d*₄) δ 7,81 (d, $J=7,5$ Hz, 2H), 7,67 (d, $J=7,5$ Hz, 2H), 7,40 (t, $J=7,5$ Hz, 2H), 7,37 - 7,29 (m, 2H), 4,42 (dd, $J=9,2, 4,8$ Hz, 1H), 4,35 (dd, $J=6,9, 4,0$ Hz, 2H), 4,28 - 4,17 (m, 1H), 3,30 - 3,18 (m, 4H), 2,36 - 2,12 (m, 7H), 2,02 - 1,91 (m, 1H), 1,69 - 1,52 (m, 4H), 1,46 (s, 9H), 1,40 - 1,20 (m, 24H).

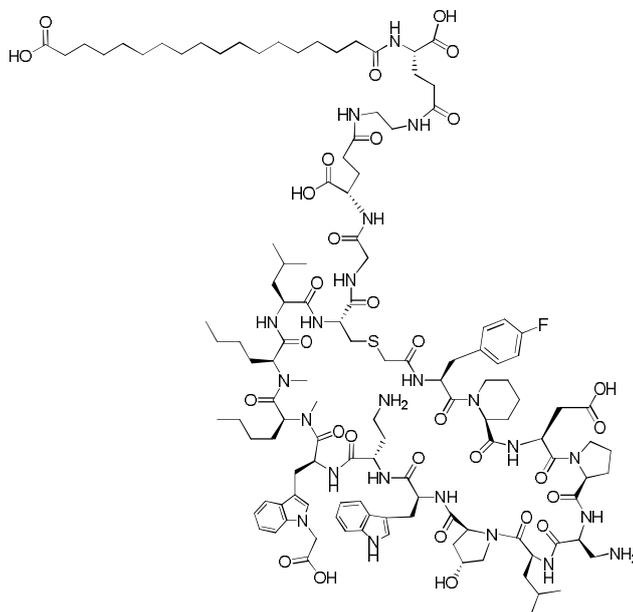
Preparación de resina de clorotritilo modificada 14A



A una mezcla de ácido (S)-5-((2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)etil)amino)-2-(18-(*terc*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)-5-oxopentanoico (443 mg, 0,580 mmol) y base de Hunig (658 µl, 3,77 mmol) disuelta en CH₂Cl₂ (5857 µl), se le añadió 4-clorotolueno (73,4 mg, 0,580 mmol). La CL/EM de esta mezcla se tomó como estándar. Se expandió resina de 1-cloro-2-(cloro(fenil)(*p*-tolil)metil)benceno (1160 mg, 1,855 mmol) con CH₂Cl₂ (1,17E+04 µl), después se añadió una solución de ácido y DIEA. Se agitó la resina (se controló tomando una alícuota y sometiénola a CL/EM para compararla con la corrida de CL/EM estándar) durante 45 min. Se añadieron 25 ml de 9:1 de MeOH/DIEA al recipiente de reacción e inmediatamente se filtró la resina. La resina se enjuagó 3 veces con DCM (con agitación durante ~20 s entre lavados). La resina después se agitó con ~20 ml de DMF durante 5 min, después se filtró. Esto se repitió 2 veces más con DMF, después 3 veces con DCM. La resina se secó en el embudo fritado mientras se hacía pasar N₂ a través de la resina.

Peso final: 1,5065 g, Carga Teo.: 260 mg / 0,1 mmol, Carga calculada: 371 mg / 0,1 mmol (en función del 70 % de rendimiento).

Preparación del Ejemplo 14123



Ejemplo 14123

5

El Ejemplo 14123 se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr(4-F)-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-Trp'-mNle-mNle-Leu-Cys-Gly-(ácido (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-5-(terc-butoxi)-5-oxopentanoico)-[Resina modificada 14A]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo: agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-100 % de B durante 15 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

10

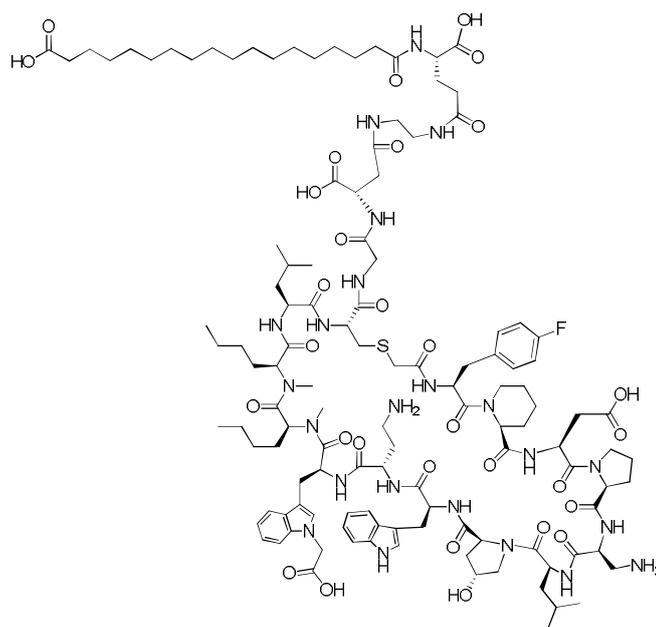
15

20

El rendimiento del producto fue de 1,4 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 96 %. Condición C de análisis: Tiempo de retención = 2,02 min; IEN-EM(+) m/z 838,7 (M + 3) IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1257,1564 (M+2H) Encontrado: 1257,1641 (M+2H).

25

Preparación del Ejemplo 14124

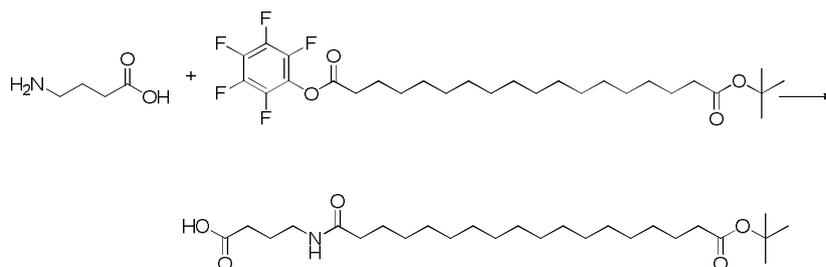


Ejemplo 14124

El Ejemplo 14123 se sintetizó a una escala de 0,2 mmol de acuerdo con los procedimientos generales anteriores, incluso el procedimiento A de acoplamiento de ácido cloroacético. Las etapas subrayadas emplearon el procedimiento de acoplamiento doble, y los residuos en cursiva se acoplaron con un acoplamiento simple de 30 min. ClAc-Tyr(4-F)-Pip-Asp-Pro-Dap-Leu-Hyp-Trp-Dab-Trp'-mNle-mNle-Leu-Cys-Gly -(ácido (S)-3-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-(terc-butoxi)-4-oxobutanoico)-[Resina modificada 14A]. Después de la desprotección de acuerdo con el procedimiento B de desprotección global y la ciclación de acuerdo con el Método B de ciclación, el compuesto se purificó de la siguiente manera: El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 10-100 % de B durante 15 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: Waters CSH C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 µm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 20-60 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

El rendimiento del producto fue de 7,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 93 %.
Condición E de análisis: Tiempo de retención = 1,90 min; IEN-EM(+) m/z 1250,9 (M + 2) IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1250,1486 (M+2H) Encontrado: 1250,1547 (M+2H)

Preparación de ácido 4-(18-(terc-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico

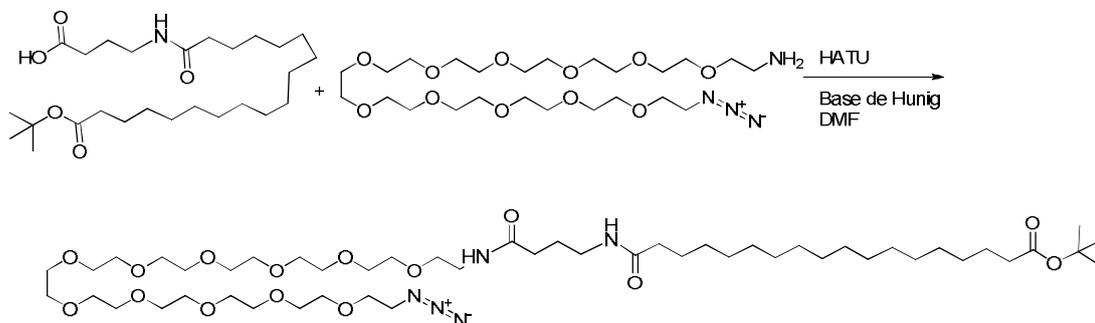


La mezcla de ácido 4-aminobutanoico (250 mg, 2,424 mmol), 18-(perfluorofenil) octadecandioato de 1-terc-butilo (1301 mg, 2,424 mmol) y base de Hunig (550 µl, 3,15 mmol) en DMF (8081 µl) se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera,

se secaron en Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío. El producto en bruto ácido 4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico se usó en el estado en el cual se encontraba.

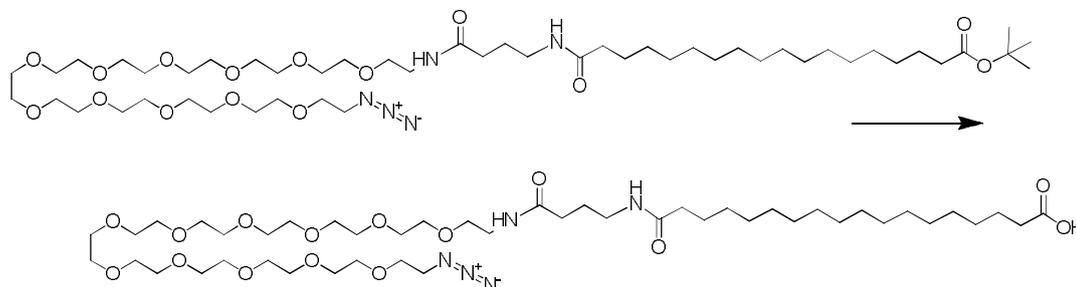
Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,02 min; IEN-EM(+) m/z 456,2 (M + 1)

- 5 *Preparación de 1-azido-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oato de *tert*-butilo*



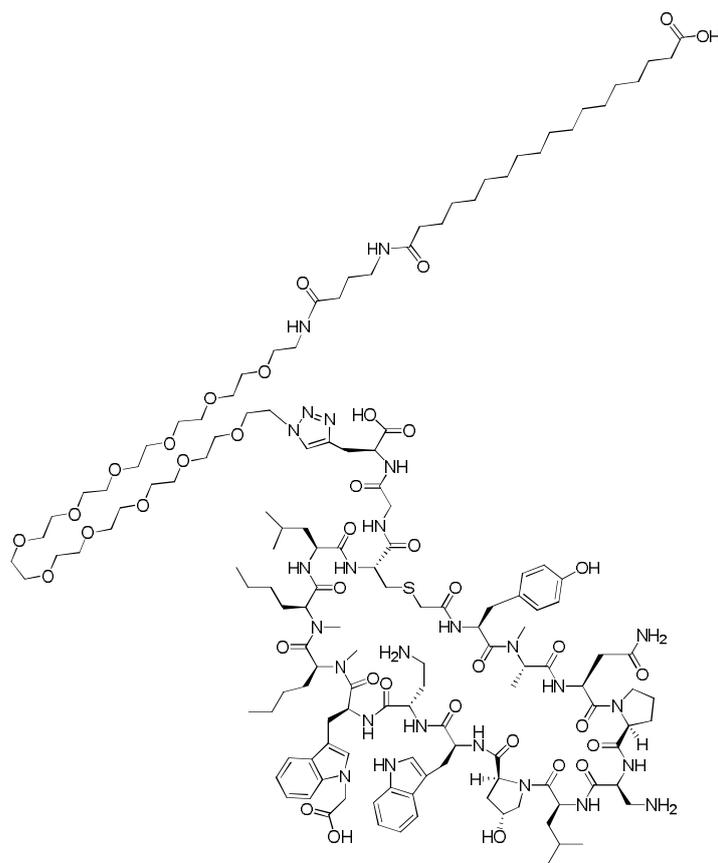
- 10 A una solución de ácido 4-(18-(*tert*-butoxi)-18-oxooctadecanamido)butanoico (0,552 g, 1,212 mmol) en DMF (12,12 ml), se le añadieron base de Hunig (0,635 ml, 3,64 mmol) y HATU (0,922 g, 2,424 mmol). Después se añadió 35-azido-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxapentatriacontan-1-amina (0,692 g, 1,212 mmol), y la solución se agitó a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío. El producto en bruto 1-azido-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oato de *tert*-butilo se usó en el estado en el cual se encontraba.
- 15 Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,96 min; IEN-EM(+) m/z 1008,8 (M + 1).

- 20 *Preparación de ácido 1-azido-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico*



- 25 La mezcla de 1-azido-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oato de *tert*-butilo (1,222 g, 1,212 mmol) y TFA (3,0 ml, 38,9 mmol) en DCM (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en un recipiente y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron y se evaporaron al vacío. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H_2O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H_2O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 55 - 100 % de B, 10 min, detención a 13 min) para obtener ácido 1-azido-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (696 mg, 0,731 mmol, 60,3 % de rendimiento), 3 etapas.
- 30 Condición C de análisis: Tiempo de retención = 1,24 min; IEN-EM(+) m/z 952,6 (M + 1)
- 35 RMN ^1H (500 MHz, CLOROFORMO- d) δ 6,90 (t, $J=5,0$ Hz, 1H), 6,69 - 6,58 (m, 1H), 3,74 - 3,52 (m, 44H), 3,44 (q, $J=5,2$ Hz, 2H), 3,39 (t, $J=5,1$ Hz, 2H), 3,29 (q, $J=6,0$ Hz, 2H), 2,30 (dt, $J=17,9, 7,2$ Hz, 4H), 2,23 - 2,09 (m, 2H), 1,84 (quin, $J=6,6$ Hz, 2H), 1,61 (sxt, $J=7,7$ Hz, 4H), 1,39 - 1,17 (m, 24H).

Preparación del Ejemplo 14125



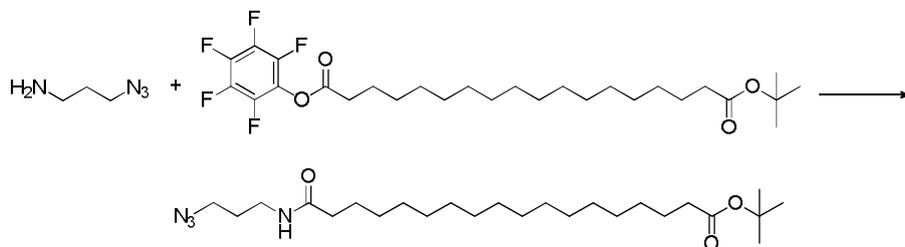
Ejemplo 14125

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (151 mg, 76 μ mol) y ácido 1-azido-37,42-dioxo-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undeca-oxa-36,41-diazanonapentacontan-59-oico (72,5 mg, 76 μ mol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μ m; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 32-54 % de B durante 14 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El rendimiento del producto fue de 45,8 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 95 %.

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,47 min; IEN-EM(+) m/z 979,5 (M + 3H) Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,01 min; IEN-EM(+) m/z 979,4 (M + 3H) IEN-HRMS(+) m/z : Calculado: 1467,8131 (M+2H) Encontrado: 1467,8079 (M+2H).

15

Preparación de 18-((3-azidopropil)amino)-18-oxooctadecanoato de terc-butilo

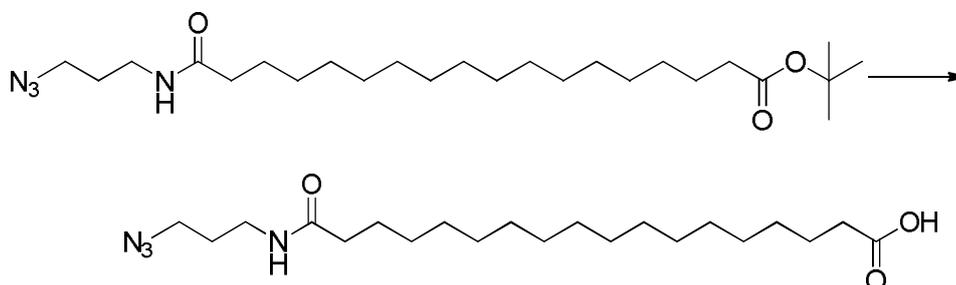


La mezcla de 3-azidopropan-1-amina (250 mg, 2,497 mmol), 18-(perfluorofenil) octadecanoato de 1-*terc*-butilo (1340 mg, 2,497 mmol) y base de Hunig (567 μ l, 3,25 mmol) en DMF (8323 μ l) se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Después de 24 h, la reacción se tornó homogénea. La mezcla de reacción se vertió en una solución saturada de ácido cítrico y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 y se evaporaron al vacío. El producto en bruto 18-((3-azidopropil)amino)-18-oxooctadecanoato de *terc*-butilo se usó en el estado en el cual se encontraba.

25

Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,76 min; IEN-EM(+) m/z 475,1 (M + Na).

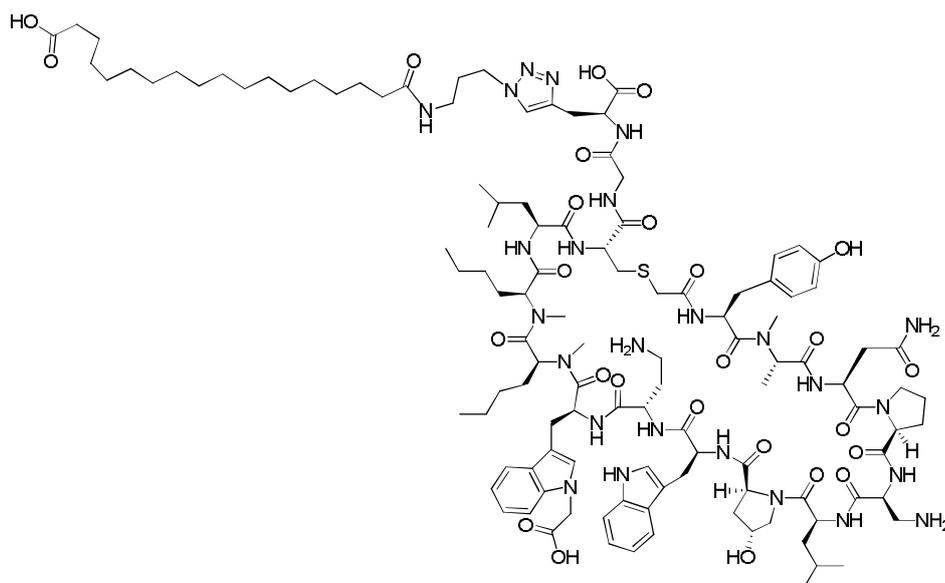
Preparación de ácido 18-((3-azidopropil)amino)-18-oxooctadecanoico



5

La mezcla de 18-((3-azidopropil)amino)-18-oxooctadecanoato de *terc*-butilo (750 mg, 1,657 mmol) y TFA (3,0 ml, 38,9 mmol) en DCM (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El producto en bruto resultante se purificó mediante HPLC preparativa (disolvente A = 10 % de MeOH - 90 % de H₂O - 0,1 % de TFA, disolvente B = 90 % de MeOH - 10 % de H₂O - 0,1 % de TFA. Columna: PHENOMENEX LUNA 30 x 100 mm, S10, caudal: 40 ml / min, 50 - 100 % de B, 10 min, detención a 13 min) para obtener ácido 18-((3-azidopropil)amino)-18-oxooctadecanoico (138 mg, 0,348 mmol, 21,00 % de rendimiento), 2 etapas. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,67 min; IEN-EM(+) *m/z* 419,1 (M + Na) RMN ¹H (500 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ 7,28 (s, 1H), 3,47 - 3,28 (m, 4H), 2,40 - 2,27 (m, 2H), 2,24 - 2,14 (m, 2H), 1,87 - 1,76 (m, 2H), 1,65 (dq, *J*=14,9, 7,7 Hz, 4H), 1,40 - 1,18 (m, 24H).

15 Preparación del Ejemplo 14126



Ejemplo 14126

Se hicieron reaccionar el Intermediario 1300V (170 mg, 86 μmol) y ácido 18-((3-azidopropil)amino)-18-oxooctadecanoico (34 mg, 86 μmol) como en el procedimiento general de formación de triazol para obtener el producto en bruto. El material en bruto se purificó mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 10 mM de acetato de amonio; gradiente: 28-56 % de B durante 22 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga. El material se volvió a purificar mediante CL/EM preparativa en las siguientes condiciones: Columna: XBridge C18, 19 x 200 mm, partículas de 5 μm; fase móvil A: 5:95 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; fase móvil B: 95:5 de acetonitrilo:agua con 0,1 % de ácido trifluoroacético; gradiente: 25-65 % de B durante 30 minutos, después un mantenimiento de 5 minutos a 100 % de B; flujo: 20 ml/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se secaron mediante evaporación centrífuga.

30

El rendimiento del producto fue de 20,3 mg, y la pureza calculada mediante el análisis de CLEM fue de 97 %. Condición D de análisis: Tiempo de retención = 2,41 min; IEN-EM(+) *m/z* 1190,7 (M + 2H) Condición E de análisis: Tiempo de retención = 2,02 min; IEN-EM(+) *m/z* 1190,4(M + 2H) IEN-HRMS(+) *m/z*: Calculado: 1190,1503 (M+2H) Encontrado: 1190,1474 (M+2H).

MÉTODOS PARA EVALUAR LA CAPACIDAD DE PÉPTIDOS MACROCÍCLICOS PARA COMPETIR POR LA FIJACIÓN DE PD-1 A PD-L1 MEDIANTE ENSAYOS DE FIJACIÓN DE FLUORESCENCIA HOMOGÉNEA DE RESOLUCIÓN TEMPORAL (HTRF)

5 La capacidad de los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación para fijarse a PD-L1 se investigó mediante un ensayo de fijación de fluorescencia homogénea de resolución temporal (HTRF) PD-1/PD-L1.

Métodos

10 Ensayos de fluorescencia homogénea de resolución temporal (HTRF) de fijación de PD-1 soluble a PD-L1 soluble. PD-1 soluble y PD-L1 soluble se refieren a proteínas con truncamientos de extremo de carboxilo que eliminan las regiones que abarcan transmembrana y se fusionan con secuencias heterólogas, específicamente la porción Fc de la secuencia de inmunoglobulina humana G (Ig) o la etiqueta del epítipo de hexahistidina (His). Todos los estudios de fijación se realizaron en un amortiguador de ensayo HTRF que consistía en dPBS enriquecido con 0,1 % (p/v) de albúmina de suero bovino y 0,05 % (v/v) de Tween-20. Para el ensayo de fijación de PD-1-Ig/PD-L1-His, los inhibidores se incubaron previamente con PD-L1-His (10 nM final) durante 15 m en 4 µl de amortiguador de ensayo, y después se añadió PD-1-Ig (20 nM final) en 1 µl de amortiguador de ensayo, y se continuó la incubación durante 15 m. Se usaron proteínas de fusión PD-L1 de ser humano, *Macaca fascicularis*, ratón u otras especies. La detección mediante HTRF se logró usando anticuerpo monoclonal anti-Ig etiquetado con criptato de europio (1 nM final) y anticuerpo monoclonal anti-His etiquetado con alofocianina (APC) (20 nM final). Los anticuerpos se diluyeron en amortiguador de detección de HTRF, y se colocaron 5 µl encima de la reacción de fijación. La reacción se equilibró durante 30 minutos, y se obtuvo la señal (relación 665nm/620nm) usando un fluorómetro EnVision. Se establecieron ensayos de fijación adicionales entre PD-1-Ig/PD-L2-His (20 y 5 nM, respectivamente), CD80-His/PD-L1-Ig (100 y 10 nM, respectivamente) y CD80-His/CTLA4-Ig (10 y 5 nM, respectivamente). Se realizaron estudios de competencia entre el Compuesto biotinilado n.º 71 y PD-L1-His humana de la siguiente manera. Se incubaron previamente inhibidores del péptido macrocíclico con PD-L1-His (10 nM final) durante 60 minutos en 4 µl de amortiguador de ensayo, y después se añadió el compuesto biotinilado n.º 71 (0,5 nM final) en 1 µl de amortiguador de ensayo. Se dejó que la fijación se equilibrara durante 30 minutos, y después se añadió estreptavidina etiquetada con criptato de europio (2,5 pM final) y anti-His etiquetado con APC (20 nM final) en 5 µl de amortiguador de HTRF. Se dejó que la reacción se equilibrara durante 30 m, y se obtuvo la señal (relación 665 nm/620 nm) usando un fluorómetro EnVision.

35 Proteínas recombinantes. PD-1 humano truncado con carboxilo (aminoácidos 25-167) con una etiqueta del epítipo de Ig humana del terminal C [hPD-1 (25-167)-3S-Ig] y PD-L1 humana (aminoácidos 18-239) con una etiqueta del epítipo His del terminal C [hPD-L1(19-239)-sitio de escisión del Virus del moteado de las nerviaciones del tabaco (TVMV)-His] se expresaron en células HEK293T y se purificaron secuencialmente mediante cromatografía de afinidad de proteína A recombinante y cromatografía de exclusión por tamaño. Se obtuvieron PD-L2-His (Sino Biologicals), CD80-His (Sino Biologicals), CTLA4-Ig (RnD Systems) de ser humano a través de fuentes comerciales.

40 Secuencia de PD-1-Ig humana recombinante

hPD1(25-167)-3S-Ig

1	LDSPDRPWNP	PTFSPALLVV	TEGDNATFTC	SFSNTSESFV	LNWYRMSPSN
51	QTDKLAAPPE	DRSQPGQDCR	FRVTQLPNGR	DFHMSVVRAR	RNDSGTYLCG
101	AISLAPKAQI	KESLRAELRV	TERRAEVPTA	HPSPSPRPAG	QFQGGSPGGGG
151	GREPKSSDKT	HTSPSPAPE	LLGGSSVFLF	PPKPKDTLMI	SRTPEVTCVV
201	VDVSHEDPEV	KFNWYVDGVE	VHNAKTKPRE	EQYNSTYRVV	SVLTVLHQDW
251	LNGKEYKCKV	SNKALPAPIE	KTISKAKGQP	REPQVYTLPP	SRDELTKNQV
301	SLTCLVKGFY	PSDIAVEWES	NGQPENNYKT	TPPVLDSDGS	FFLYSKLTVD
351	KSRWQQGNVF	SCSVMHEALH	NHYTQKLSLSL	SPGK	

(SEQ ID NO:1)

45 Secuencia de PD-L1-TVMV-His humana recombinante (PD-L1-His)

hPDL1(19-239)-TVMV-His

1	FTVTVPKDLY	VVEYGSNMTI	ECKFPVEKQL	DLAALIVYWE	MEDKNIIQFV
51	HGEEDLKVQH	SSYRQRARLL	KDQLSLGNAA	LQITDVKLQD	AGVYRCMISY
101	GGADYKRITV	KVNAPYNKIN	QRILVVDPVT	SEHELTCQAE	GYPKAEVIWT
151	SSDHQVLSGK	TTTTNSKREE	KLFNVTSTLR	INTTTNEIFY	CTFRRLDPEE
201	NHTAELVIPE	LPLAHPNER	TGSSETVRFQ	GHHHHHH	

50 (SEQ ID NO:2)

Los resultados se muestran en la Tabla 1. Como puede apreciarse, los péptidos macrocíclicos de la presente divulgación demostraron una inhibición potente de la actividad de fijación de PD-1-Ig a PD-L1-TVMV-His (PD-L1-His). Los rangos son los siguientes: A = 0,10-1,6 μM ; B = 0,01-0,099 μM ; C = 0,0003 - 0,0099 μM .

5

Tabla 1

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI_{50} (μM)</i>
INT 1300B	C
14089	C
14090	C
3214	C
3619	C
3620	0,0090
3621	B
3622	B
3623	C
3624	C
3625	0,0063
3626	C
INT 1300C	C
INT 1400K	C
INT 1400L	B
11012	B
11032	0,2007
11033	B
11035	B
11036	C
11040	C
11041	C
11042	0,0049
11044	B
11045	B
11046	B
11047	B
11060	A
11061	A
11062	0,4558
11064	C
11066	C
11067	B
11073	B
11074	C
11075	0,0071
11076	B
11080	0,0127
11081	B
11082	B
11083	B

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI₅₀ (µM)</i>
11085	B
11086	0,0190
11087	B
11088	A
11089	B
11090	B
11102	0,0130
11115	A
11119	A
11129	B
11130	B
11131	B
11132	B
11133	1,5710
11013	B
11015	B
11028	B
11029	A
11034	C
11038	C
11063	0,0092
11065	B
11068	C
11072	C
11077	C
11084	B
11112	A
11124	A
11125	B
11128	B
11017	0,2593
11018	B
11071	C
11078	C
11101	0,0041
11104	A
11107	A
11109	A
11069	B
11070	C
11079	B
11091	C
11092	0,0135
11093	B
11094	0,0188
11095	C
11096	B

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI₅₀ (µM)</i>
11097	B
11098	B
11099	C
11100	B
11110	0,3140
11111	A
11108	A
11120	A
INT 1300V	B
INT 1300W	B
INT 1300X	B
INT 1300Y	C
11001	0,9522
11019	A
INT 1300A	C
INT 1400A	C
INT 1400B	C
INT 1400C	C
INT 1400D	C
INT 1400E	C
INT 1400F	C
INT 1400G	C
INT 1400H	C
INT 1400I	B
INT 1400J	0,0088
11002	B
11007	B
11008	A
11020	A
11031	B
11134	B
11005	B
11006	B
11009	0,0914
11010	B
11011	B
11016	B
11014	A
11030	A
11103	B
11116	B
11123	B
11126	B
11003	0,0546
11004	B
11021	A
11022	A

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI₅₀ (µM)</i>
11023	A
11024	A
11025	A
11026	A
11027	A
11114	A
11135	B
11136	B
11137	B
11138	B
11139	B
11140	B
11141	B
11142	B
11143	C
11144	B
11145	C
11146	B
11147	V
11148	V
11149	V
11150	B
11151	B
11152	A
11153	B
11154	C
11155	C
11156	C
11157	B
11158	B
11159	B
11160	A
11161	A
11162	A
11163	C
11164	C
11165	C
11166	A
11167	C
11168	C
11169	0,0039
11170	C
11171	C
11172	B
11173	A
11174	B
11175	B

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI₅₀ (µM)</i>
11176	B
11177	A
11178	C
11179	0,003
11180	B
11181	A
11182	A
11183	A
11184	B
11185	B
11186	---
11187	B
11188	0,28
11189	A
11190	B
11191	B
11192	B
11193	B
11194	B
11195	B
11196	B
11197	B
11198	B
11199	B
11200	B
11201	B
11202	B
11203	B
11204	B
11205	0,01
11206	B
11207	B
11208	B
11209	B
11210	B
11211	C
11212	B
11213	B
11214	B
11215	B
11216	B
11217	B
11218	B
11219	B
11220	B
11221	B
11222	B

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI₅₀ (µM)</i>
11223	B
11224	C
11225	C
11226	C
11227	C
11228	B
11229	B
11230	A
11231	B
11232	B
11233	C
11234	C
11235	B
11236	C
11237	B
11238	C
11239	B
11240	0,01
11241	B
11242	B
11243	A
11244	A
11245	B
11246	B
11247	B
11248	0,22
11249	C
11250	C
11251	B
11252	B
11253	C
11254	C
11255	C
11256	B
14051	A
14052	B
14053	A
14054	A
14055	0,3880
14056	A
14057	A
14058	A
14060	A
14085	B
14086	B
14087	A
14088	0,7989

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI_{50} (μM)</i>
14082	B
INT130AA	B
INT130AB	B
INT130AF	C
INT130AG	C
INT130AI	C
INT130AD	B
INT130AE	B
INT130AH	C
INT130AJ	C
INT130AK	C
INT130AL	C
13051	B
13052	B
13122	A
13123	0,150
13124	B
13125	B
13126	B
13127	B
13128	0,013
13129	B
13130	C
13131	B
13132	0,0033
13133	C
14059	B
14061	B
14062	B
14063	B
14064	C
14065	B
14066	C
14067	0,0104
14068	B
14069	B
14070	B
14071	B
14072	0,0085
14073	B
14074	B
14075	B
14076	C
14077	0,0209
14078	B
14079	B
14080	B

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI₅₀ (µM)</i>
14081	A
14083	B
14084	0,6270
14092	C
14093	C
14094	B
14095	0,014
14096	0,790
14068	B
14097	0,0072
14098	C
14099	C
14100	C
14101	0,0062
14069	B
14070	B
14071	B
14072	0,0085
14073	B
14074	B
14075	B
14076	C
14077	B
14078	0,0108
14079	B
14080	B
14081	A
14083	B
14084	0,6270
14092	C
14102/14103	0,014
14104	A
14105	A
14106	A
14107	A
14121	B
14122	B
13141	A
13142	A
13143	A
14123	C
13144	B
13145	B
14124	B
13146	B
13147	A
13148	B

(continuación)

<i>n.º de Ejemplo</i>	<i>HTRF CI_{50} (μM)</i>
13149	B
13150	0,0209
13151	B
13152	C
13153	C
13154	C
13155	C
13156	C
13157	C
13158	C
13159	C
13160	C
13161	C
13162	0,0038
13163	C
13164	C
14125	C
14126	C
11257	C
11258	B
11259	C
11260	C
11261	C
11262	B
11263	C
11264	C
11265	B
11266	C
11267	B
11268	A
11269	ND
11270	ND
11271	ND

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Bristol-Myers Squibb Company
- <120> INMUNOMODULADORES
- <130> 12406-WO-PCT
- 10 <150> US 62/079944
- <151> 14-11-2014
- <150> US 62/111388
- <151> 03-02-2015
- 15 <150> US 62/204689
- <151> 13-08-2015
- <160> 2

ES 2 819 285 T3

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

5 <211> 384

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<400> 1

10

Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala
1 5 10 15

Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe
20 25 30

Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro
35 40 45

Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln
50 55 60

Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg
65 70 75 80

Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr
85 90 95

Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu
100 105 110

Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro
115 120 125

Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Gly
130 135 140

ES 2 819 285 T3

Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Arg Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
145 150 155 160

His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser
165 170 175

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
180 185 190

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
195 200 205

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
210 215 220

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
225 230 235 240

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
245 250 255

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
260 265 270

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
275 280 285

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
290 295 300

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
305 310 315 320

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
325 330 335

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
340 345 350

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
355 360 365

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375 380

<210> 2
<211> 237
<212> PRT

ES 2 819 285 T3

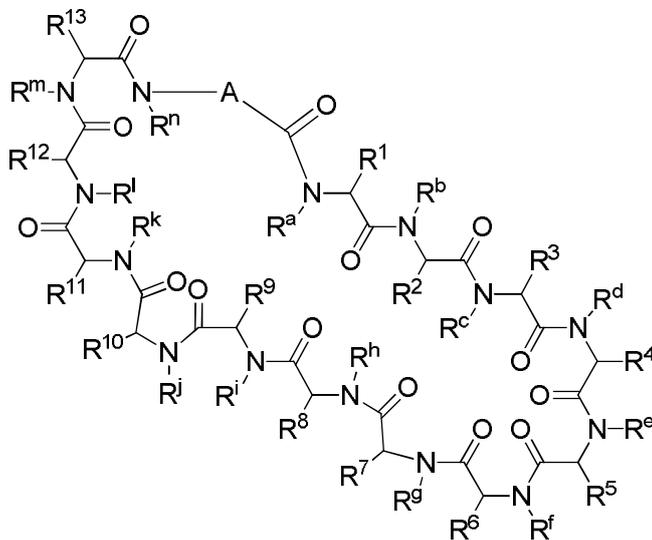
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
 1 5 10 15
 Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu
 20 25 30
 Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln
 35 40 45
 Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg
 50 55 60
 Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys
 85 90 95
 Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val
 100 105 110
 Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro
 115 120 125
 Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
 130 135 140
 Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
 145 150 155 160
 Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr
 165 170 175
 Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr
 180 185 190
 Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
 195 200 205
 Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr Gly Ser Ser
 210 215 220
 Glu Thr Val Arg Phe Gln Gly His His His His His His
 225 230 235

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I)

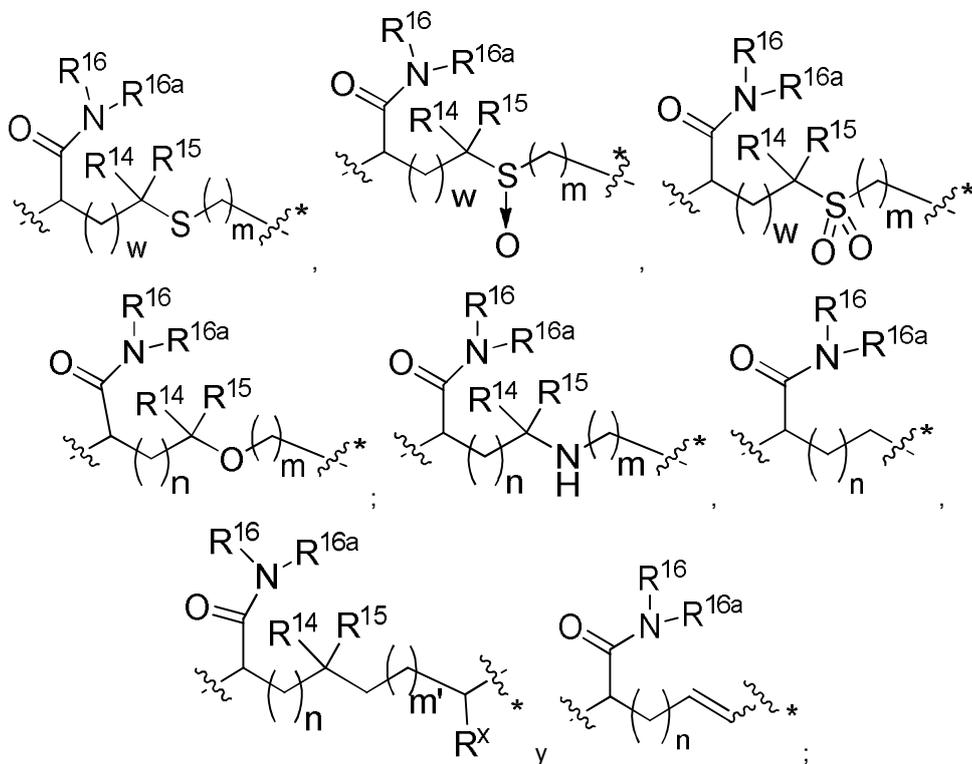


5

(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

10 A se selecciona de



15

en donde:

indica el punto de unión al grupo carbonilo y
 indica el punto de unión al átomo de nitrógeno;
 n es 0 o 1;
 m es 1 o 2;
 m' es 0 o 1;

20

w es 0, 1 o 2;

R^x se selecciona de hidrógeno, amino, hidroxilo y metilo;

R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;

R^{16a} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₆;

5 R¹⁶ se selecciona de

$-(C(R^{17a})_2)_2-X-R^{30}$,

$-C(R^{17a})_2C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})_2-X'-R^{31}$,

$-C(R^{17a})_2[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})_2]_w-X-R^{31}$,

$-(C(R^{17a})(R^{17})C(O)NR^{16a})_n-H$; y

10 $-(C(R^{17a})(R^{17})C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R^{17})-CO_2H$;

en donde:

w' es 2 o 3;

15 n' es 1-6;

m' es 0-5;

X es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de

20 $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, $-CH_2C(O)NH_2$ y $-(CH_2)_zCO_2H$;

X' es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH- incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de

25 $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ y $-CH_2CO_2H$, siempre que X' no sea PEG no sustituido;

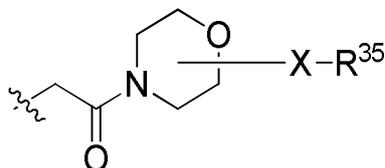
R³⁰ se selecciona de $-CO_2H$, $-C(O)NR^wR^x$ y $-CH_3$, en donde R^w y R^x se seleccionan independientemente de

hidrógeno y alquilo C₁-C₆, siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea $-CH_3$;

R³¹ es $-CO_2H$, $-C(O)NR^wR^x$, $-CH_3$, alexa-5-SDP y biotina;

cada R^{17a} se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, $-CH_2OH$, $-CH_2CO_2H$, $-(CH_2)_2CO_2H$,

30 $-CH_2OH$, $CH_2C=CH$ y $-(CH_2)_z$ -triazolil-X-R³⁵, en donde z es 1-6, y R³⁵ se selecciona de $-CO_2H$, $-C(O)NR^wR^x$, CH_3 , biotina, -2-fluorpiridina, $-C(O)-(CH_2)_2-C(O)O$ -vitamina E, $-C(O)O$ -vitamina E; y



35 siempre que al menos un R¹⁷ no sea hidrógeno, $-CH_3$ o $-CH_2OH$;

R^c, R^f, R^h, Rⁱ, R^m y Rⁿ son hidrógeno;

R^a, R^e, R^l y R^k se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ se seleccionan independientemente de una cadena lateral de aminoácido natural y una cadena lateral de aminoácido no natural o forman un anillo con el grupo R próximo correspondiente, como se describe más adelante;

40 R^e y R^k pueden formar, cada uno, un anillo con el grupo R próximo correspondiente y los átomos a los que están unidos, seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo;

45 R^b es metilo, o R^b y R², junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo;

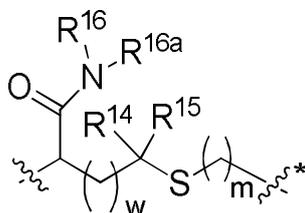
50 R^d es hidrógeno o metilo, o R^d y R⁴, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, hidroxilo y fenilo;

R⁹ es hidrógeno o metilo, o R⁹ y R⁷, junto con los átomos a los que están unidos, pueden formar un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, bencilo, metilo, halo, hidroxilo, isoquinolinilo, opcionalmente sustituido con un grupo metoxi, quinolinilo, opcionalmente sustituido con un grupo halo, y tetrazolilo; y en donde los anillos de pirrolidina y piperidina están opcionalmente fusionados con un grupo ciclohexilo, fenilo o indol; y

55 R^l es metilo, o R^l y R¹², junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina y pirrolidina, en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados

independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A es



5

3. Un compuesto de la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

10 m y w son 1; y
R¹⁴, R¹⁵ y R^{16a} son, cada uno, hidrógeno.

4. Un compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹⁶ es -(C(R^{17a})₂)₂-X-R³⁰.

15 5. Un compuesto de la reivindicación 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

cada R^{17a} es hidrógeno;

20 X es una cadena de 8 a 46 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos C(O)NH incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H; y

R³⁰ se selecciona de -CH₃, -CO₂H y -C(O)NH₂; siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea -CH₃.

25 6. Un compuesto de con la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹⁶ es -C(R^{17a})₂C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂-X'-R³¹.

7. Un compuesto de la reivindicación 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde cada R^{17a} se selecciona de hidrógeno, -CO₂H y -CH₂CO₂H;

30 X' es una cadena de 8 a 48 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos C(O)NH incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H; siempre que X' no sea PEG no sustituido; y

R³⁰ se selecciona de -CH₃, -CO₂H y -C(O)NH₂.

35 8. Un compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹⁶ es -C(R^{17a})₂[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂]_w-X-R³¹.

9. Un compuesto de la reivindicación 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde cada R^{17a} se selecciona de hidrógeno, -CO₂H y -CH₂CO₂H;

40 X es una cadena de 8 a 48 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos C(O)NH incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H; y R³¹ se selecciona de -CH₃, -CO₂H y -C(O)NH₂.

45 10. Un compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R¹⁶ es -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_n-H.

11. Un compuesto de la reivindicación 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde cada R^{17a} es hidrógeno; y

50 cada R¹⁷ se selecciona de hidrógeno, -CH₃, (CH₂)_zN₃, -(CH₂)_zNH₂, -X-R³¹, -(CH₂)_zCO₂H, -CH₂OH, CH₂C≡CH y -(CH₂)_z-triazolil-X-R³⁵; siempre que al menos un R¹⁷ no sea hidrógeno, -CH₃ o -CH₂OH; z es 1-4;

R³¹ se selecciona de -CH₃, -CO₂H y -C(O)NH₂;

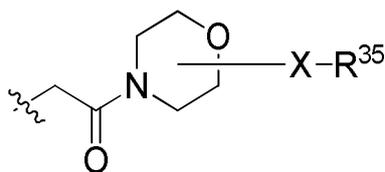
55 X es una cadena de 7 a 155 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos C(O)NH incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H; y

R³⁵ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, CH₃, biotina, -2-fluorpiridina, -C(O)-(CH₂)₂-C(O)O-vitamina E y -C(O)O-vitamina E.

12. Un compuesto de la reivindicación 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^{16} es $-(CR^{17a})(R^{17})C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R^{17})-CO_2H$.

- 5 13. Un compuesto de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde m' es 1-3;
 cada R^{17a} es hidrógeno;
 cada R^{17} se selecciona de hidrógeno, $-CH_3$, $(CH_2)_zN_3$, $-(CH_2)_zNH_2$, $-X-R^{31}$, $-(CH_2)_zCO_2H$, $-CH_2OH$, $CH_2C\equiv CH$, $-(CH_2)_z$ -
 triazolil- $X-R^{35}$ y $C(O)O$ -vitamina E; y

10



siempre que al menos un R^{17} no sea hidrógeno, $-CH_3$ o $-CH_2OH$;
 z es 1-4;

- 15 R^{31} se selecciona de $-CH_3$, $-CO_2H$ y $-C(O)NH_2$;
 X es una cadena de 20 a 60 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos $C(O)NH$ incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$, $-CH_2C(O)NH_2$ y $-CH_2CO_2H$; y
 R^{35} se selecciona de $-CO_2H$, $-C(O)NR^wR^x$, CH_3 , biotina, 2-fluoropiridina, $-C(O)-(CH_2)_2-C(O)O$ -vitamina E y $-C(O)O$ -
 20 vitamina E.

14. Un compuesto de la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es fenilalquilo C_1-C_3 , en donde la parte de fenilo se sustituye opcionalmente con hidroxilo, halo o metoxi; R^2 es alquilo C_1-C_7 o, R^2 y R^3 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de piperidina; R^3 es NR^xR^y (alquilo C_1-C_7), NR^uR^v carbonilalquilo C_1-C_3 o carboxialquilo C_1-C_3 ; R^4 y R^d , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de pirrolidina; R^5 es hidroxialquilo C_1-C_3 , imidazolilalquilo C_1-C_3 o NR^xR^y (alquilo C_1-C_7); R^6 es carboxialquilo C_1-C_3 , NR^uR^v carbonilalquilo C_1-C_3 , NR^xR^y (alquilo C_1-C_7) o alquilo C_1-C_7 ; R^7 y R^9 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de pirrolidina opcionalmente sustituido con hidroxilo; R^8 y R^{10} son benzotienilo o indolilalquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido con carboxialquilo C_1-C_3 ; R^9 es hidroxialquilo C_1-C_3 , aminoalquilo C_1-C_3 o alquilo C_1-C_7 , R^{11} es alcoxi C_1-C_3 alquilo C_1-C_3 o alquilo C_1-C_7 ; R^{12} es alquilo C_1-C_7 o hidroxialquilo C_1-C_3 ; y R^{13} es alquilo C_1-C_7 , carboxialquilo C_1-C_3 o $-(CH_2)_3NHC(NH)NH_2$.

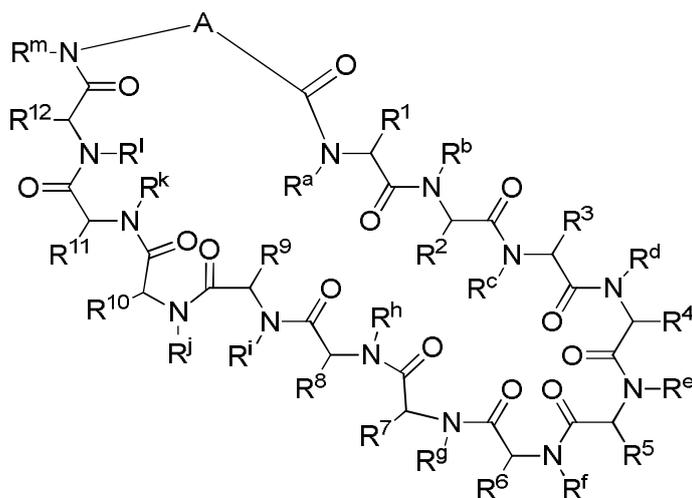
15. Un compuesto de la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

35 R^d es metilo, o R^d y R^4 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, hidroxilo y fenilo;

40 R^9 es metilo, o R^9 y R^7 , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de amino, bencilo opcionalmente sustituido con un grupo halo, benciloxi, ciano, ciclohexilo, metilo, halo, hidroxilo, isoquinoliniloxi opcionalmente sustituido con un grupo metoxi, quinoliniloxi opcionalmente sustituido con un grupo halo, y tetrazolilo; y en donde los anillos de pirrolidina y piperidina están opcionalmente fusionados con un grupo ciclohexilo, fenilo o indol; y

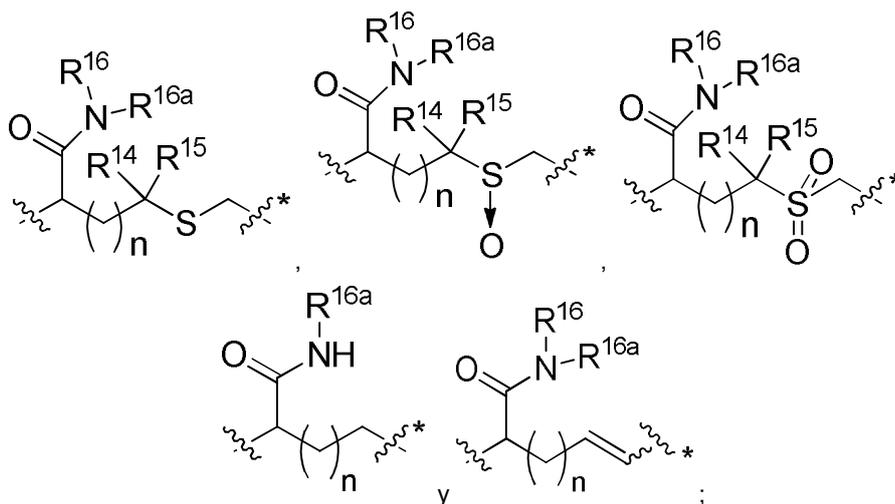
45 R^k es metilo o, R^k y R^{11} , junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo e hidroxilo.

- 50 16. Un compuesto de la fórmula (II)



(II),

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:
A se selecciona de



10 en donde:

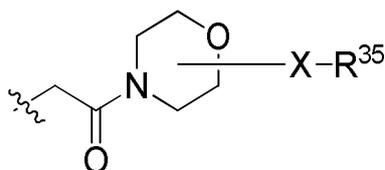
- n es 0 o 1;
- R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno y metilo;
- 15 R^{16a} se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₆;
- R¹⁶ se selecciona de
- C(R^{17a})₂-X-R³⁰,
- C(R^{17a})₂C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂-X'-R³¹,
- C(R^{17a})₂[C(O)N(R^{16a})C(R^{17a})₂]_w-X-R³¹,
- 20 -(C(R^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_n-H; y
- (CR^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H; en donde:

- w' es 2 o 3;
- 25 n' es 1-6;
- m' es 1-5;

X es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H,

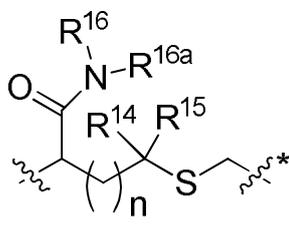
30 X' es una cadena de 1 a 172 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados de -NHC(O)NH- y -C(O)NH incrustado; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno a seis grupos seleccionados independientemente de

-CO₂H,
 -C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H, siempre que X' no sea PEG no sustituido;
 R³⁰ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x y -CH₃, en donde R^w y R^x se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁-C₆, siempre que, cuando X es carbono, R³⁰ no sea -CH₃;
 R³¹ es -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, -CH₃, alexa-5-SDP y biotina;
 cada R^{17a} se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₆, -CH₂OH, -CH₂CO₂H, -(CH₂)₂CO₂H, cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, -CH₃, (CH₂)_zN₃, -(CH₂)_zNH₂, -X-R³¹, -(CH₂)_zCO₂H, -CH₂OH, CH₂C≡CH y -(CH₂)_z-triazolil-X-R³⁵, en donde z es 1-6 y R³⁵ se selecciona de -CO₂H, -C(O)NR^wR^x, CH₃, biotina, -2-fluopiridina, -C(O)-(CH₂)₂-C(O)O-vitamina E, -C(O)O-vitamina E y



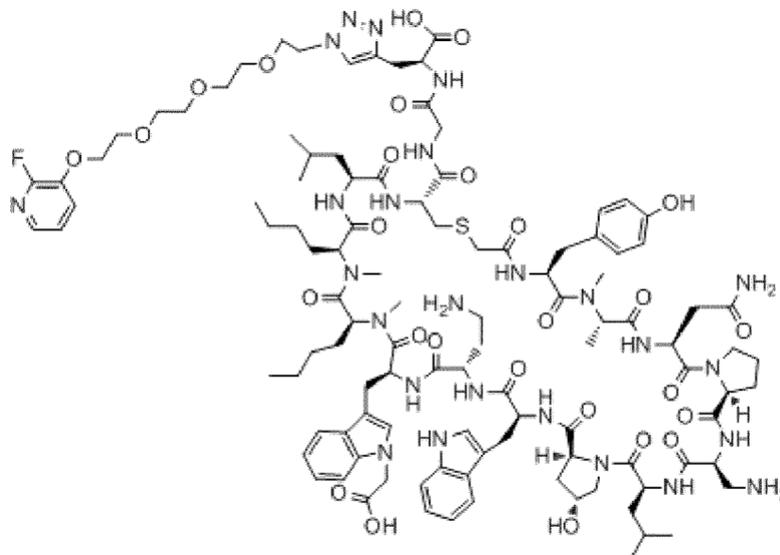
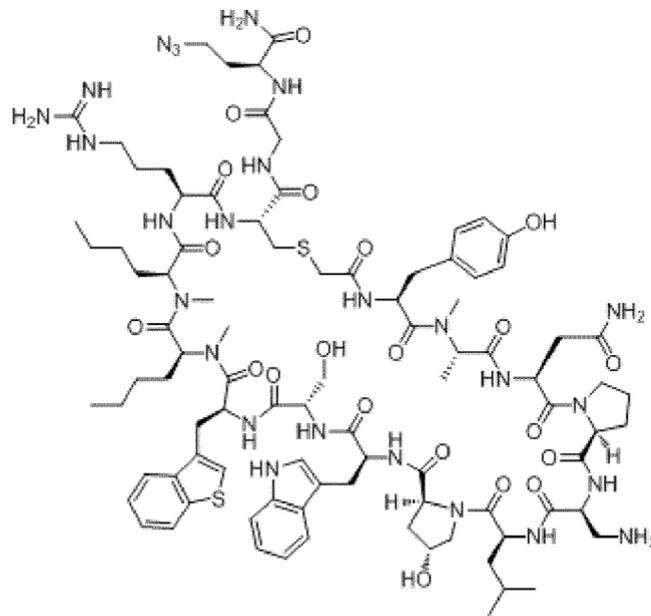
siempre que al menos un R¹⁷ no sea hidrógeno, -CH₃ o -CH₂OH;
 R^a, R^f, Rⁱ, R^k, R^l y R^m son hidrógeno;
 R^b y R^c son metilo;
 R^g se selecciona de hidrógeno y metilo;
 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹ y R¹² se seleccionan independientemente de una cadena lateral de aminoácido natural y una cadena lateral de aminoácido no natural o forman un anillo con el grupo R próximo correspondiente, como se describe más adelante;
 R^d se selecciona de hidrógeno y metilo, o, R^d y R⁴, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil;
 R^e se selecciona de hidrógeno y metilo, o R^e y R⁵, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil;
 R^h se selecciona de hidrógeno y metilo, o R^h y R⁸, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil; y
 Rⁱ se selecciona de hidrógeno y metilo, o Rⁱ y R⁹, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo seleccionado de azetidina, pirrolidina, morfolina, piperidina, piperazina y tetrahidrotiazol; en donde cada anillo se sustituye opcionalmente con uno a cuatro grupos seleccionados independientemente de amino, ciano, metilo, halo, halometilo e hidroxil.

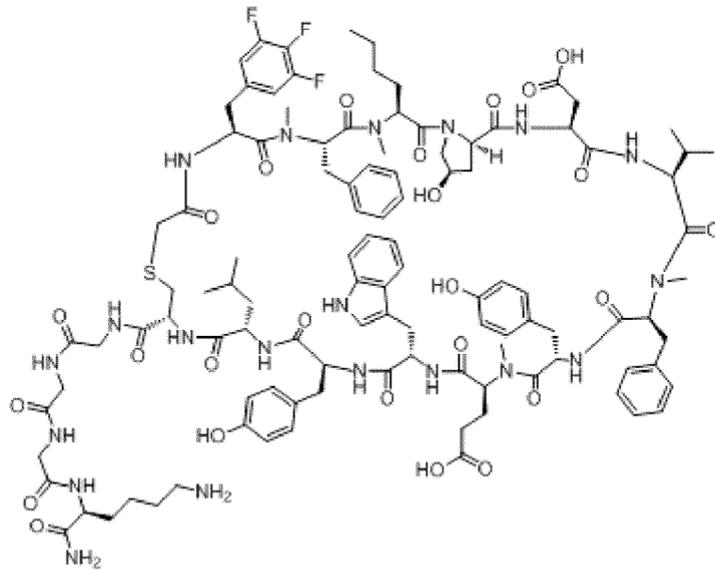
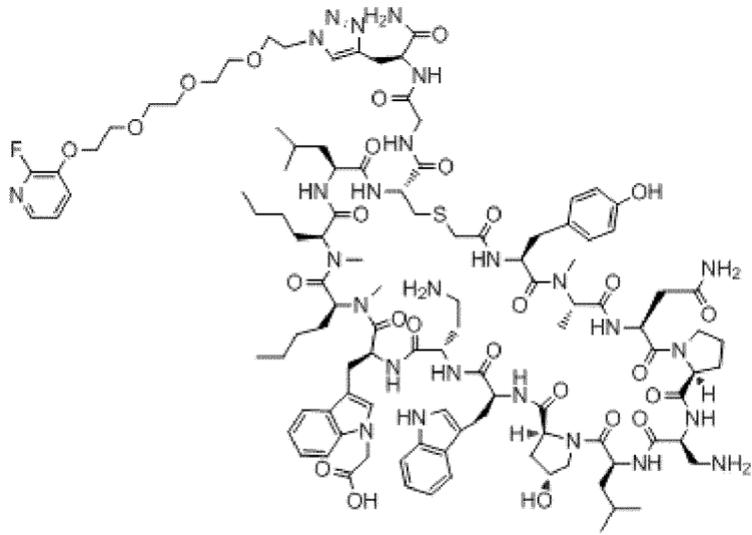
17. Un compuesto de la reivindicación 16, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde A es

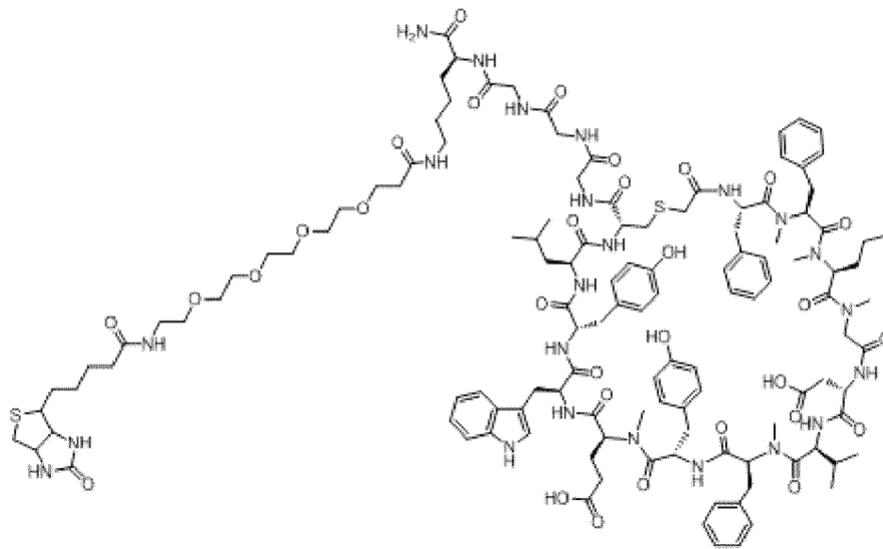
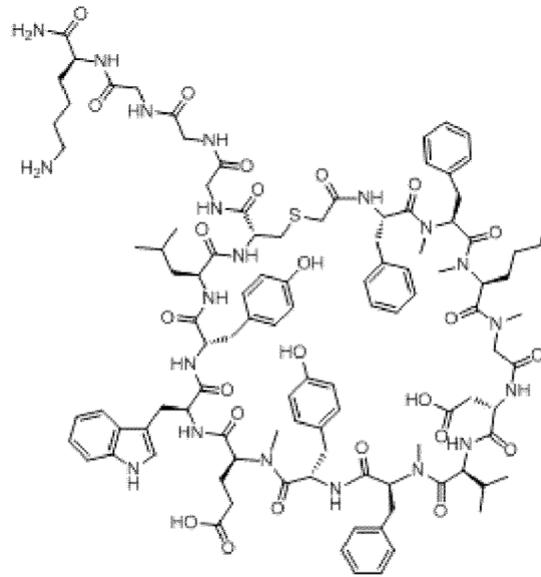


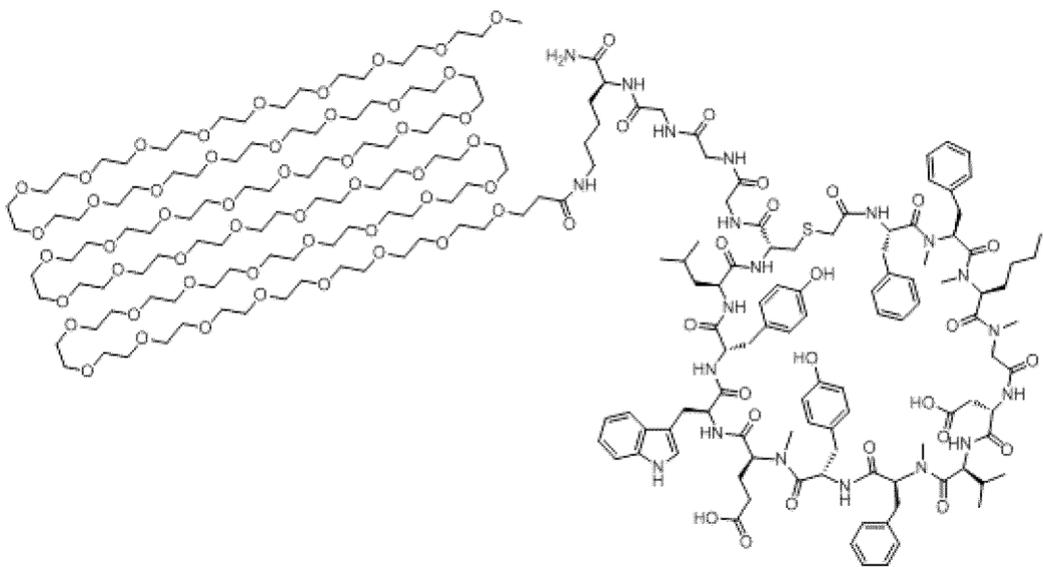
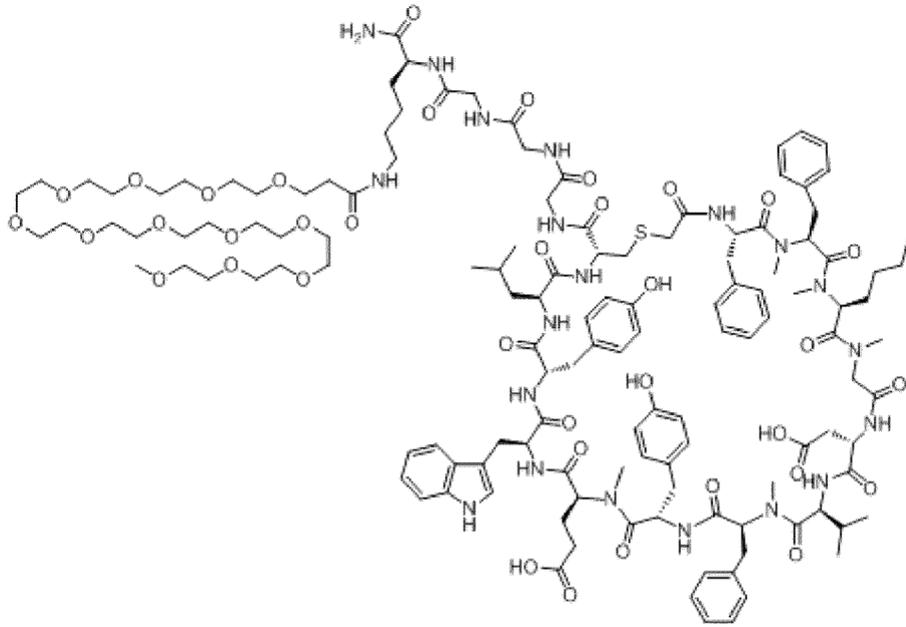
n es 1;
 R¹⁶ es -(CR^{17a})(R¹⁷)C(O)NR^{16a})_m-C(R^{17a})(R¹⁷)-CO₂H;
 cada R^{16a} es hidrógeno;
 m' es 2, 3 o 4;
 cada R^{17a} es hidrógeno;
 cada R¹⁷ se selecciona independientemente de hidrógeno, -(CH₂)_zNH₂, -X-R³¹ y -CH₂C≡CH,
 z es 4;
 X es una cadena de 26 a 155 átomos, en donde los átomos se seleccionan de carbono y oxígeno, y en donde la cadena puede contener uno, dos o tres grupos C(O)NH incrustados; y en donde la cadena se sustituye opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados independientemente de -CO₂H, -C(O)NH₂, -CH₂C(O)NH₂ y -CH₂CO₂H; y
 R³¹ es -CH₃, alexa-5-SDP y biotina.

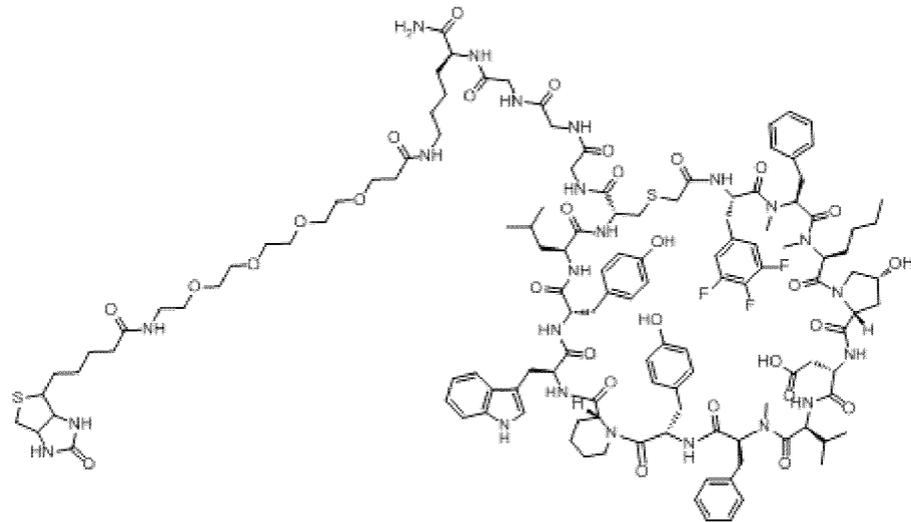
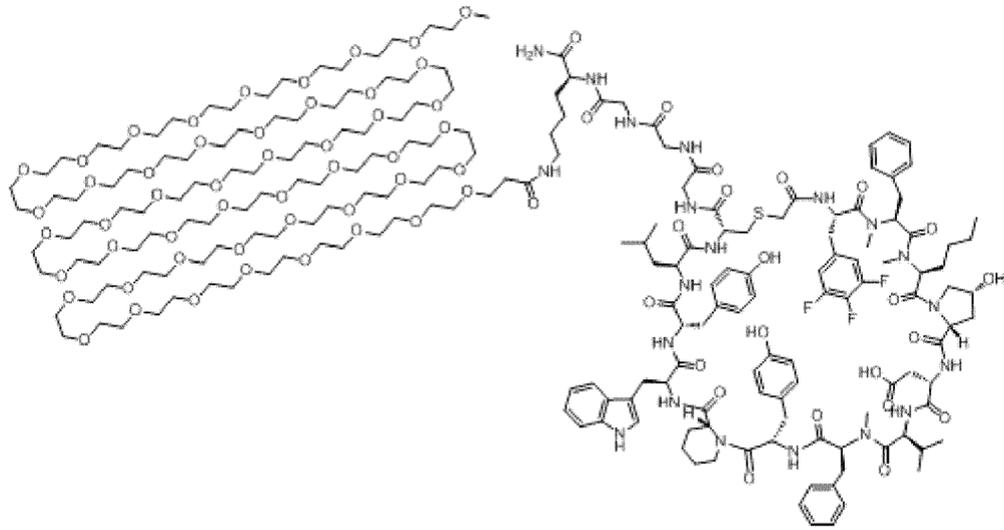
18. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 16 seleccionado de:

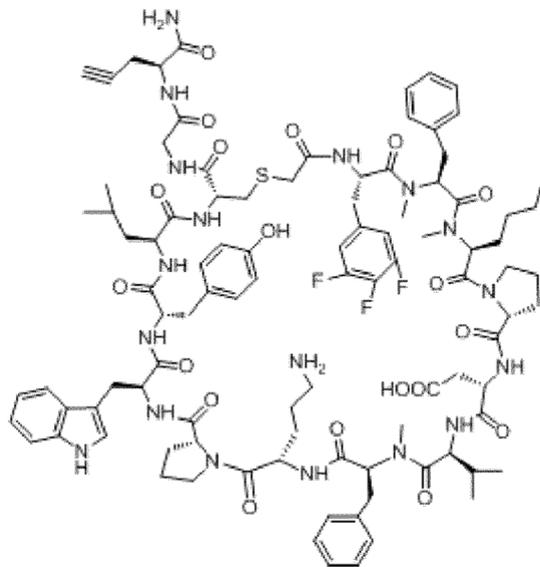
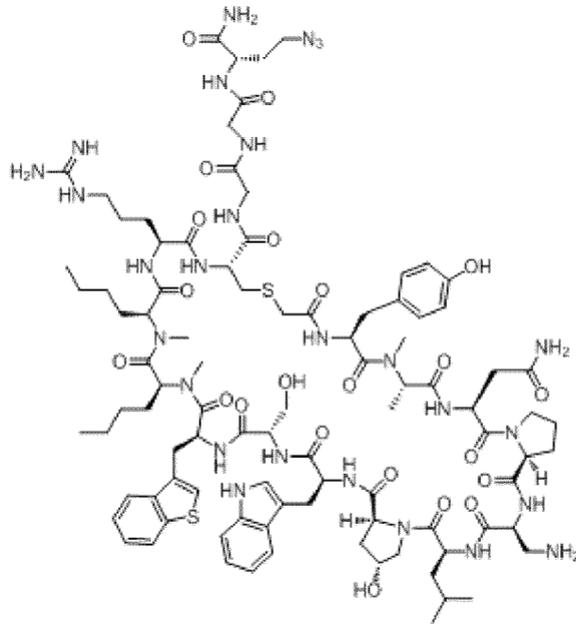


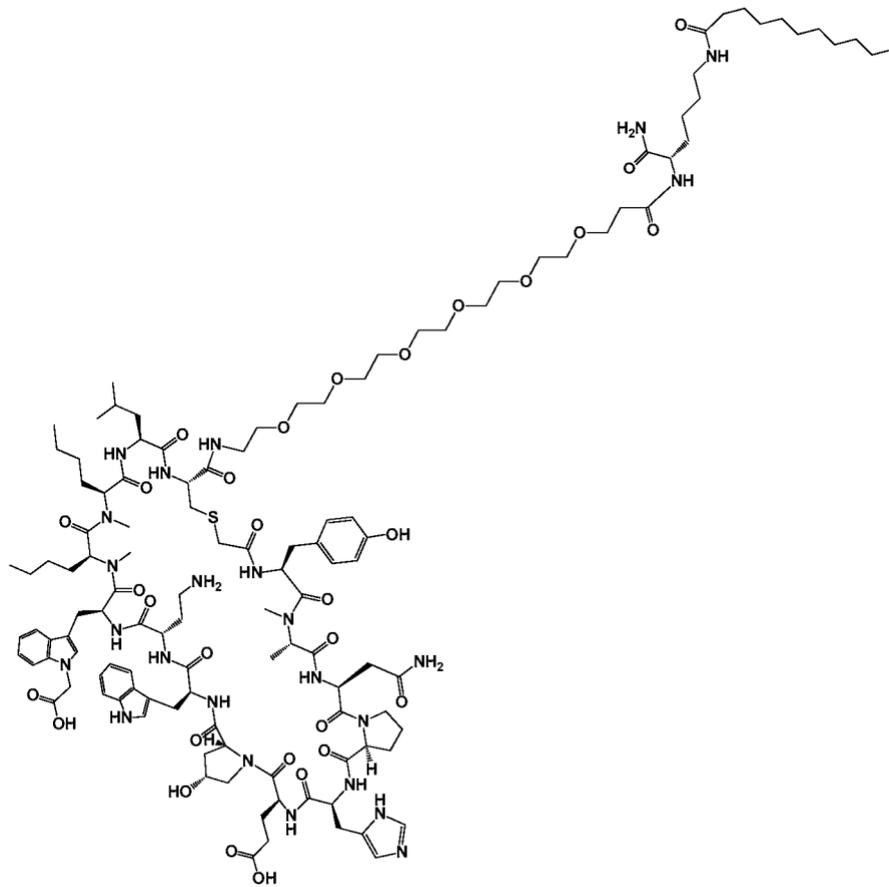
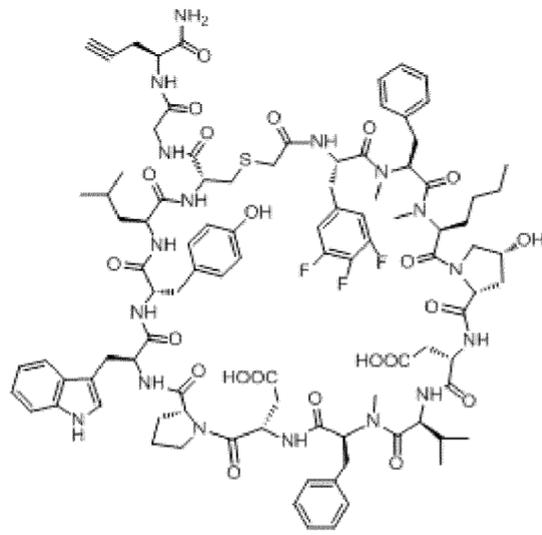


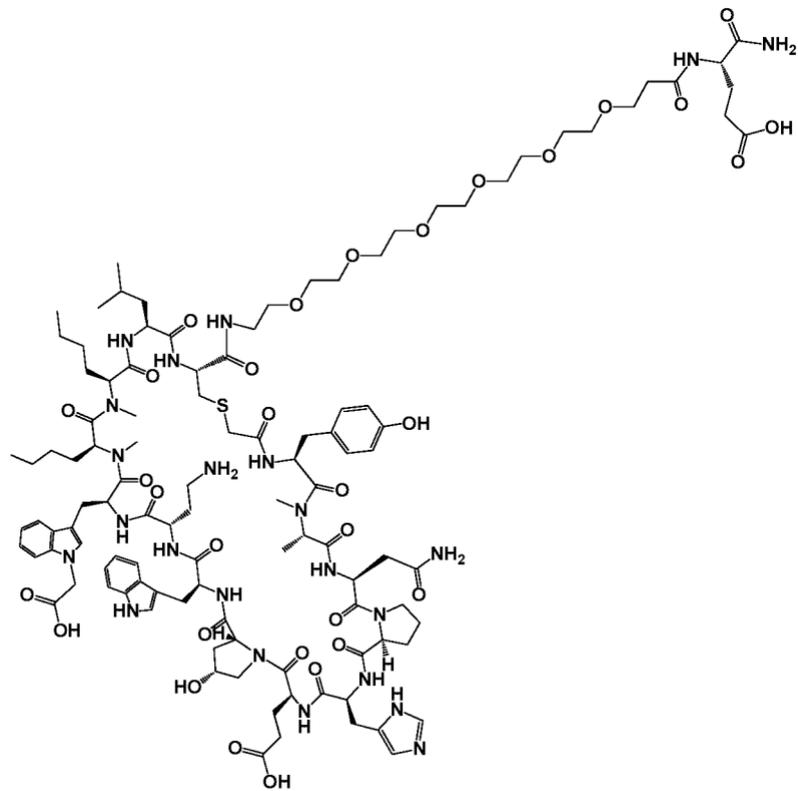
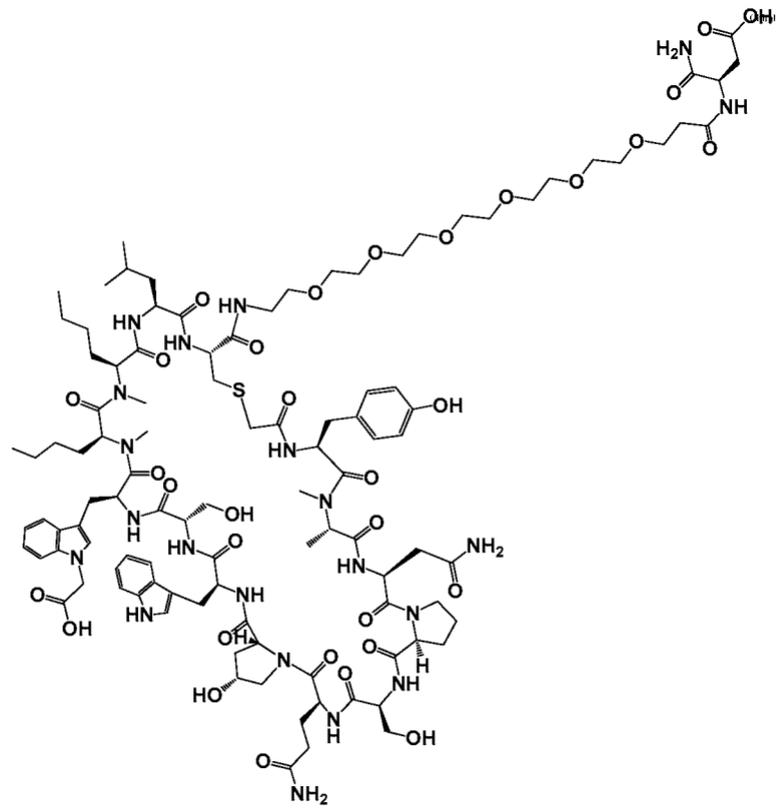


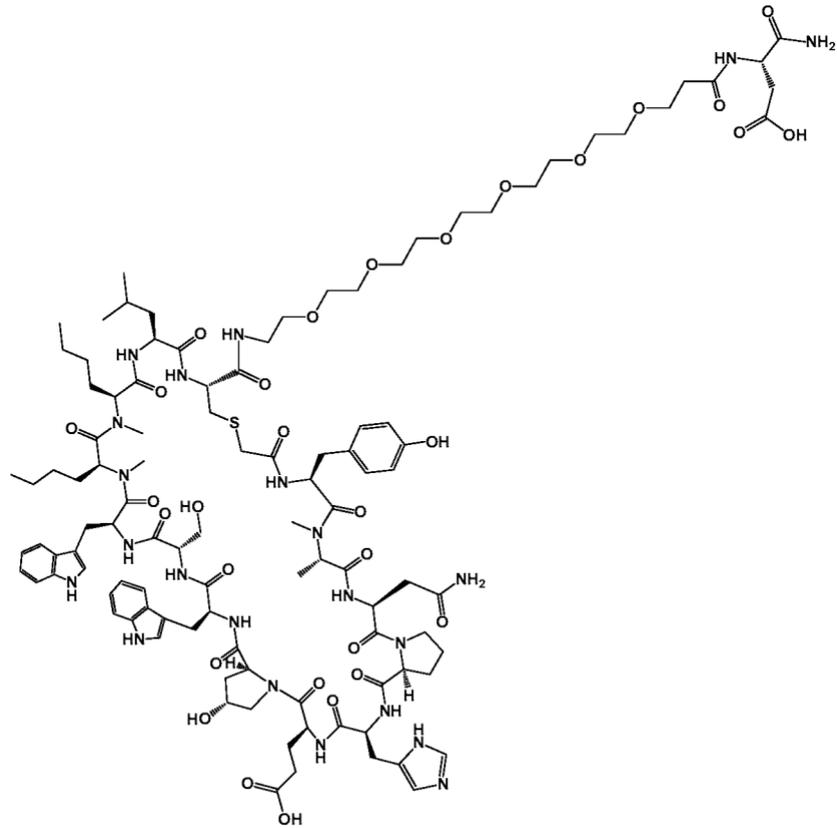


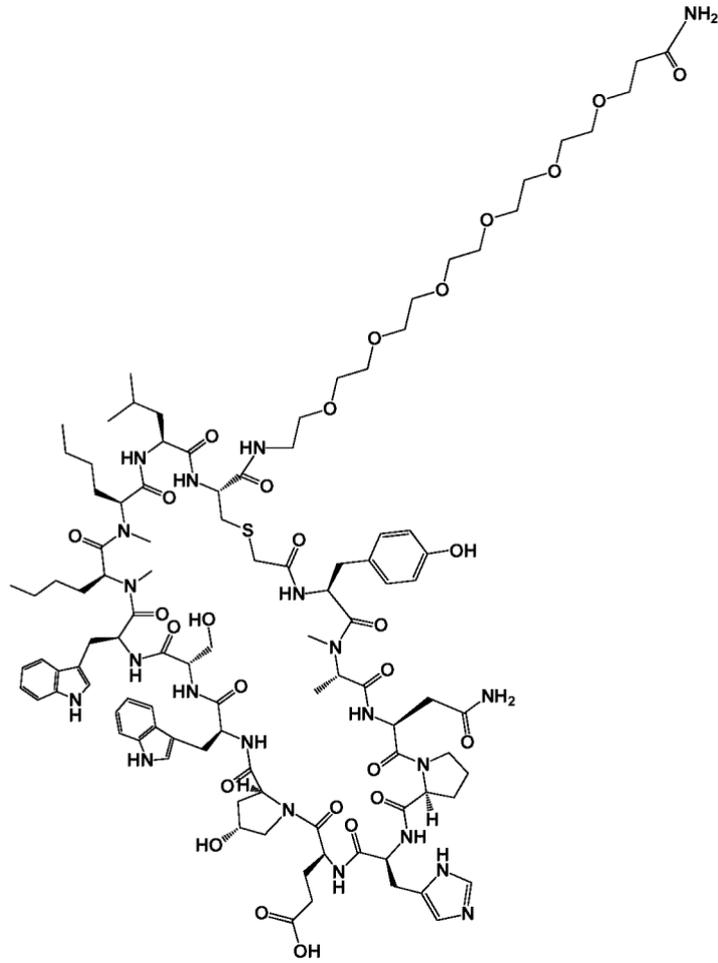




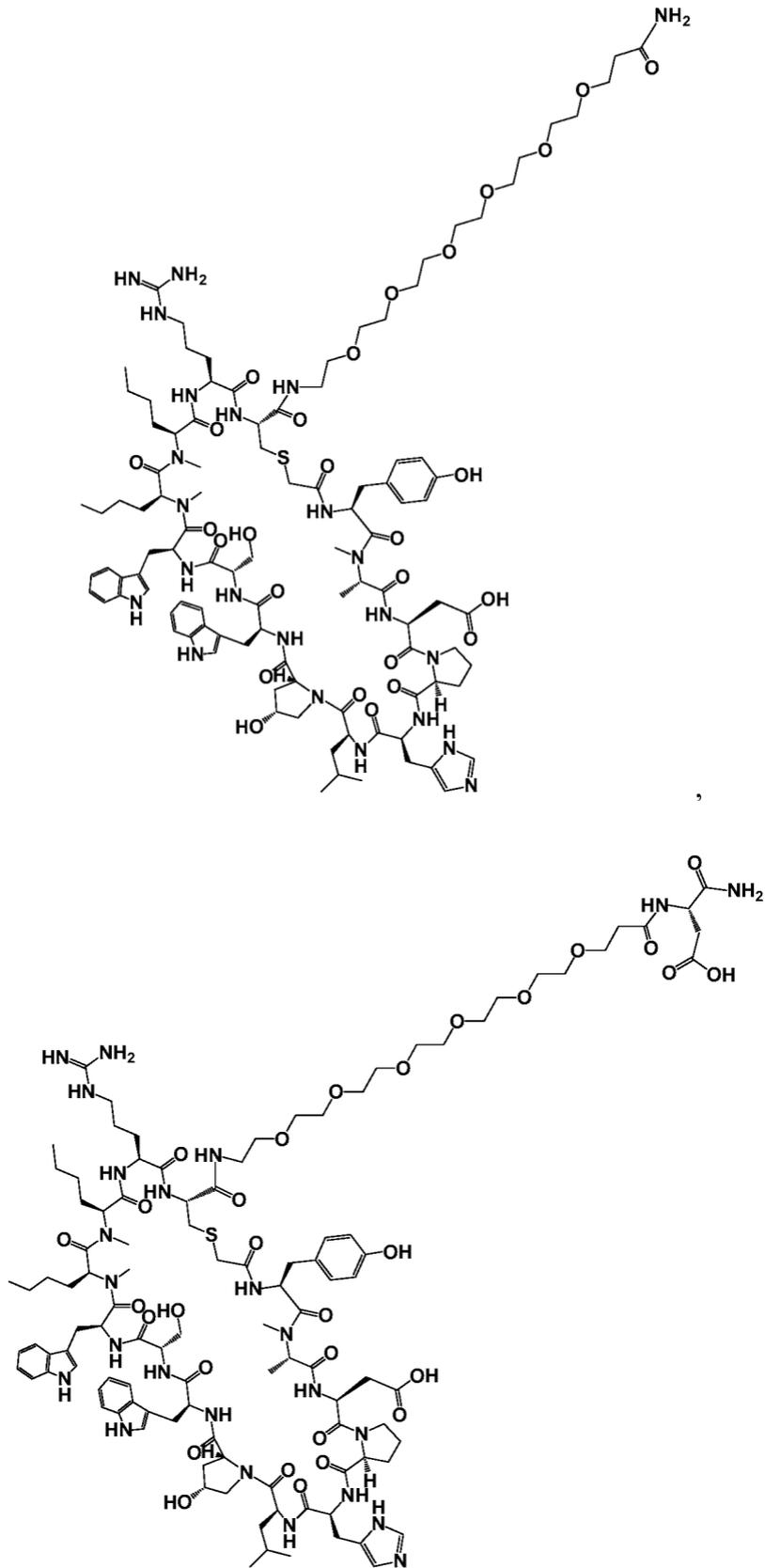


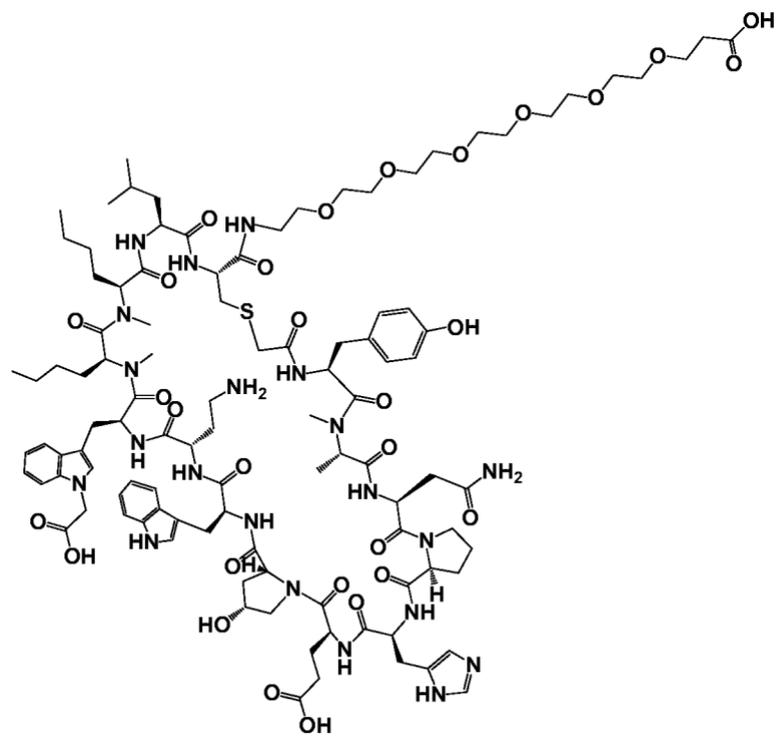
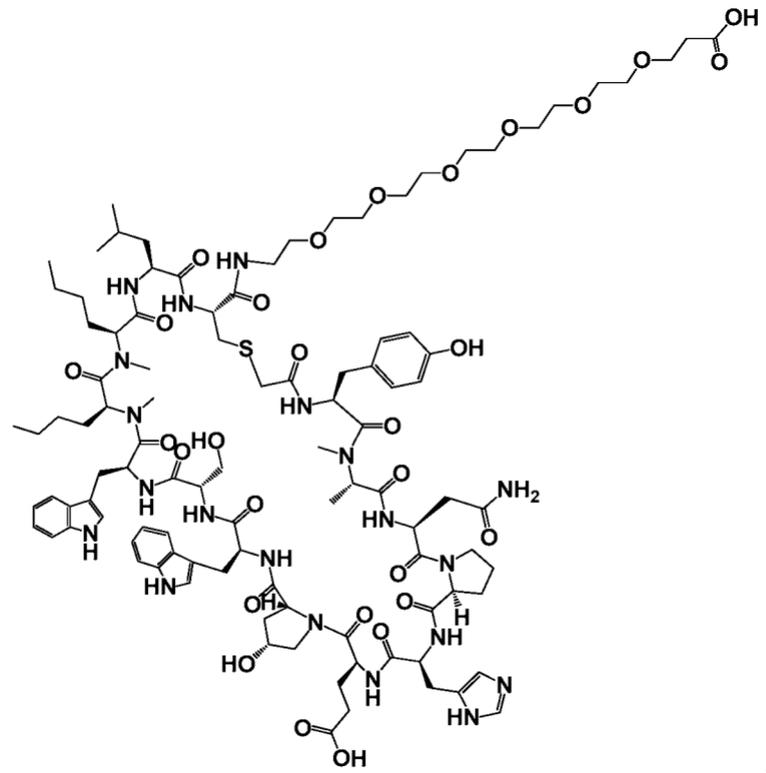


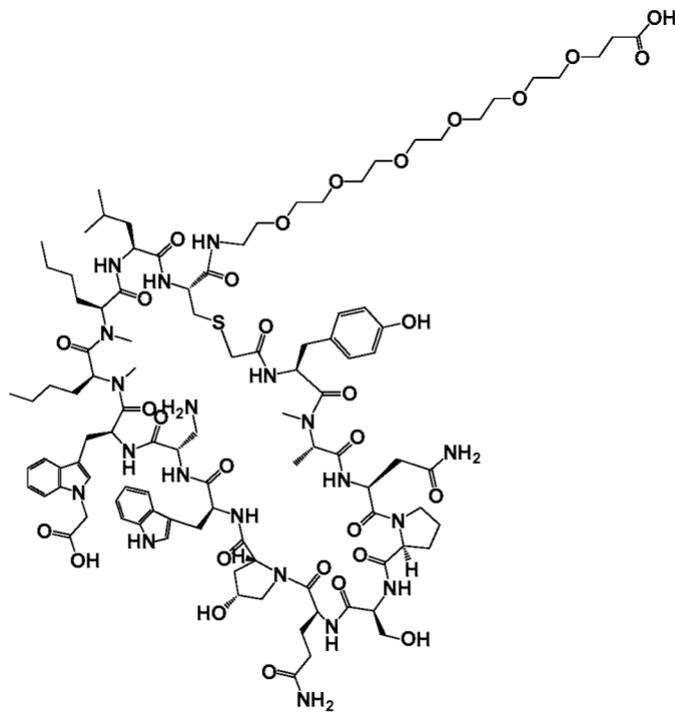
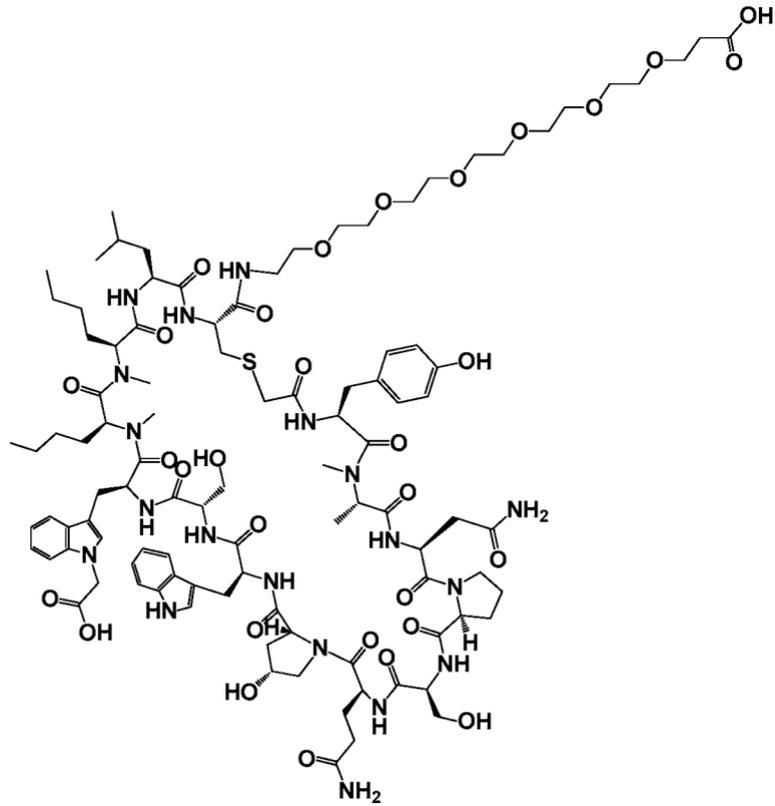


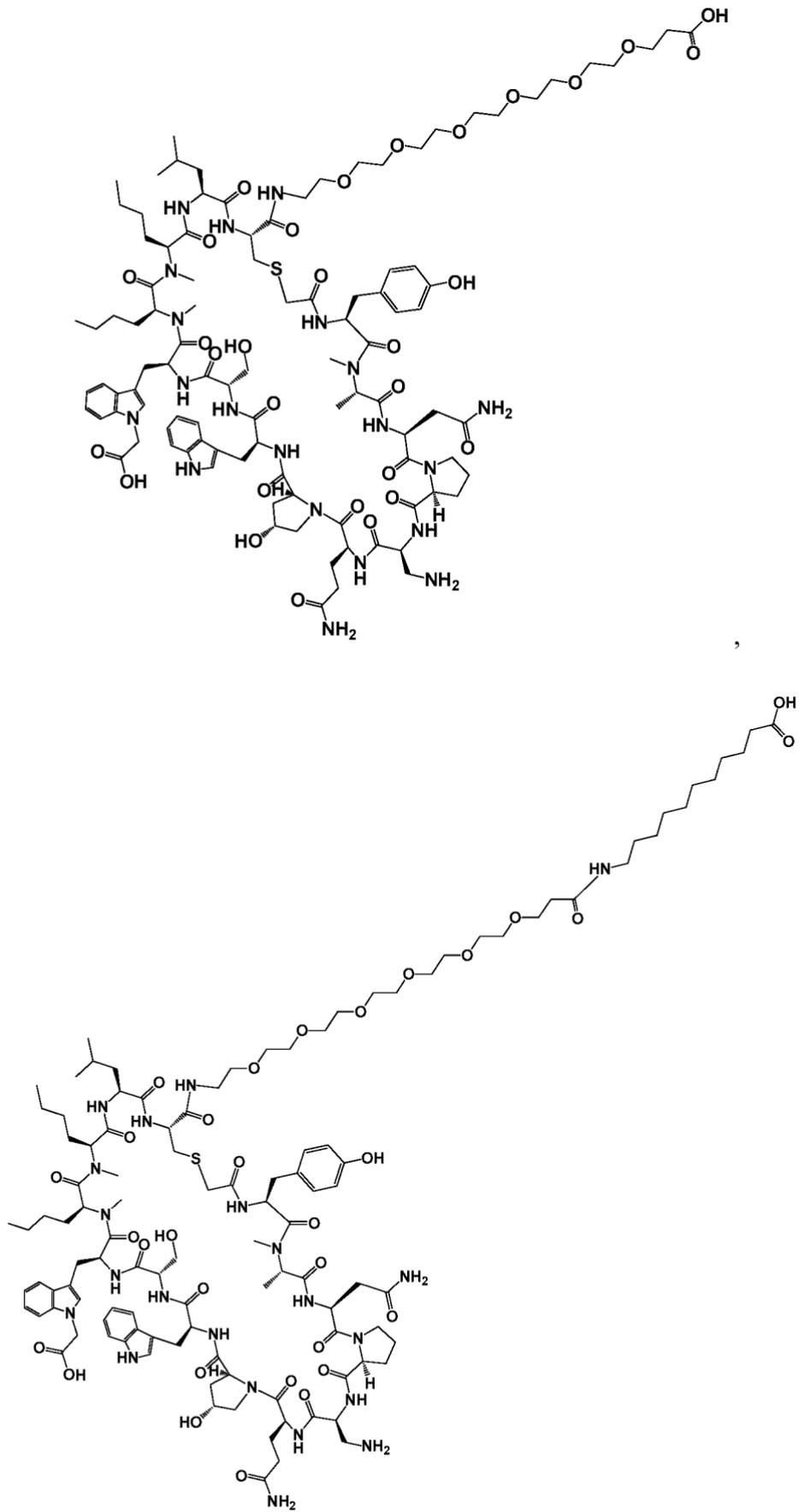


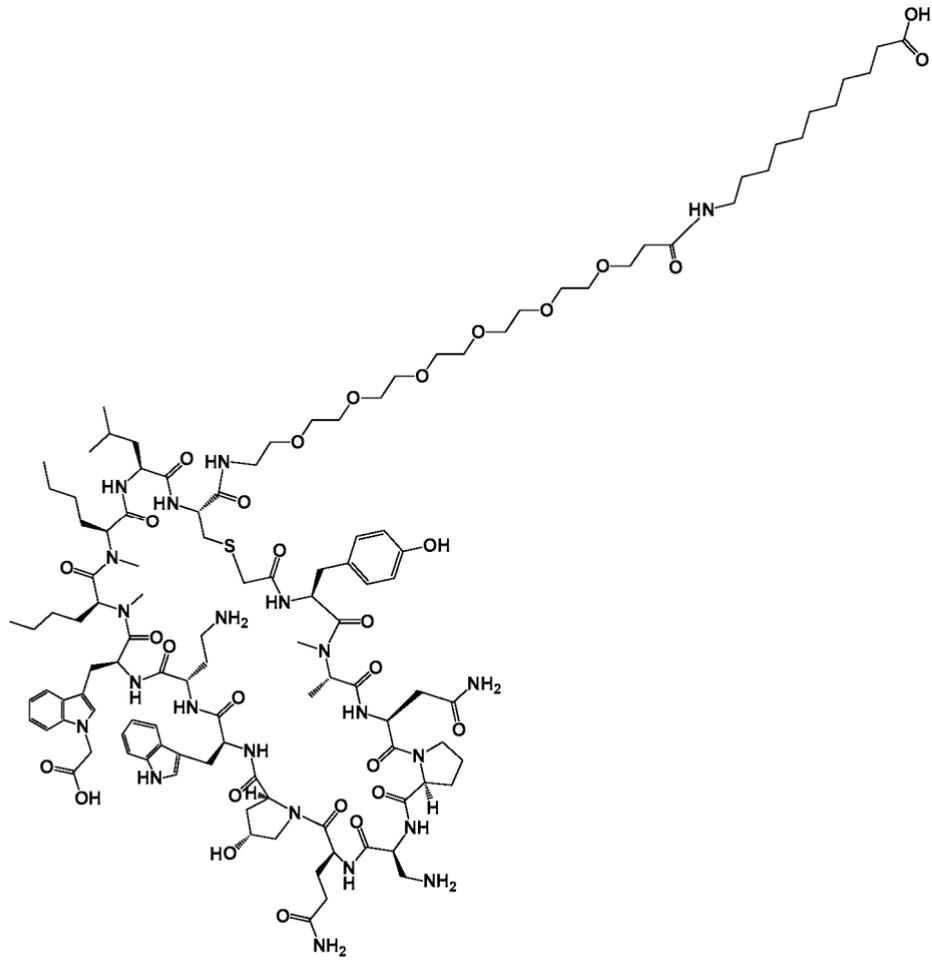
,



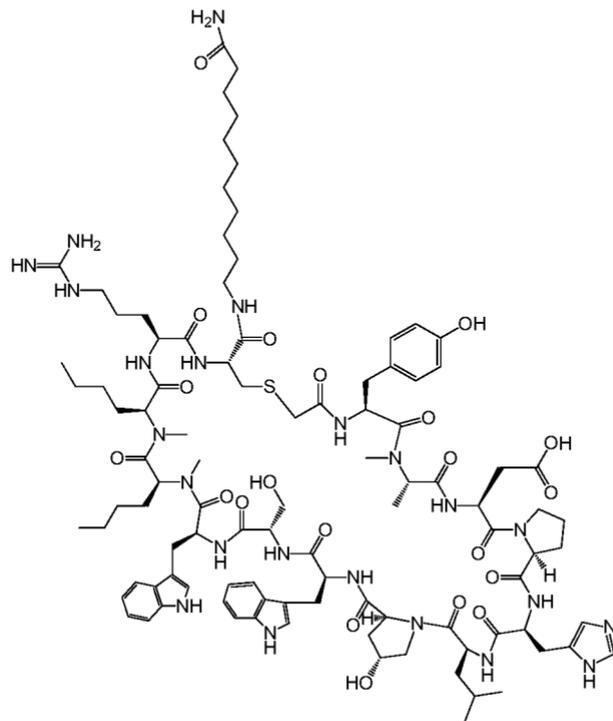
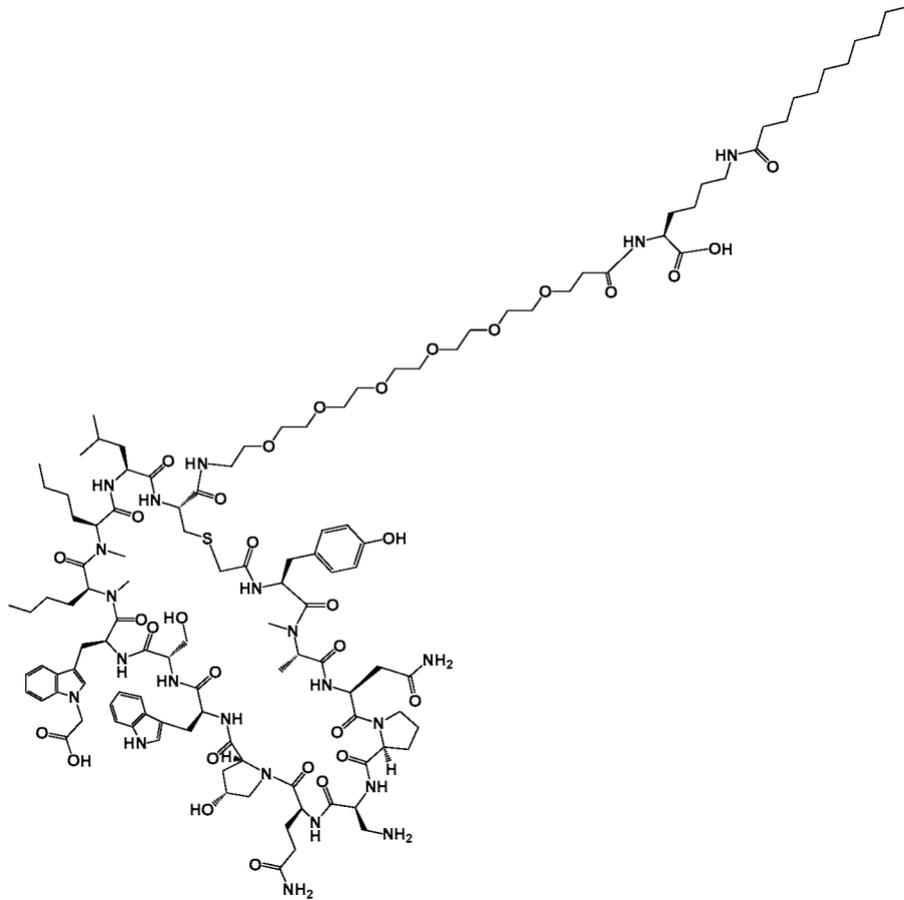


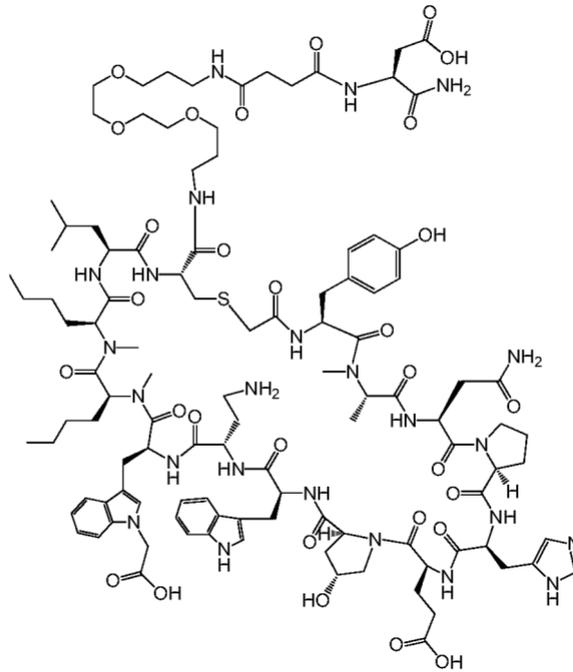
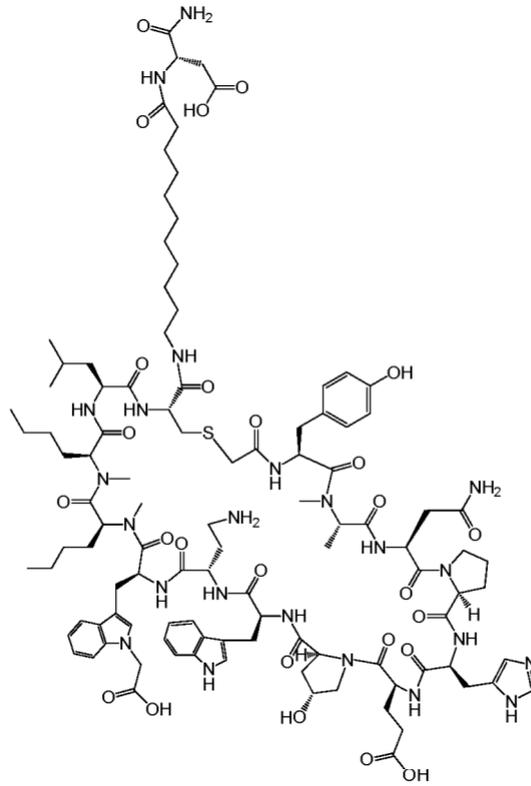


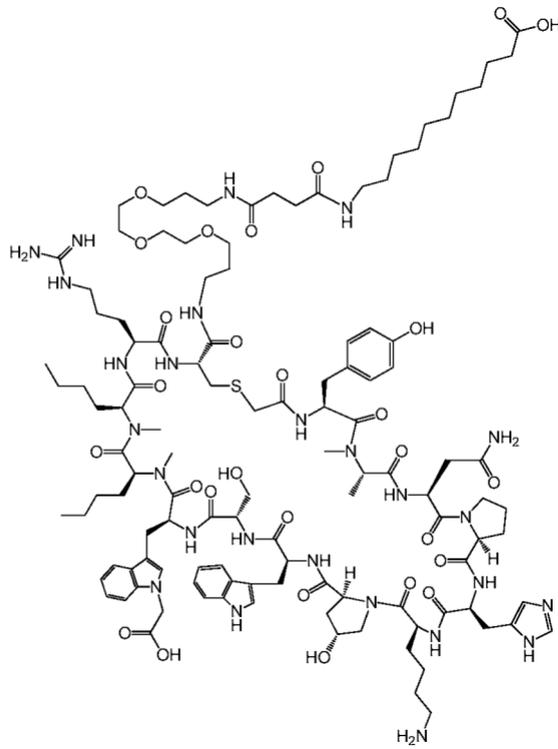
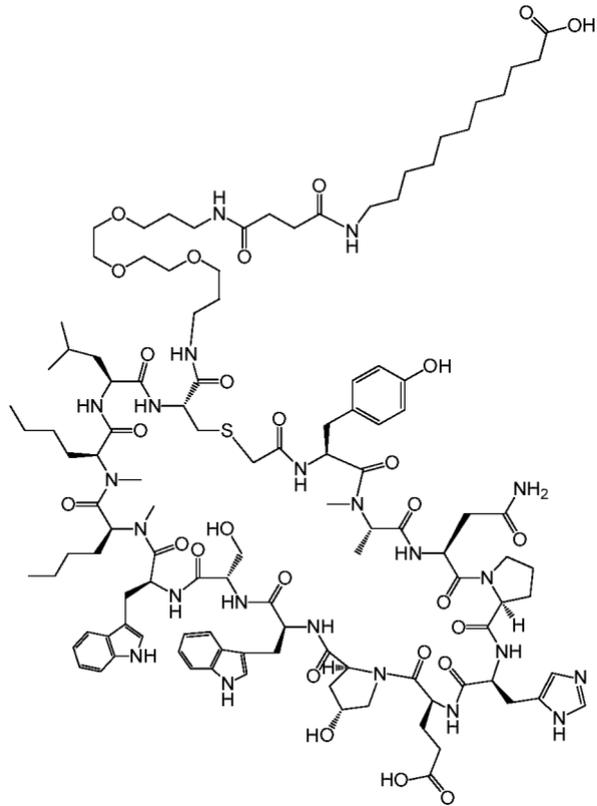


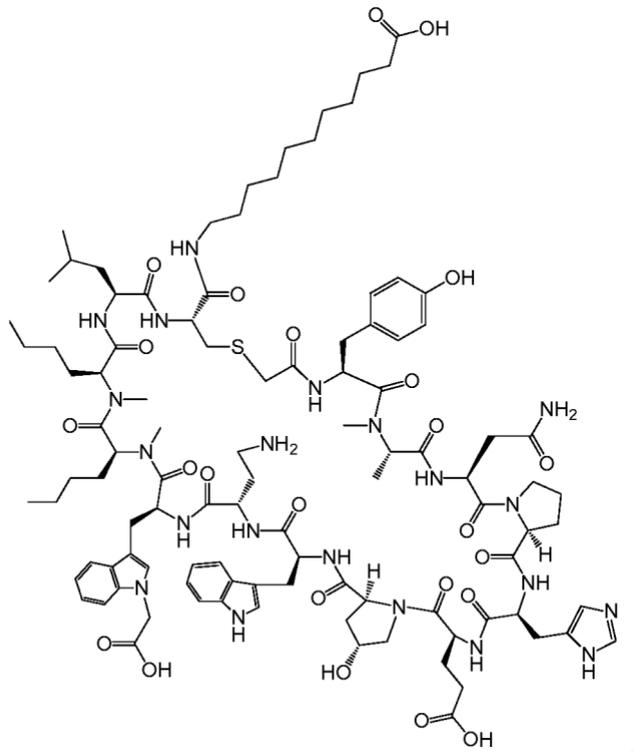
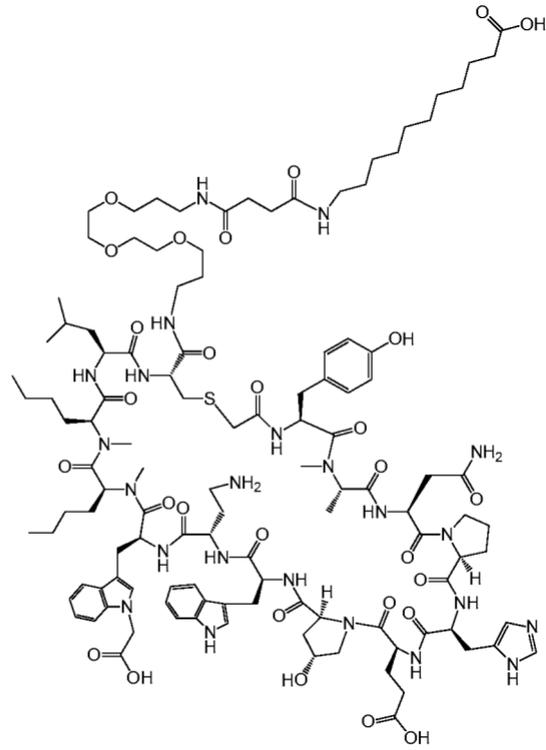


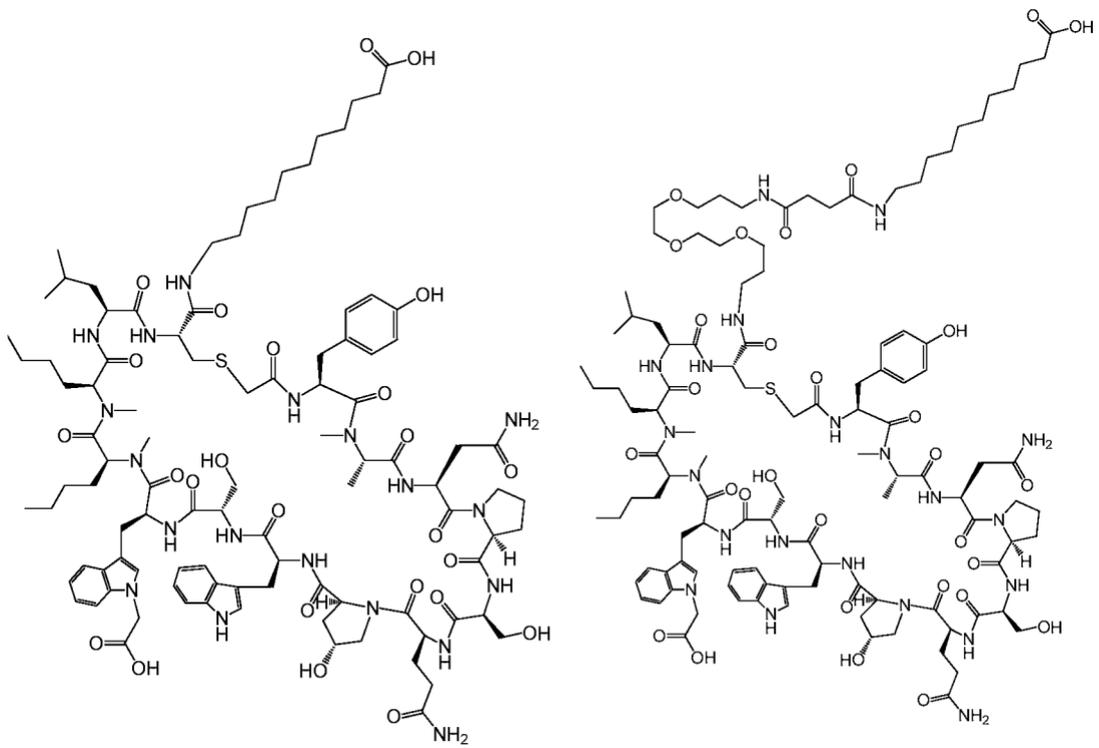
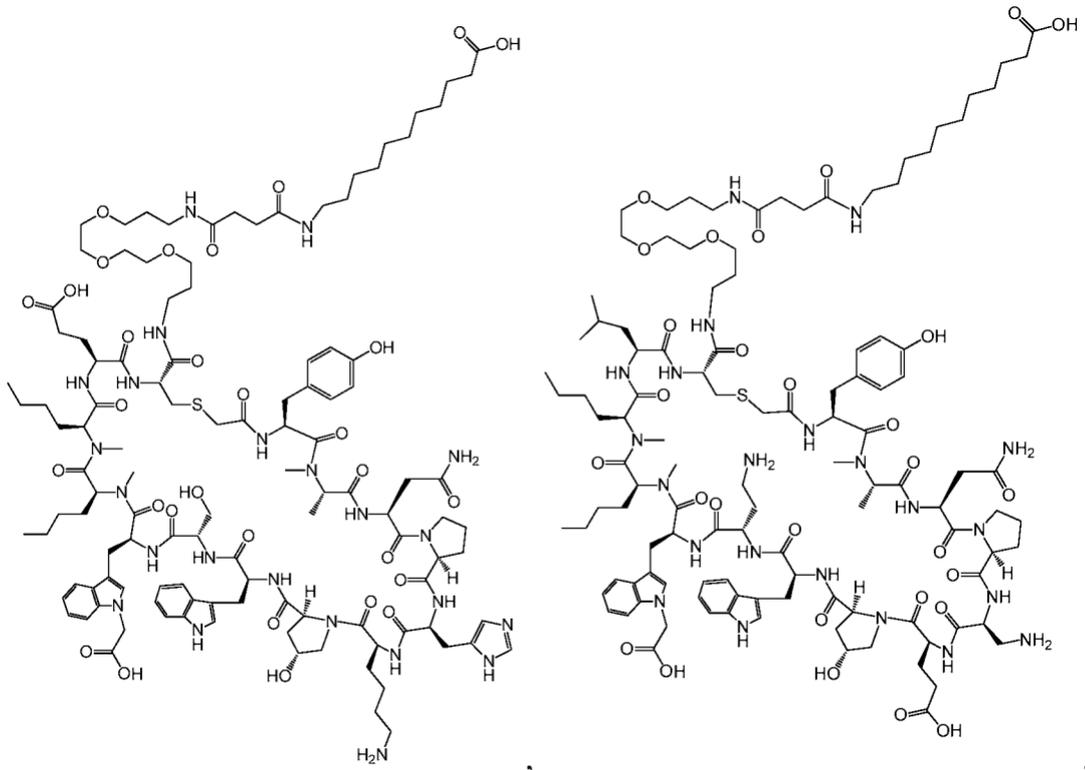
,

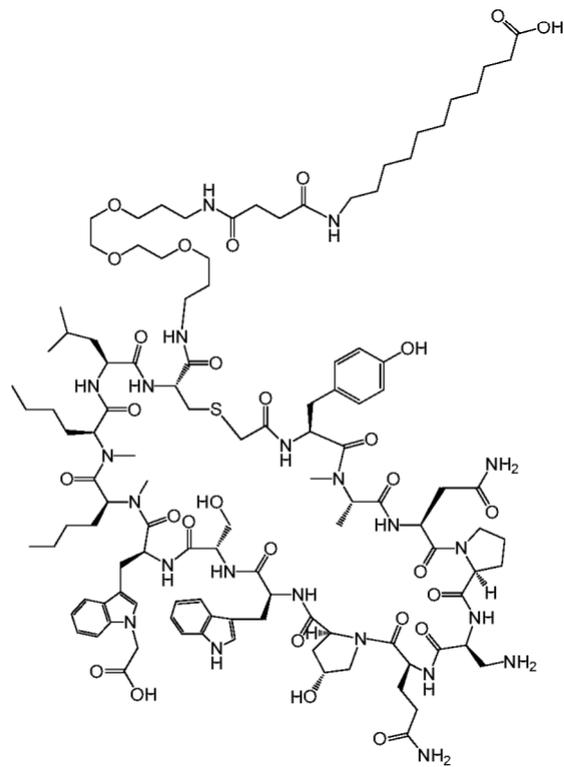
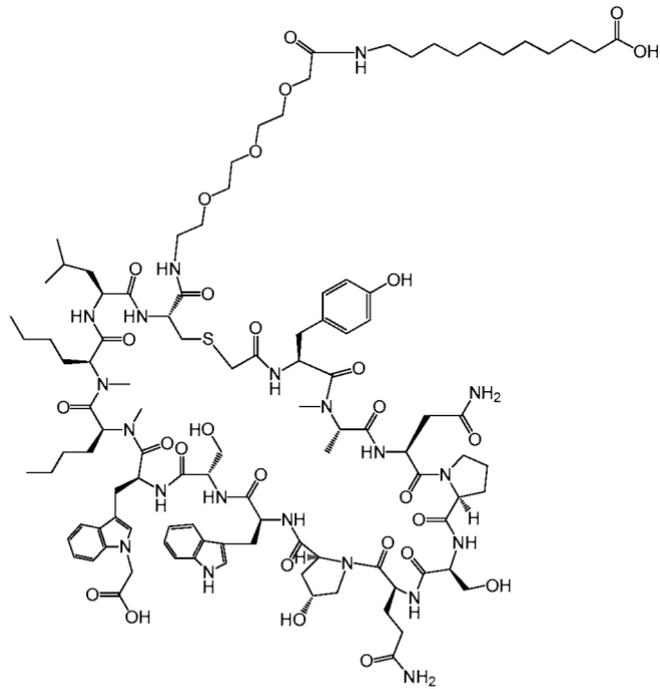


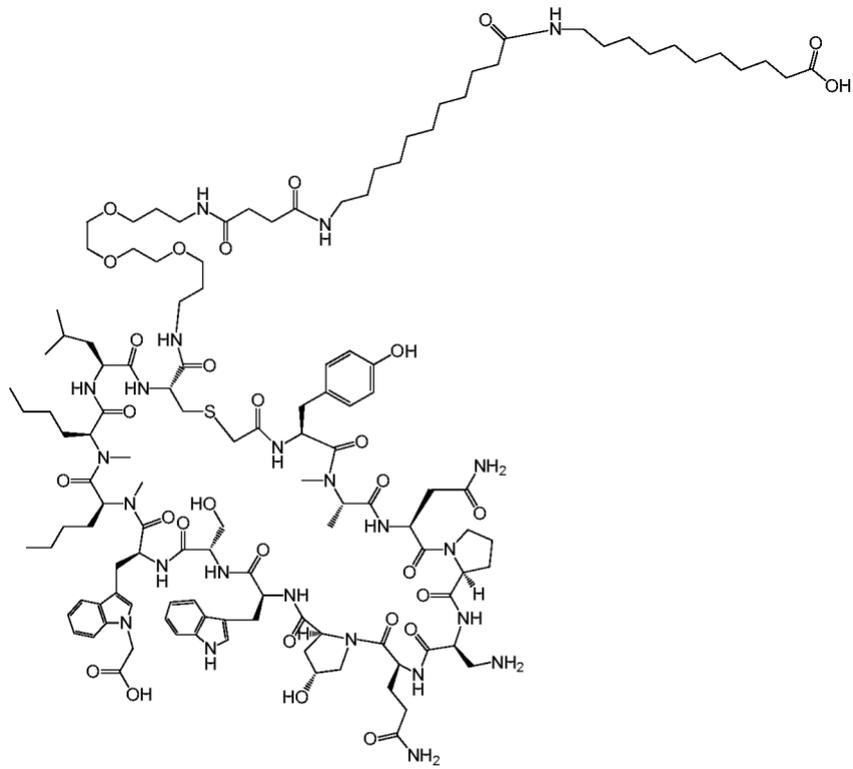




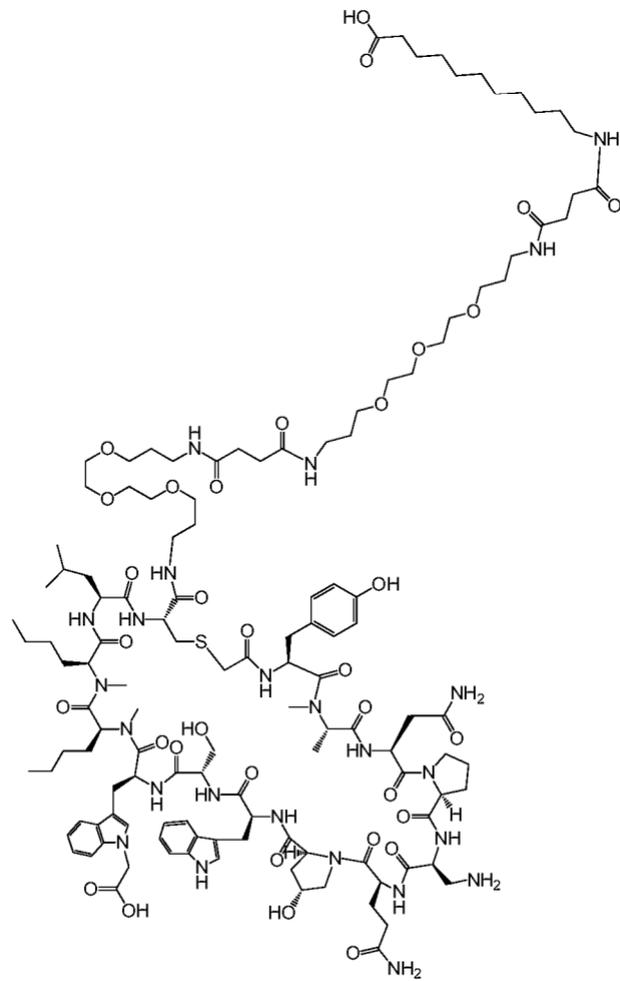




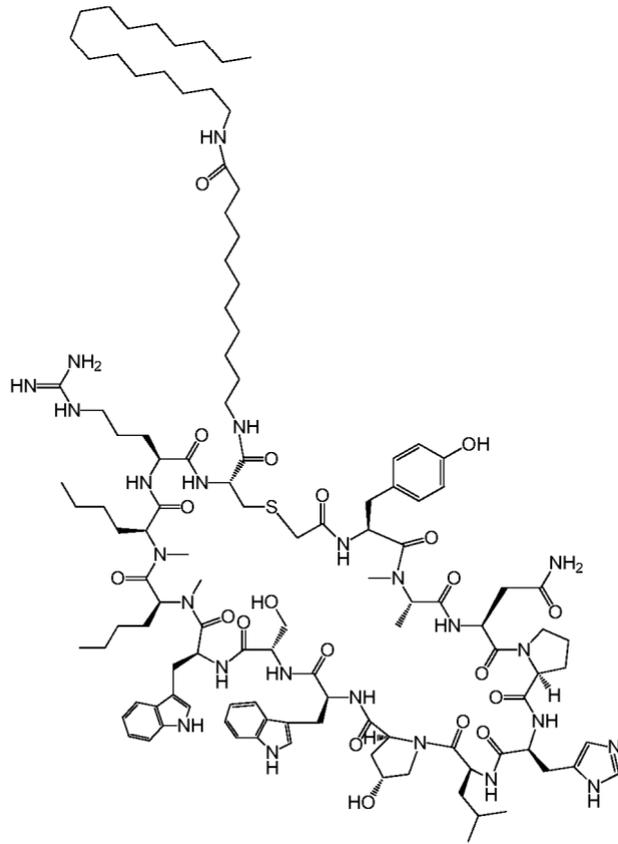
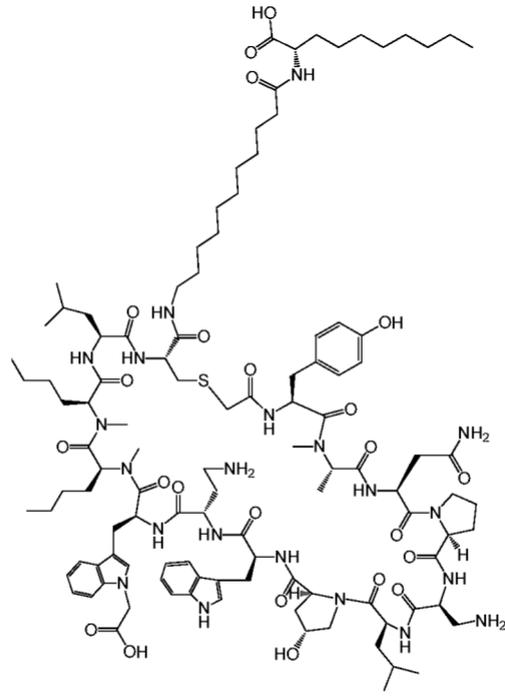




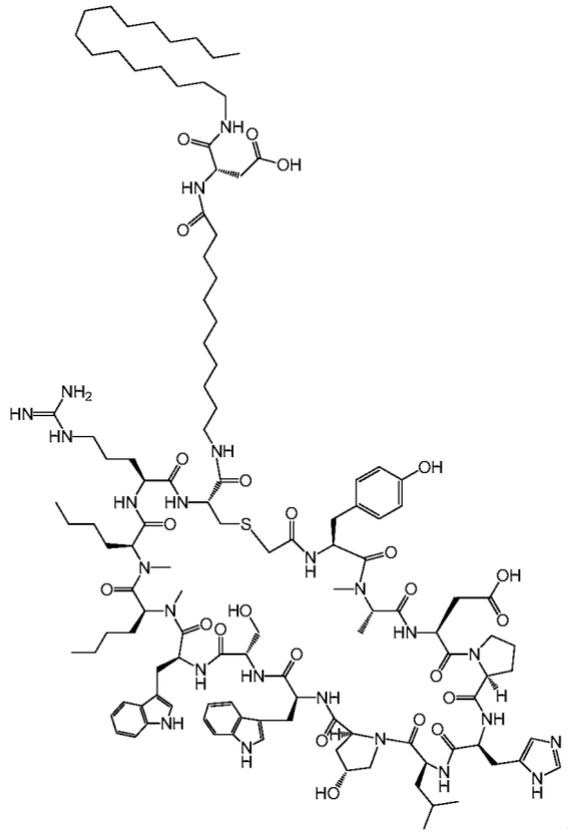
,



,

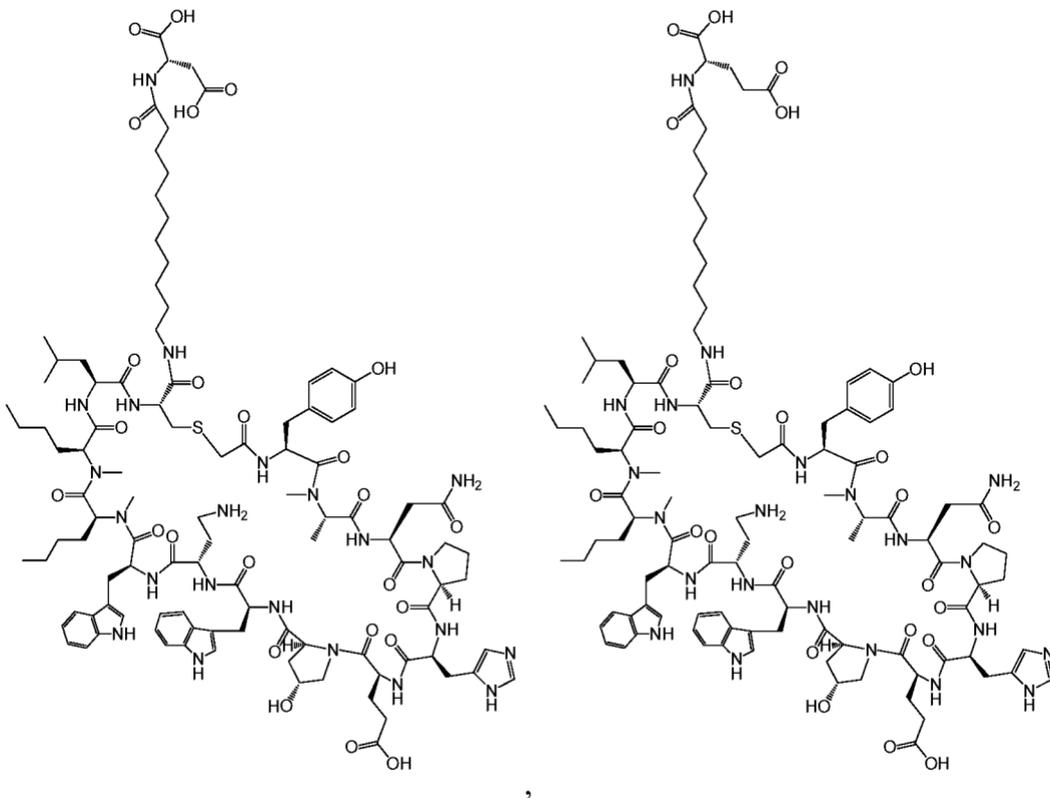


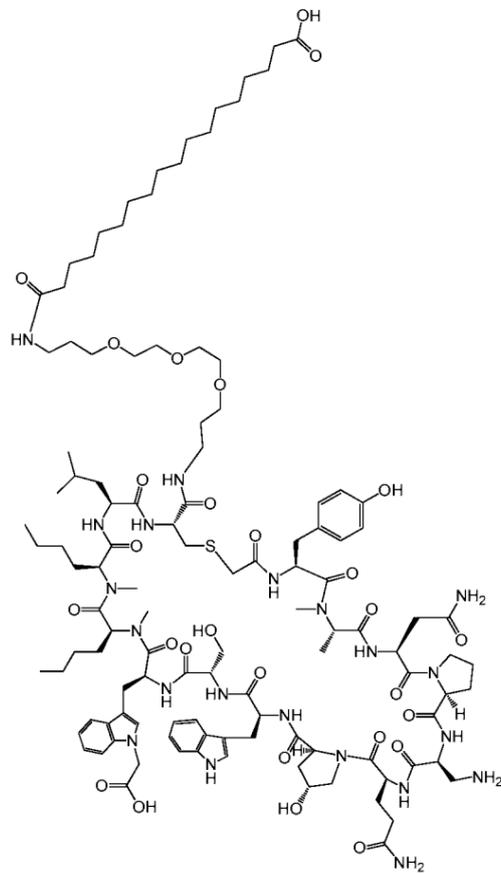
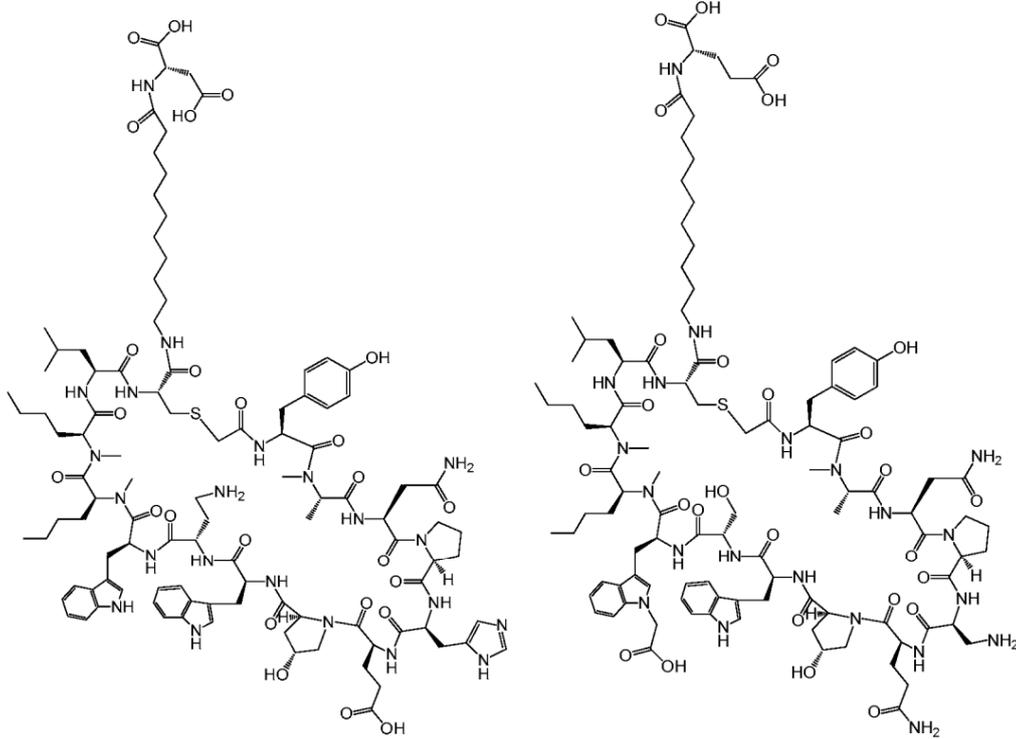
y

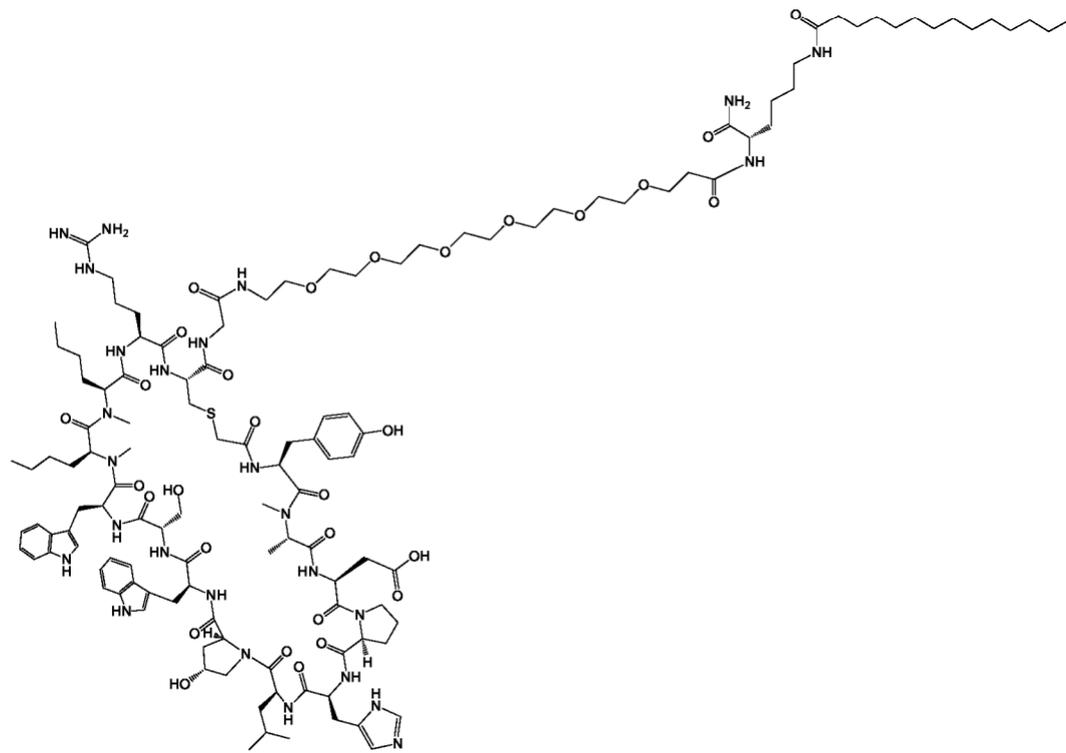
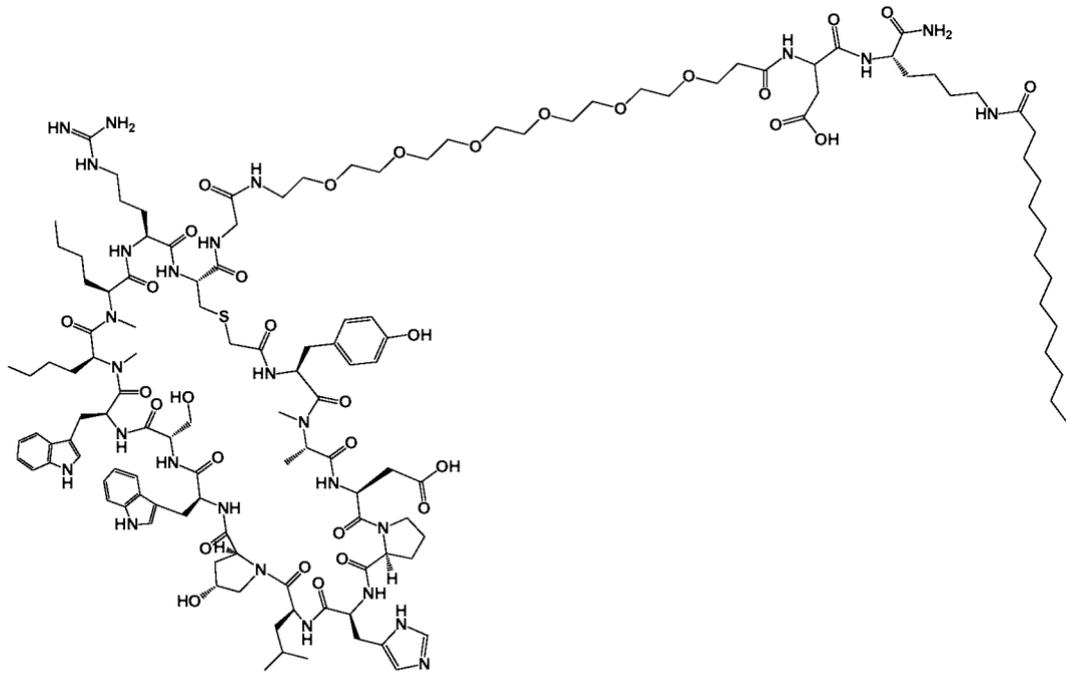


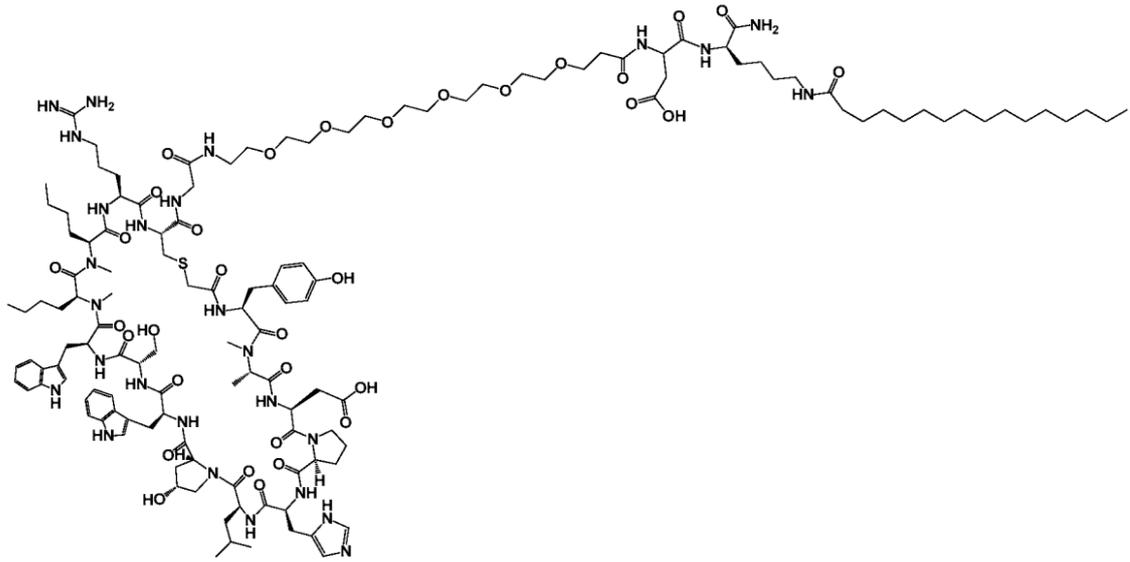
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

5 19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:

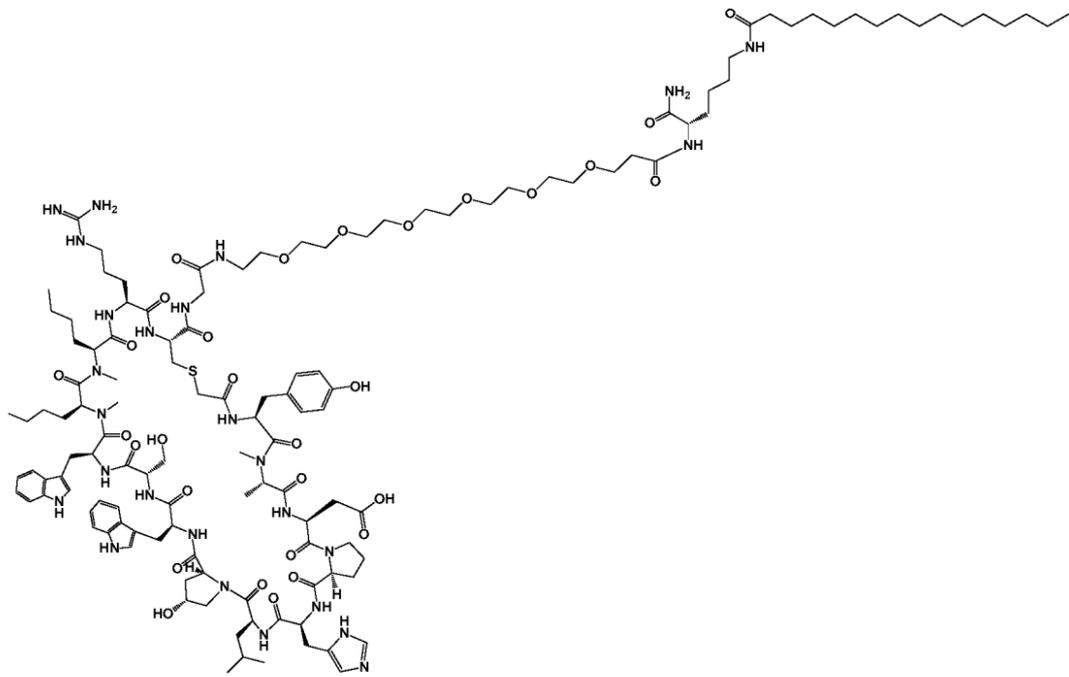


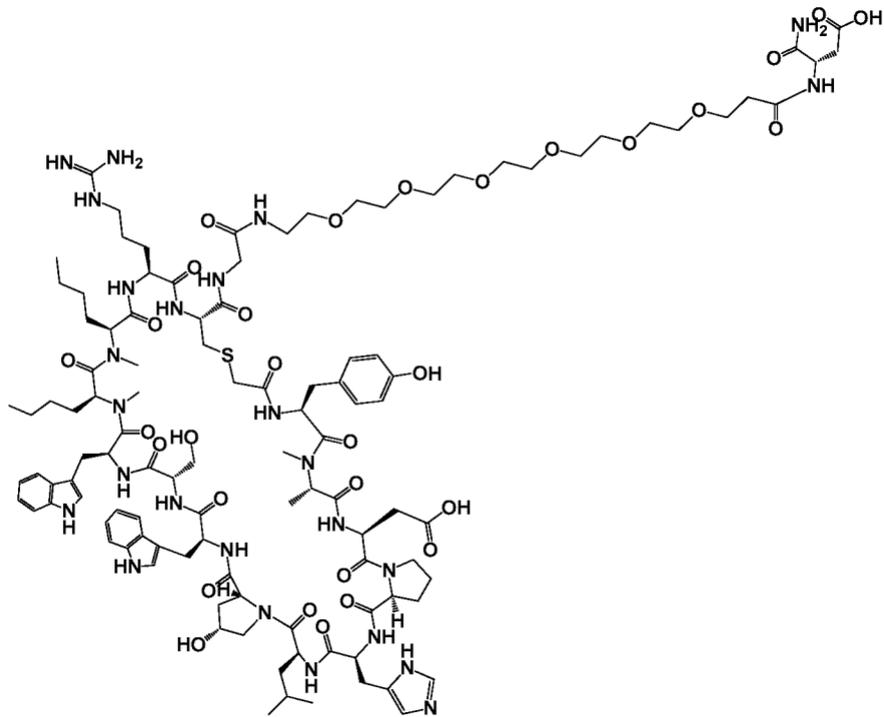
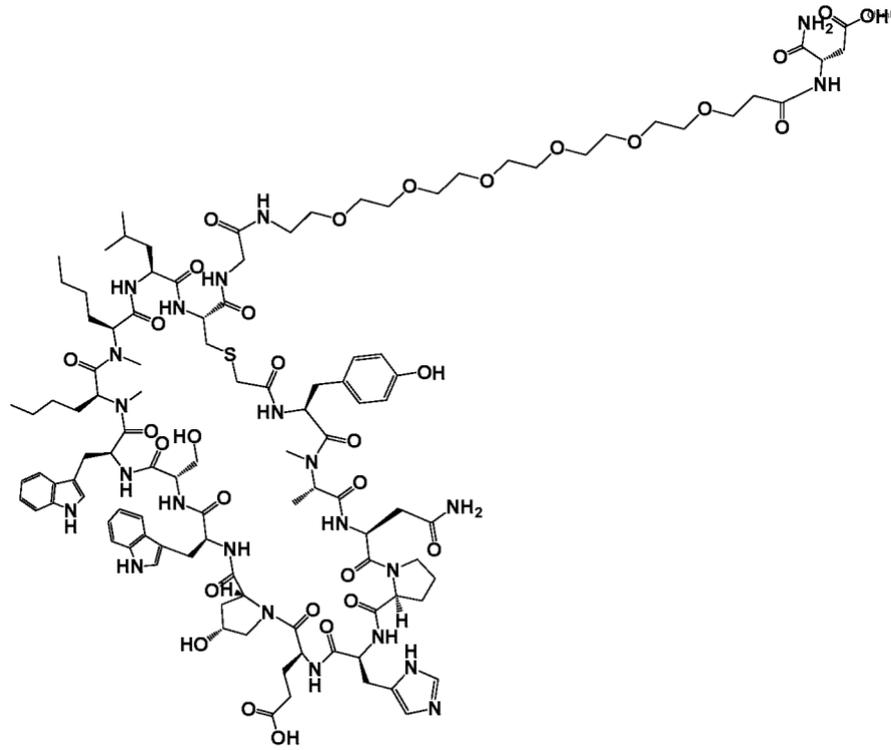


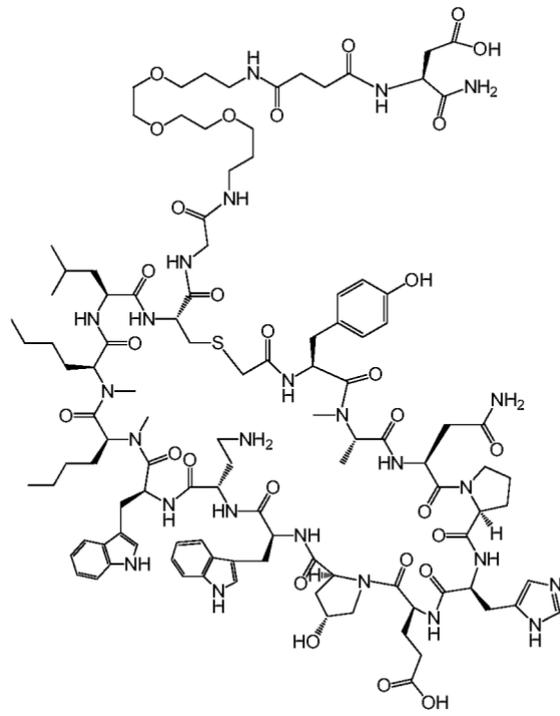
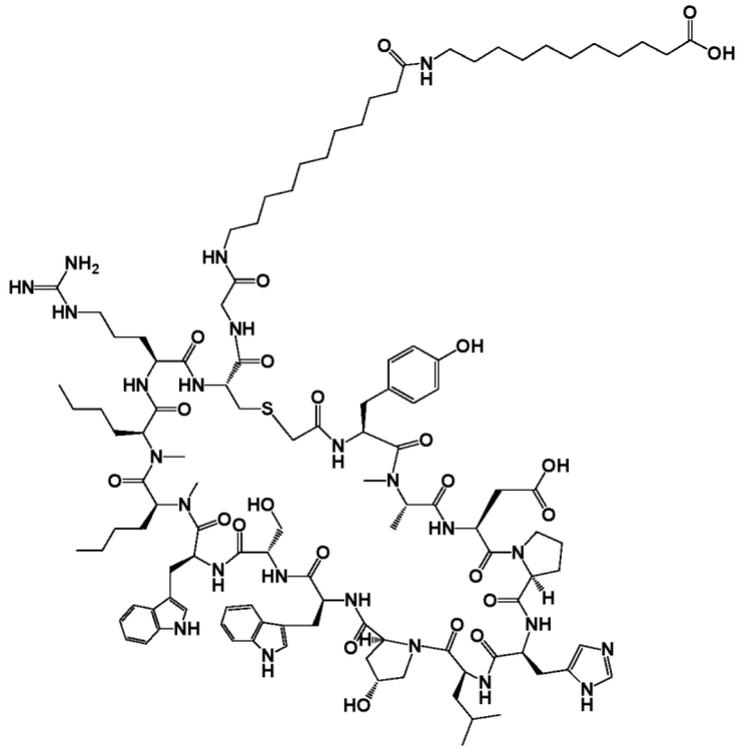


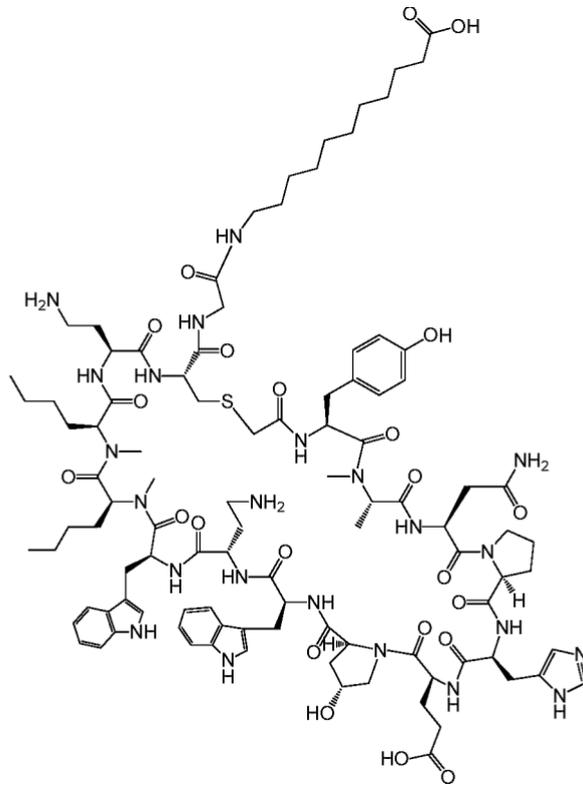
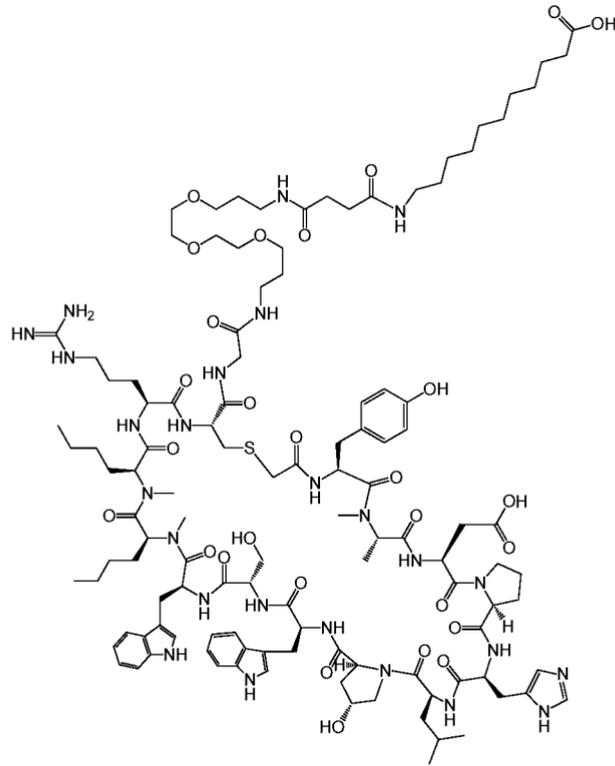


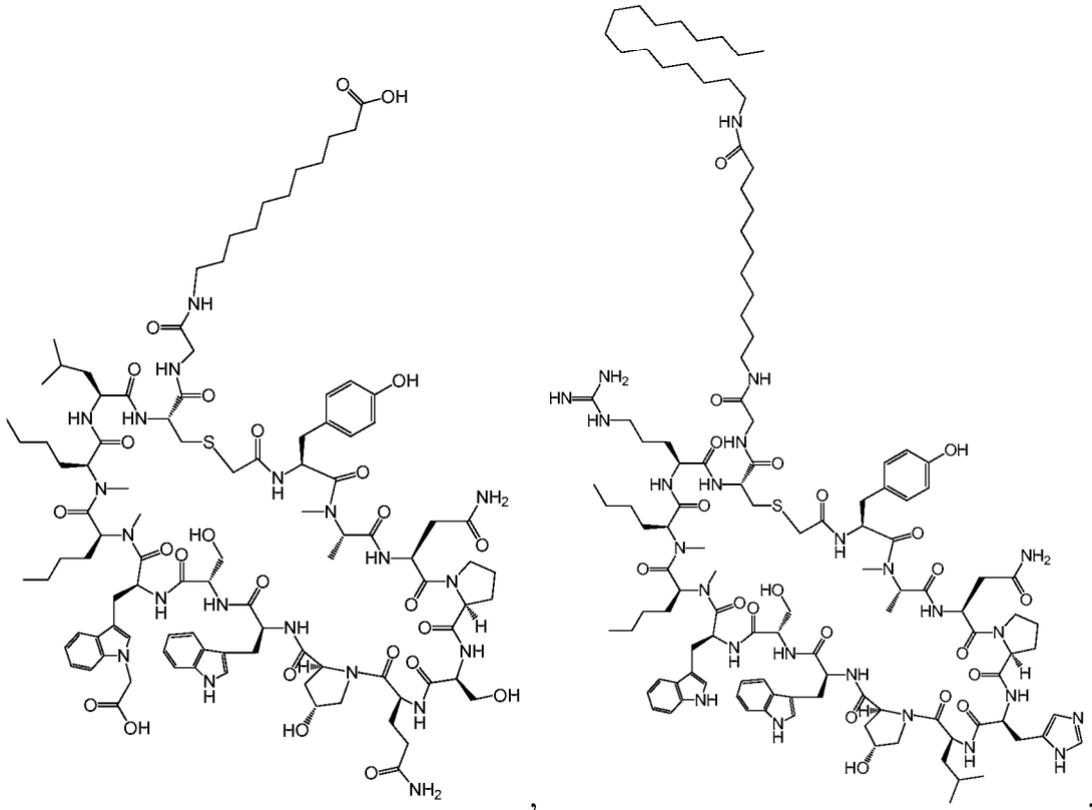
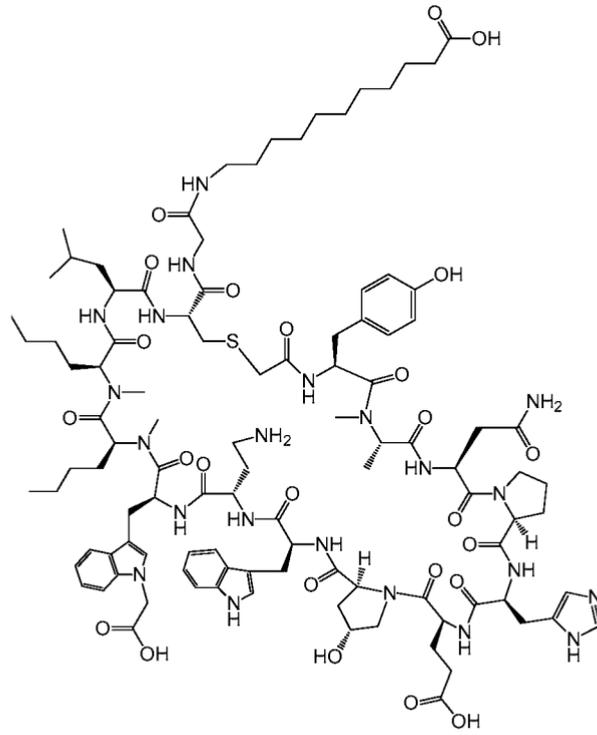
5

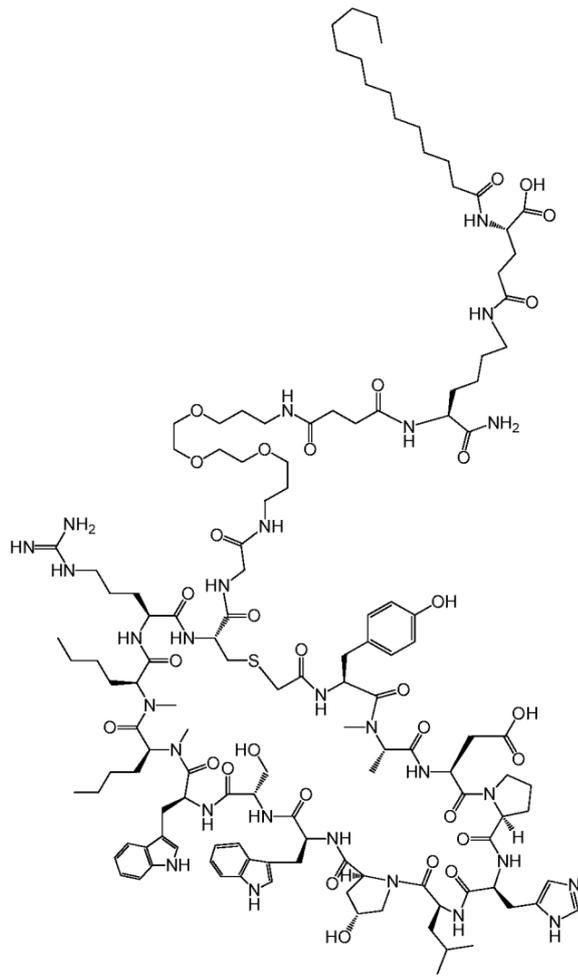
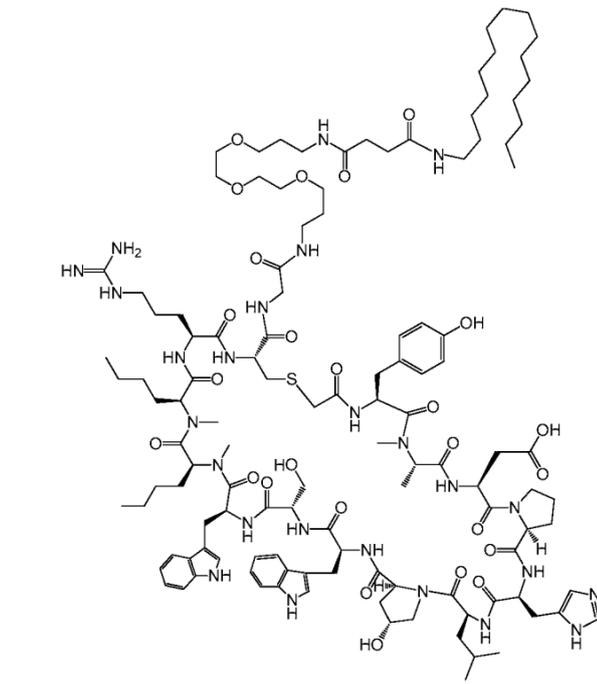


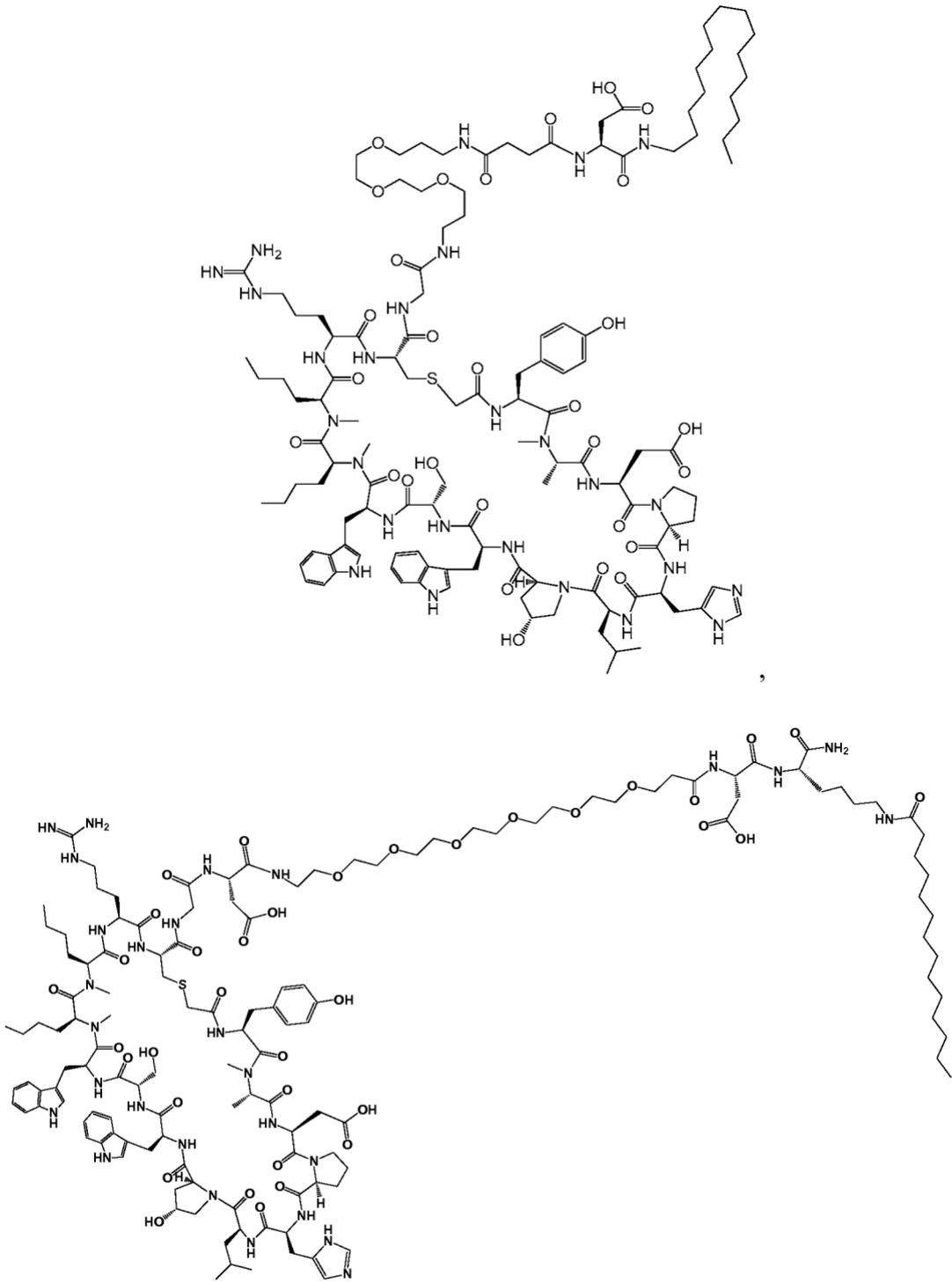


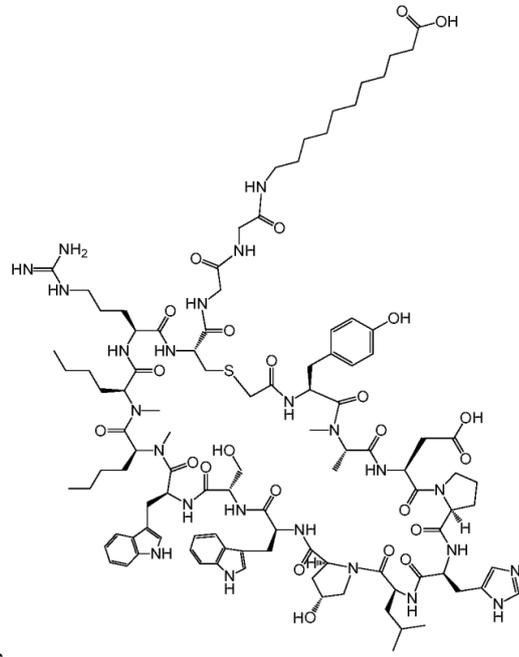
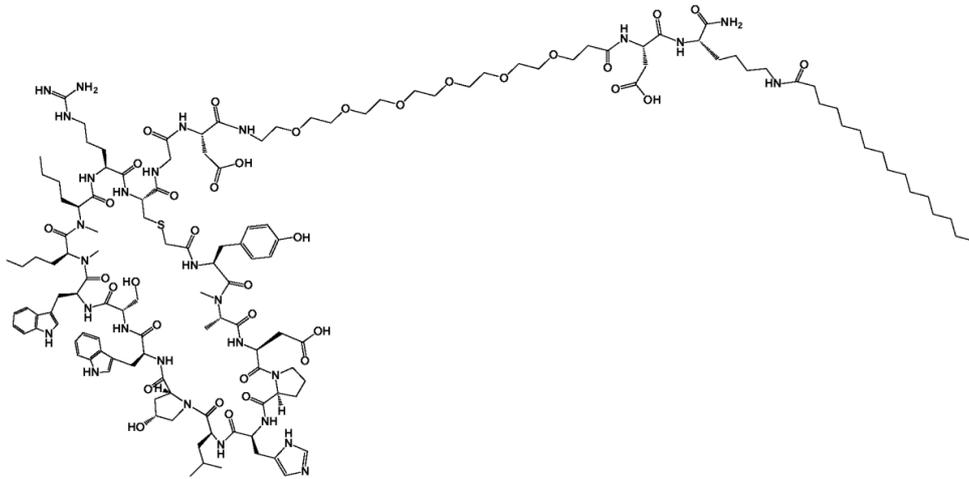


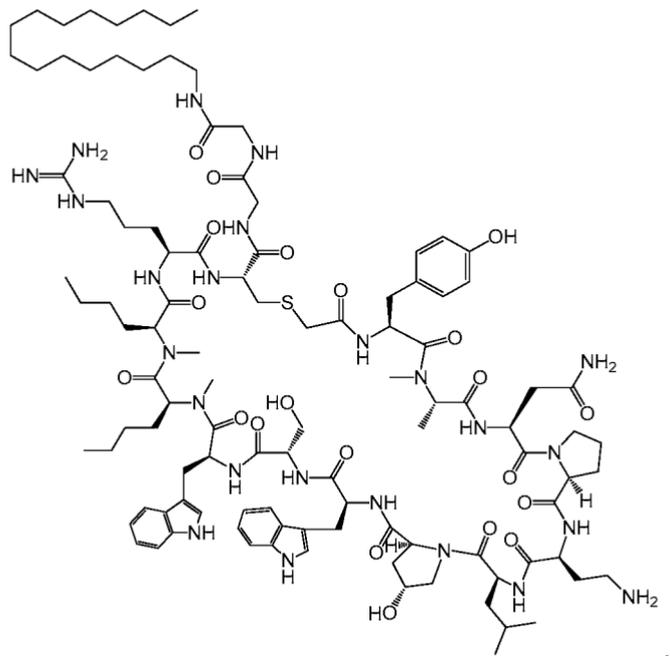
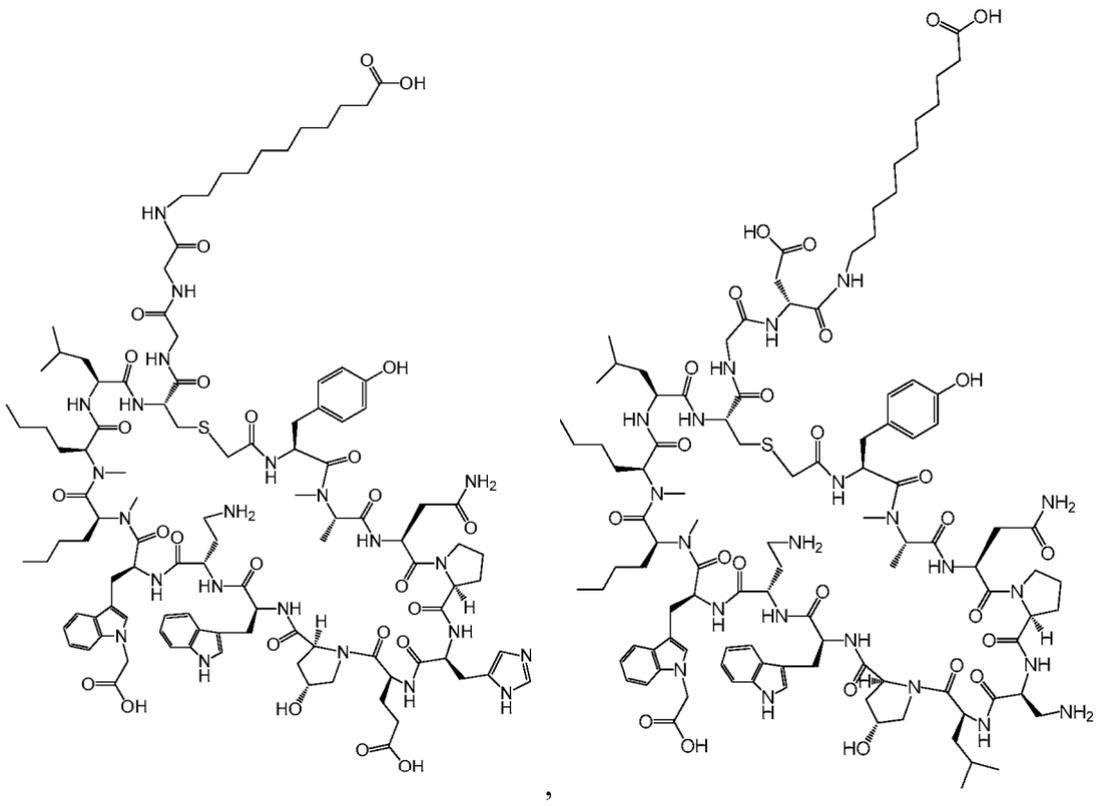


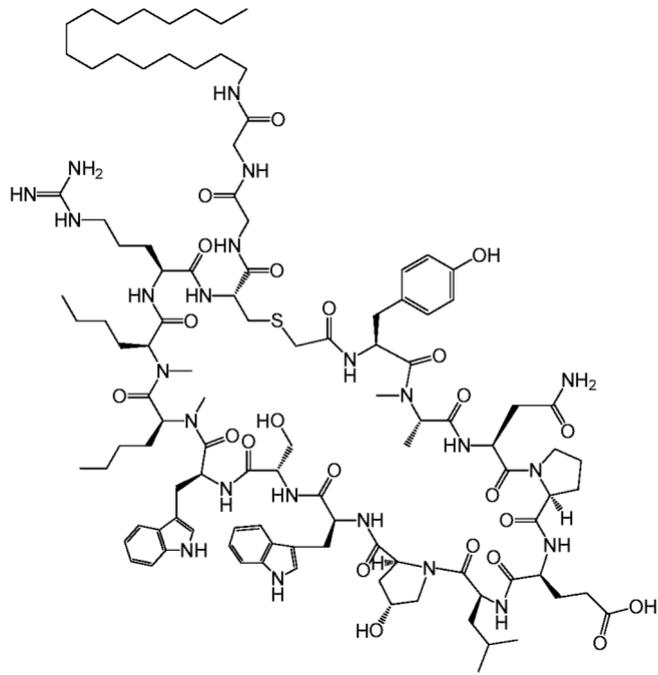
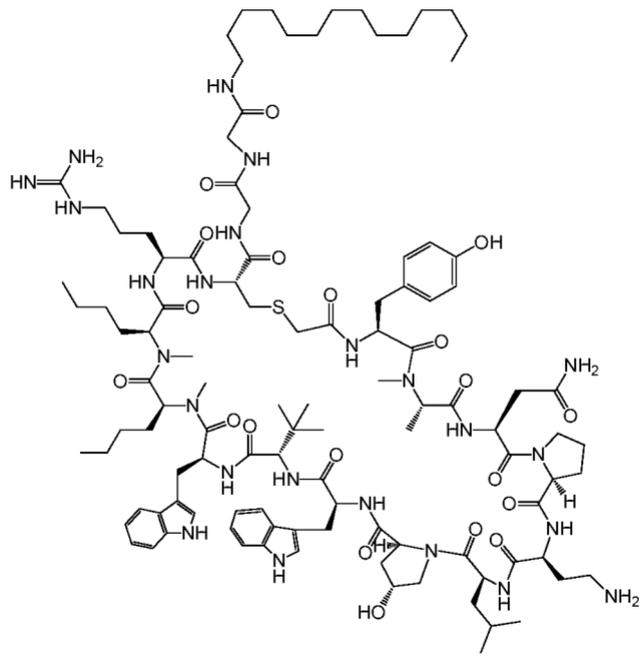


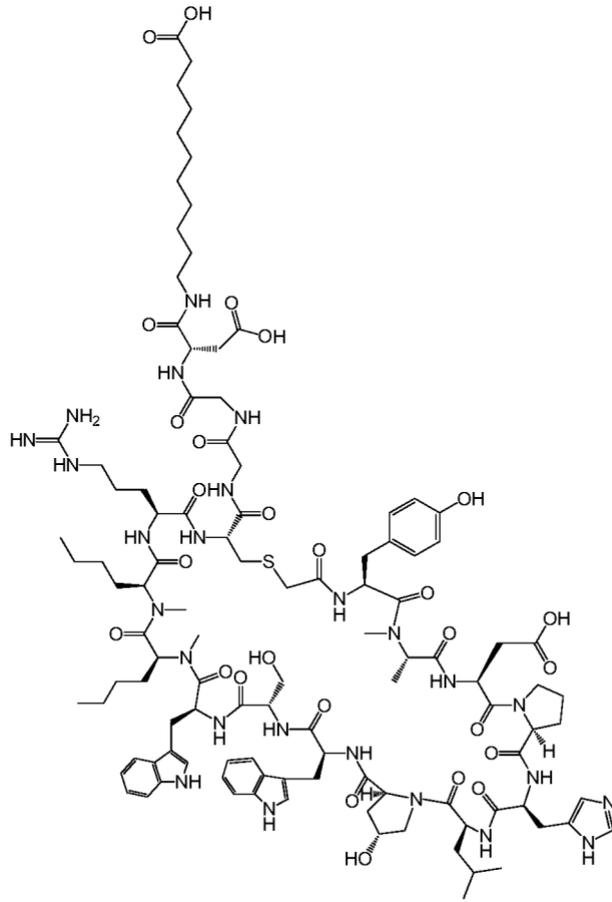


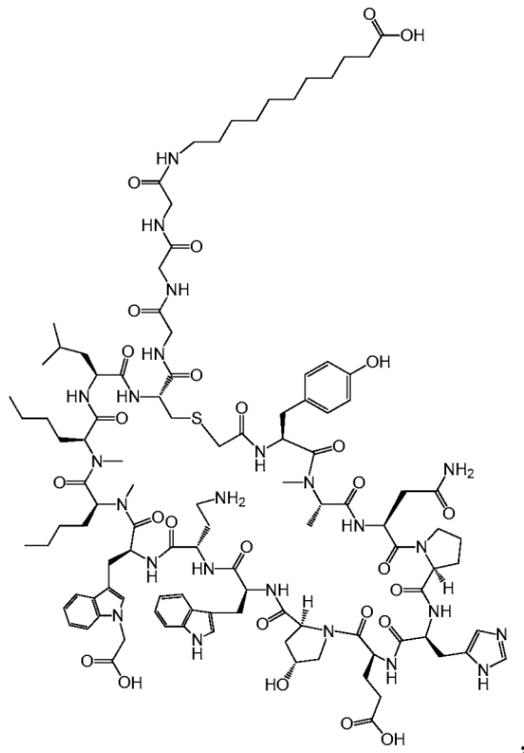
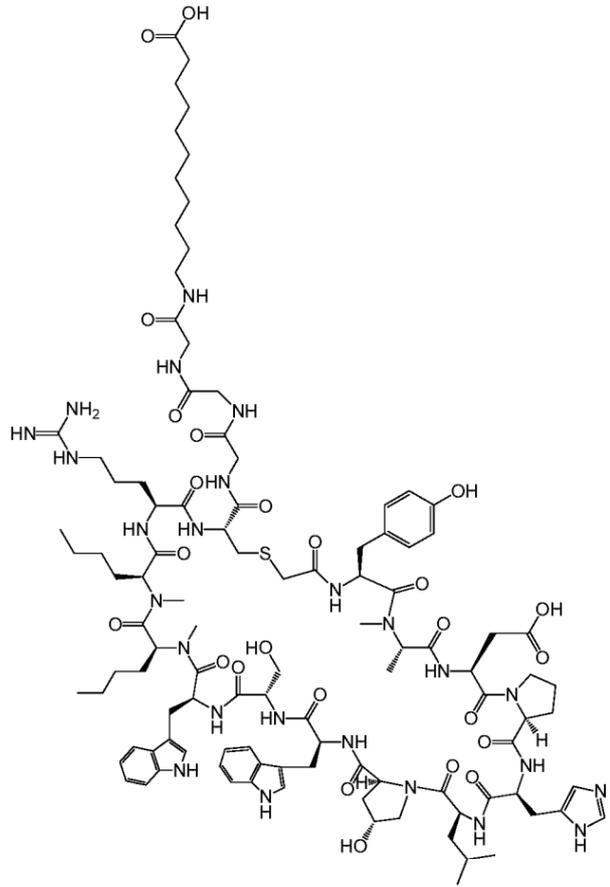


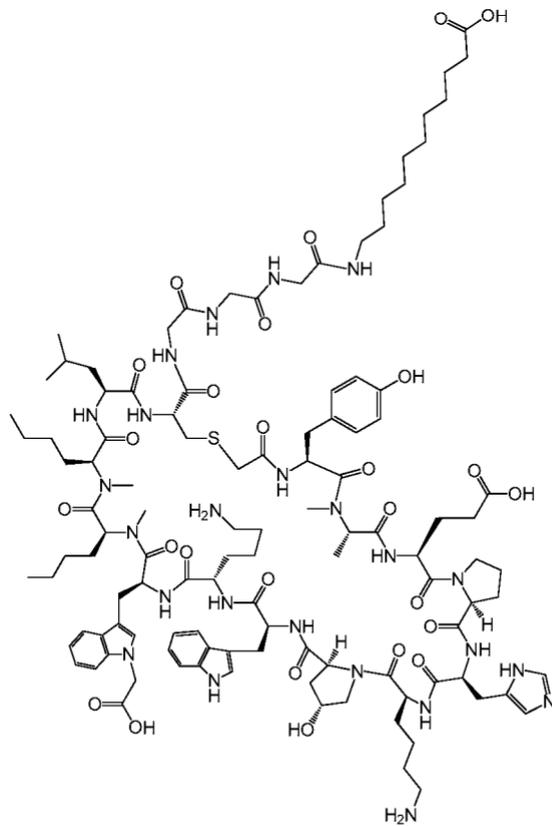
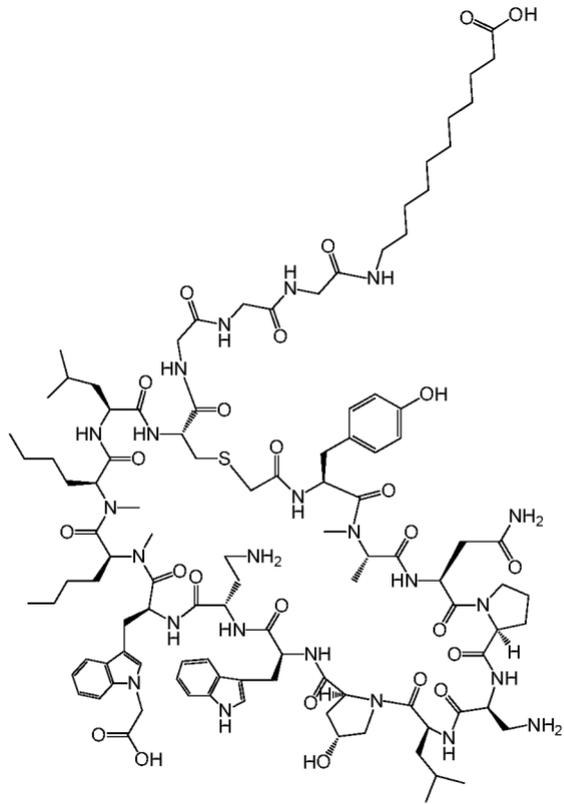


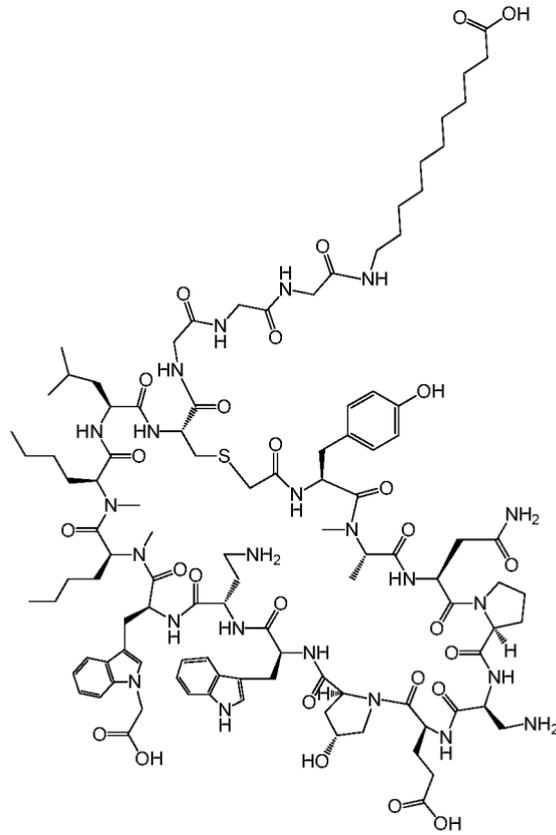




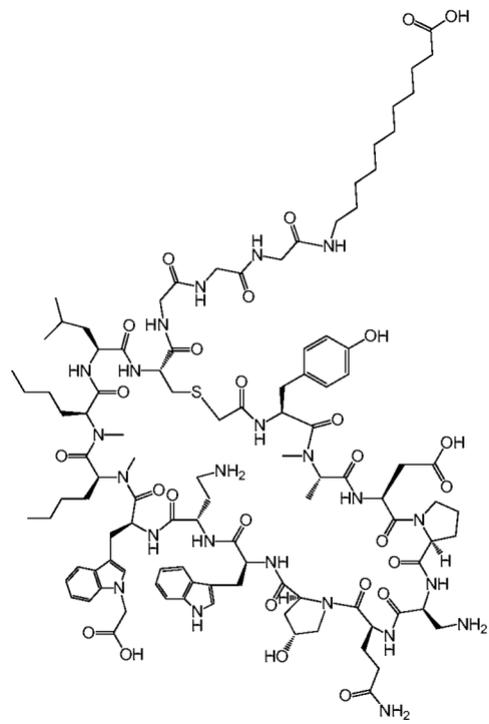
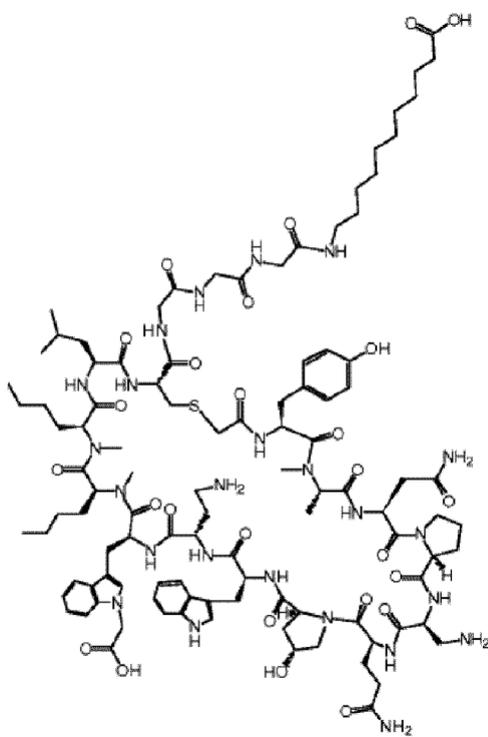






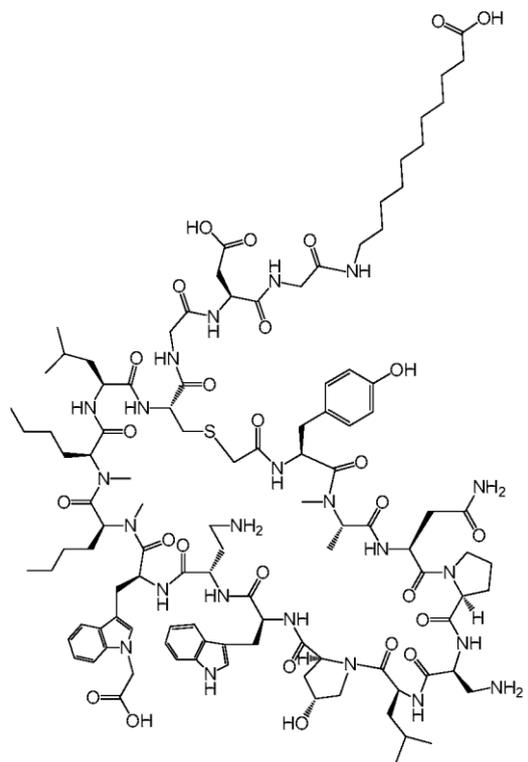
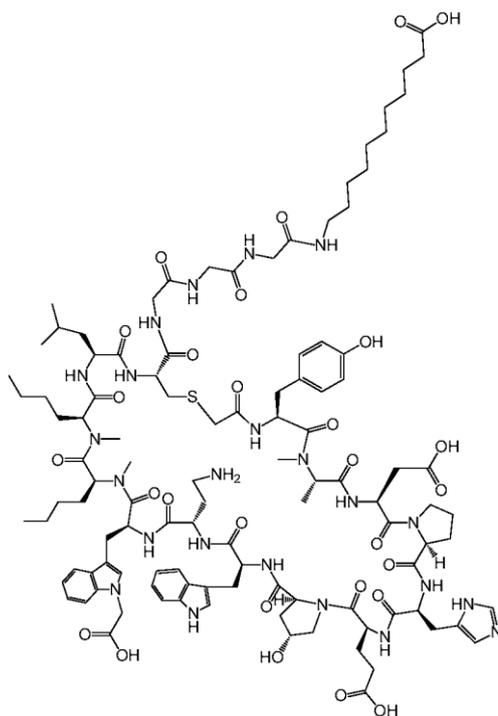
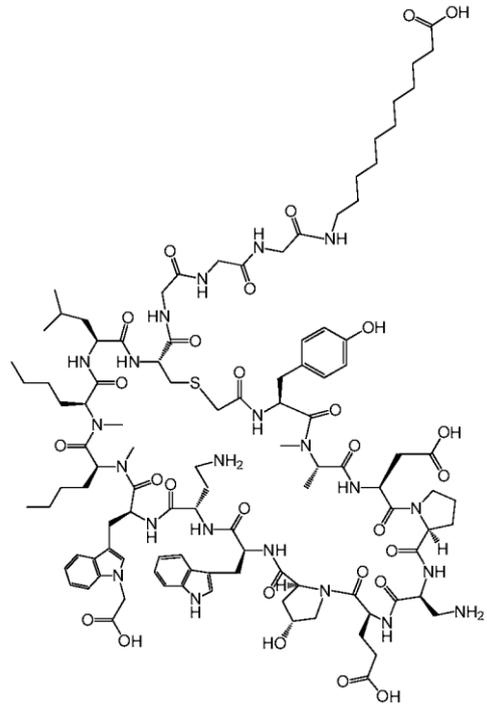
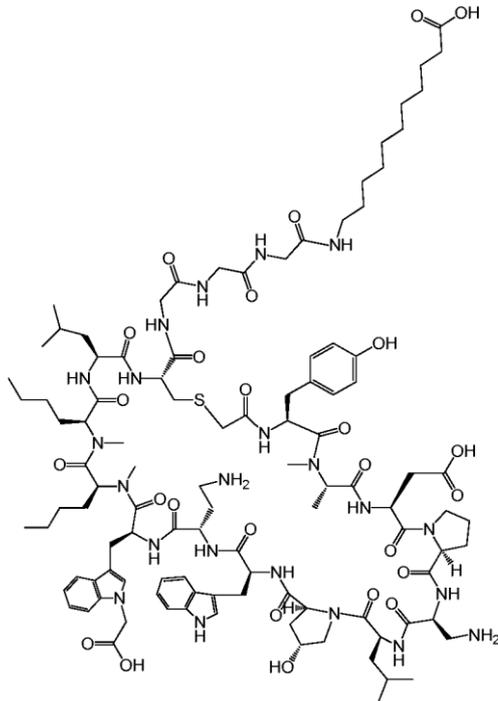


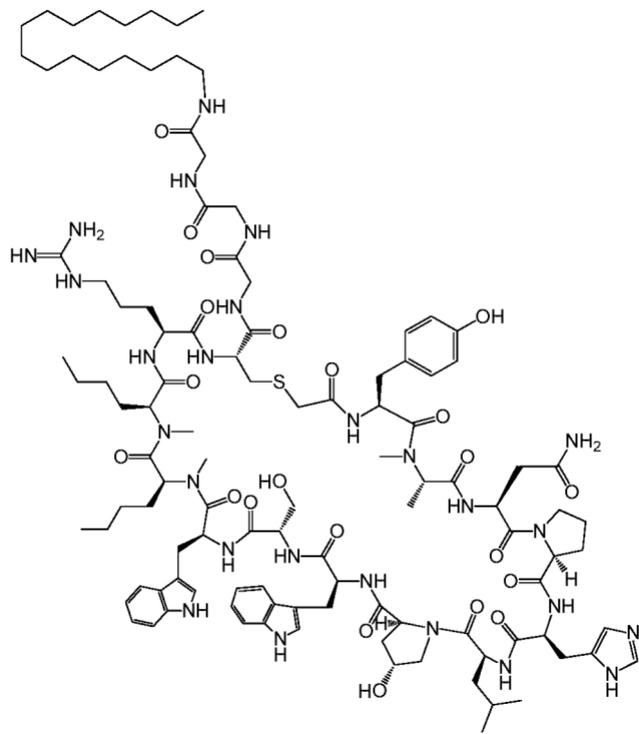
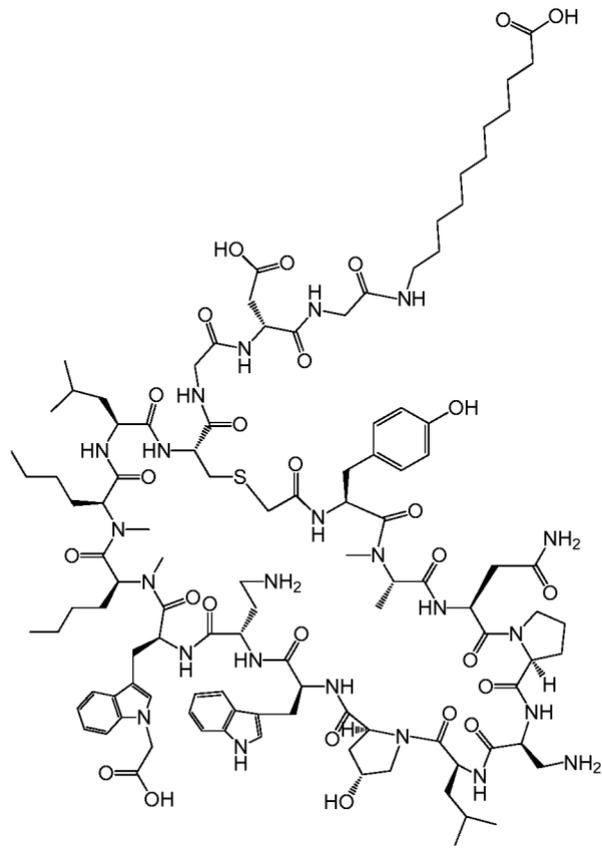
,

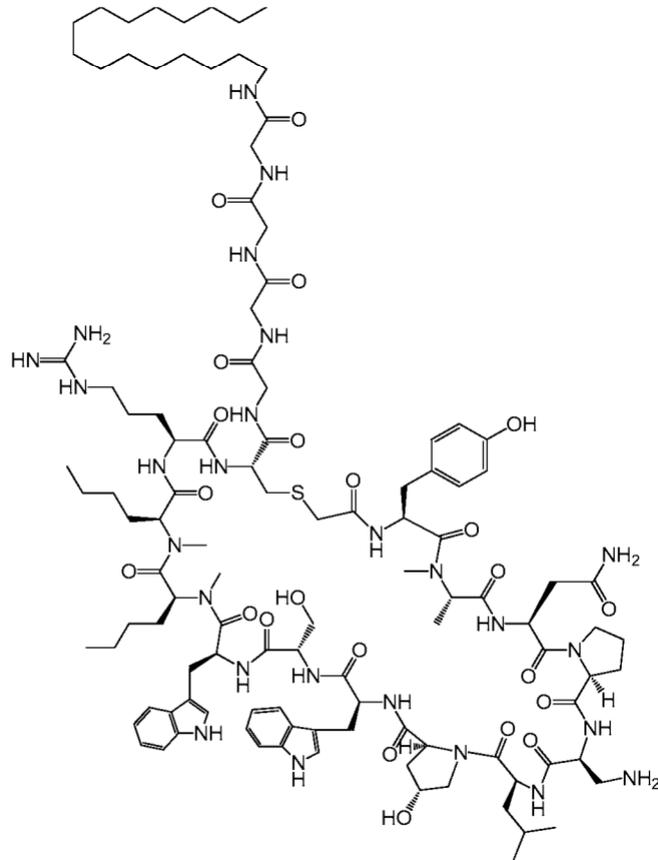
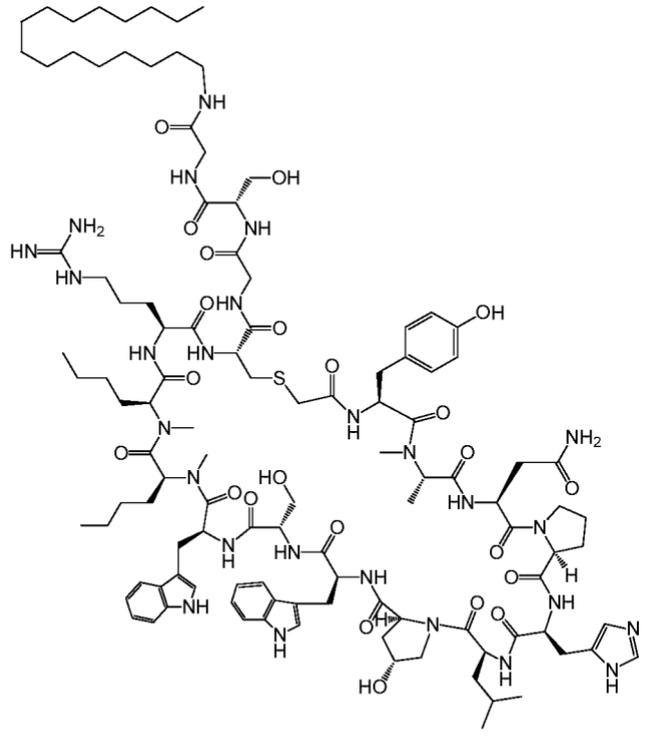


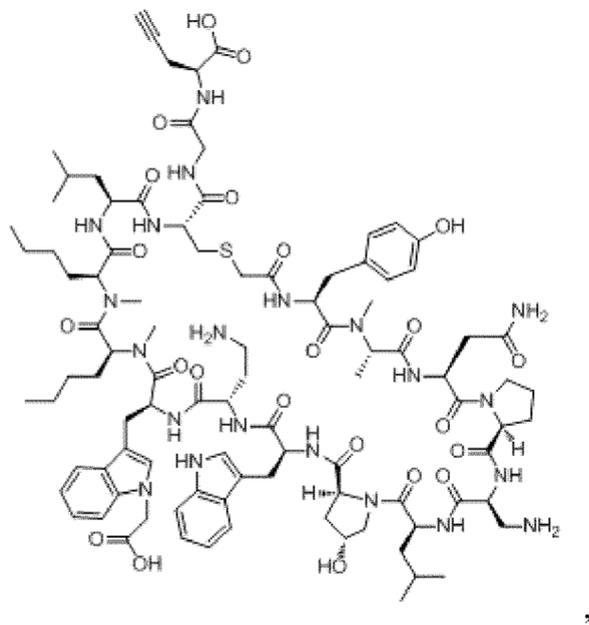
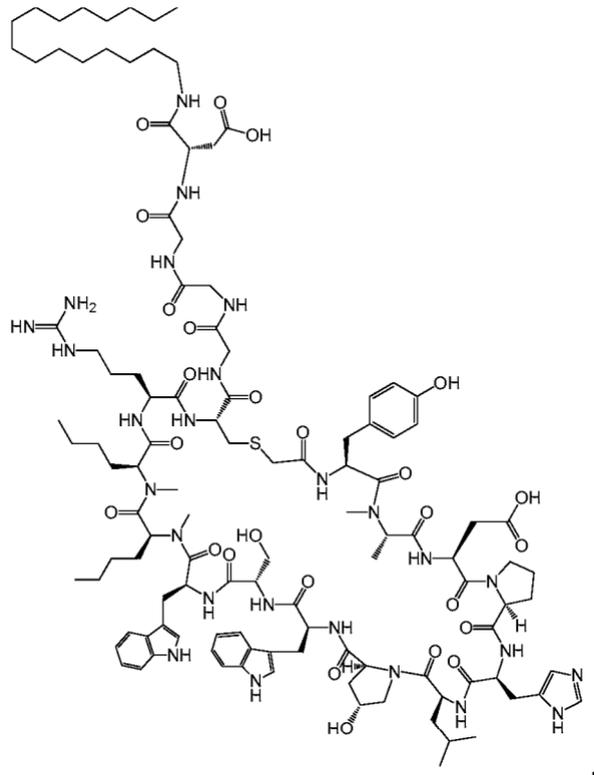
,

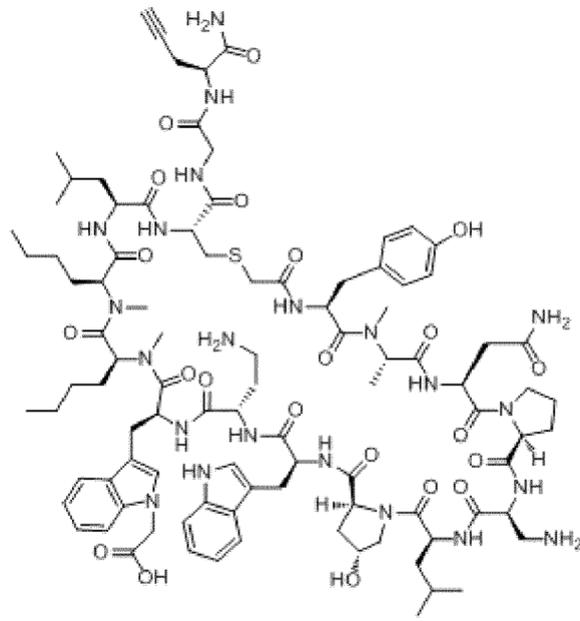
,



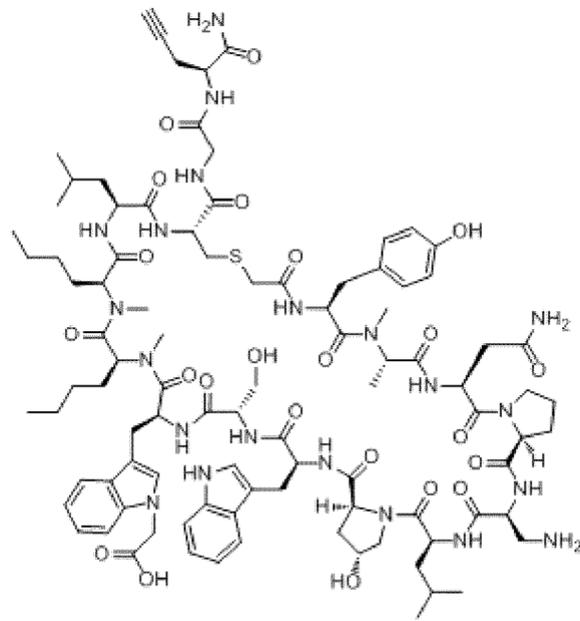








y

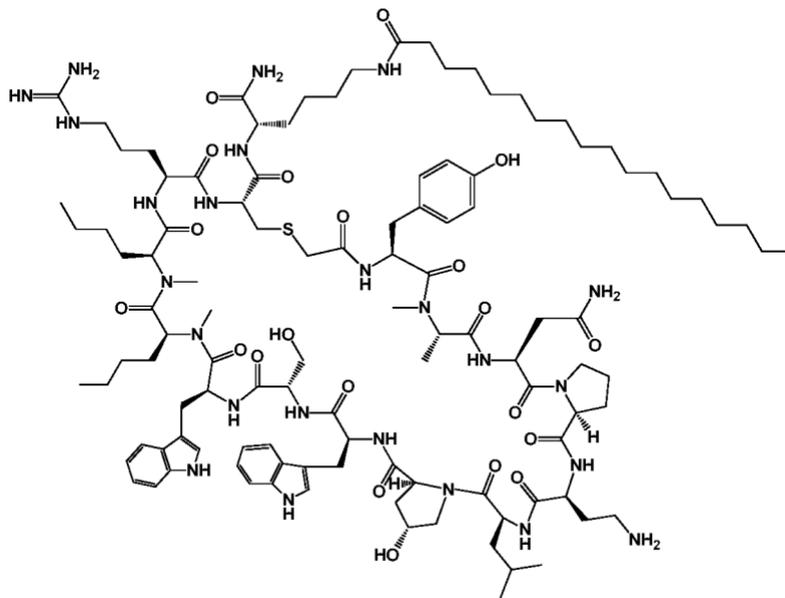
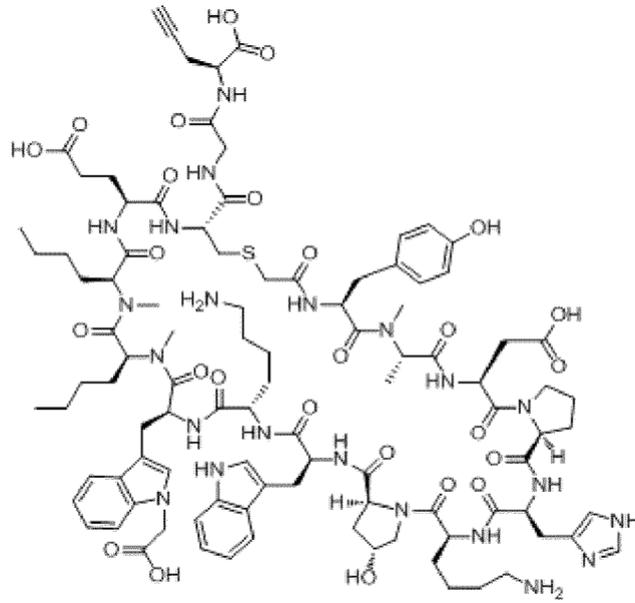


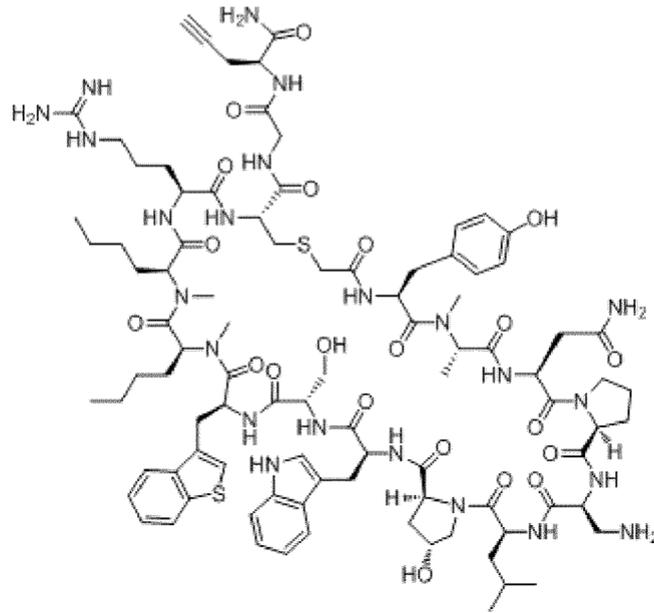
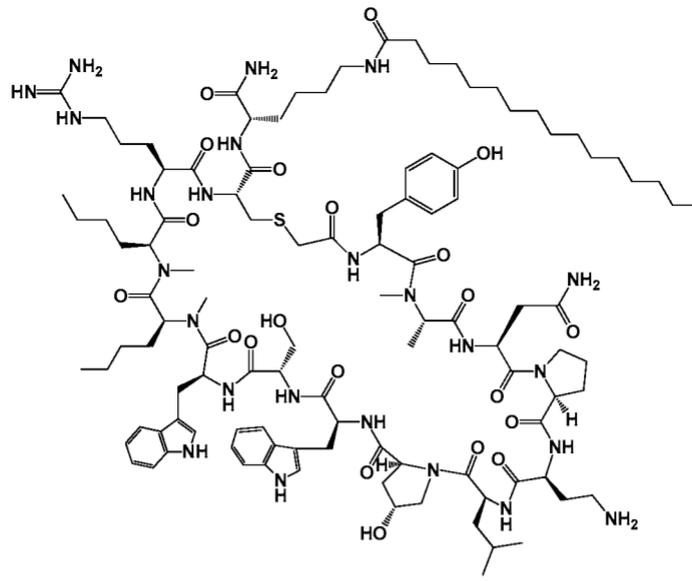
5

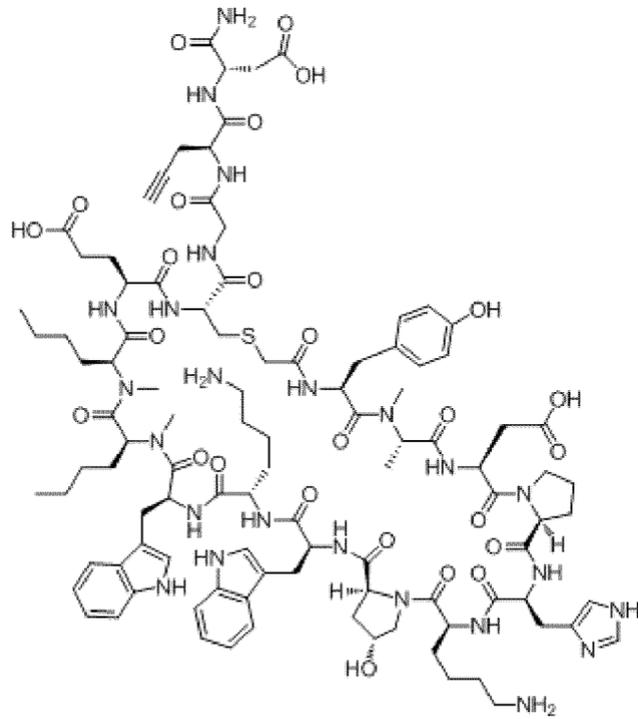
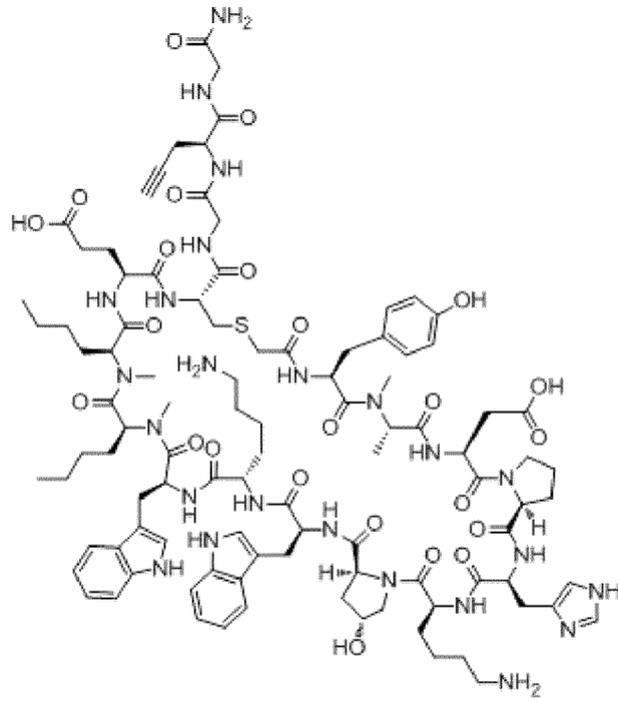
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

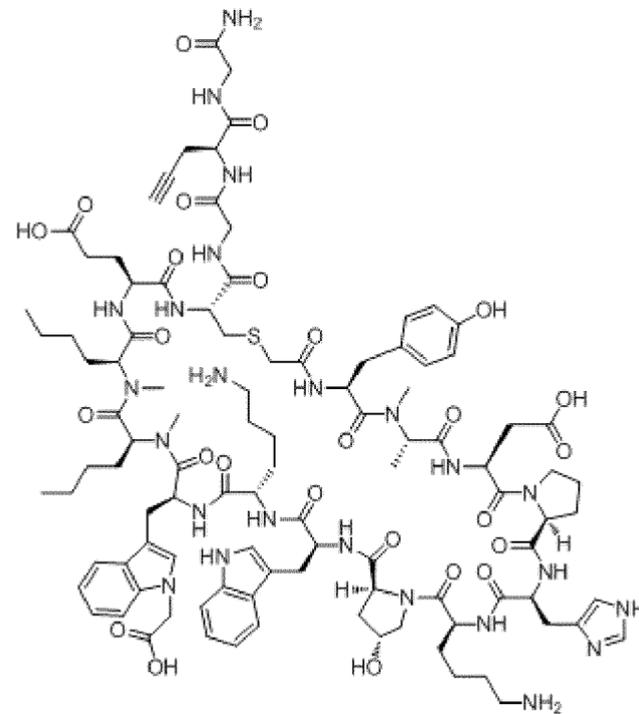
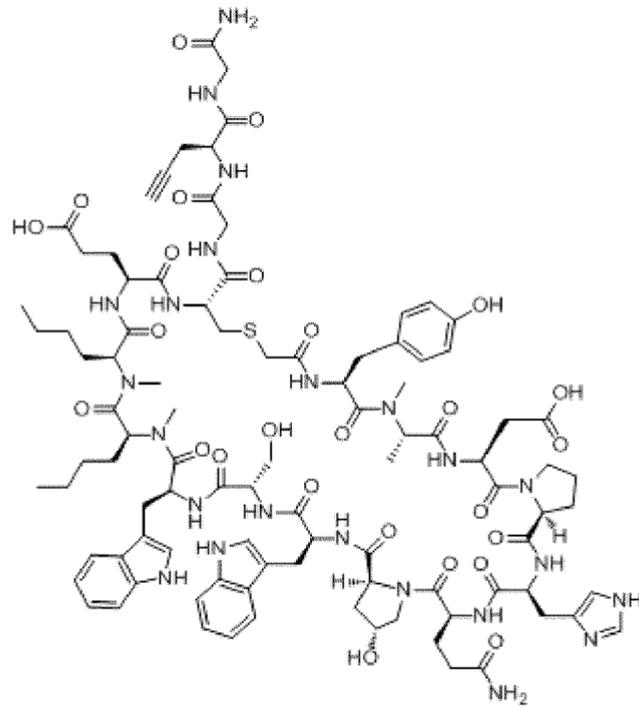
20. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:

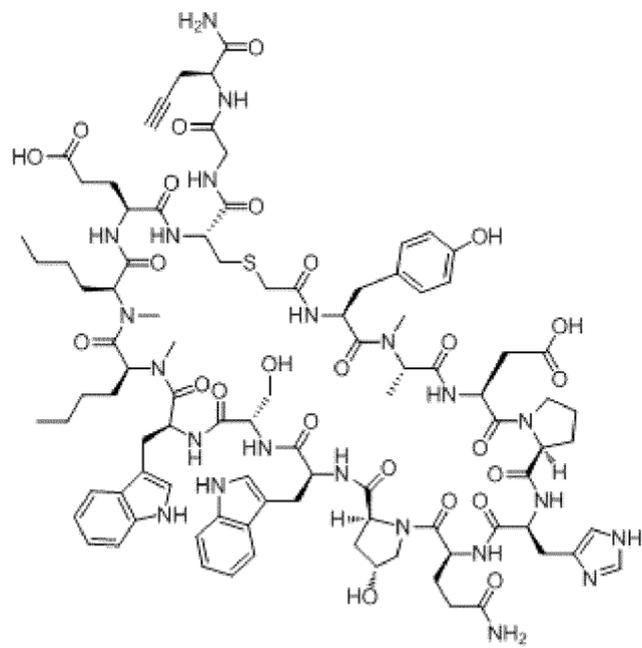
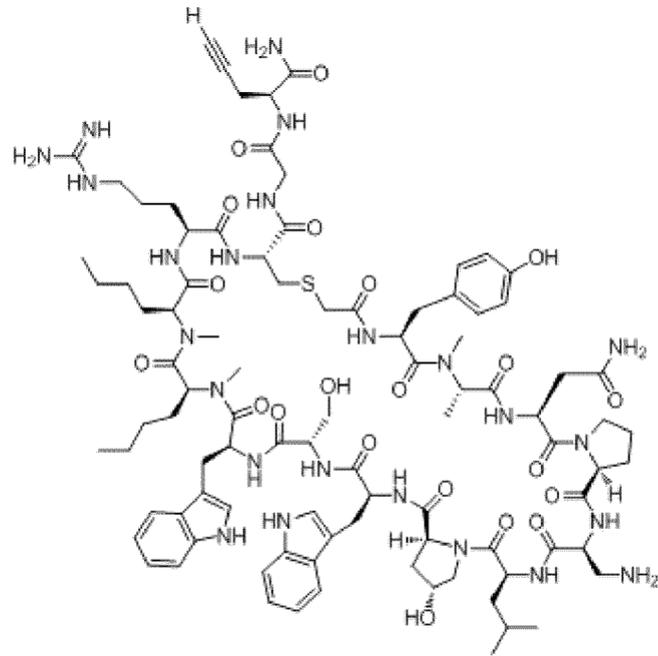
10

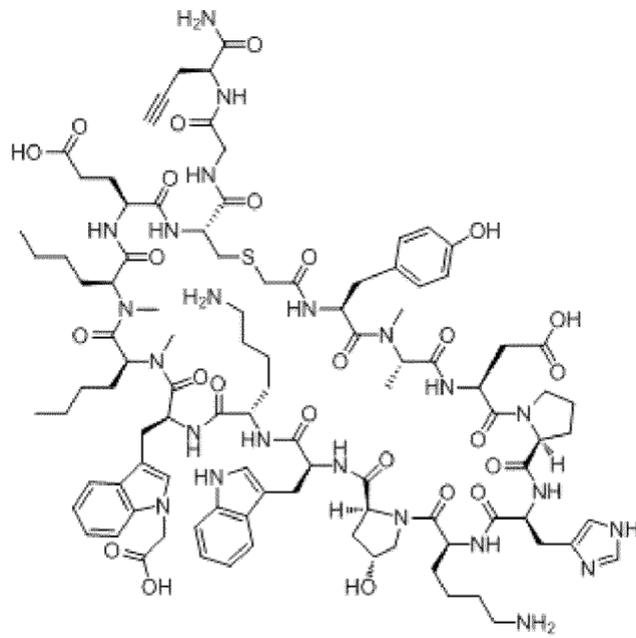
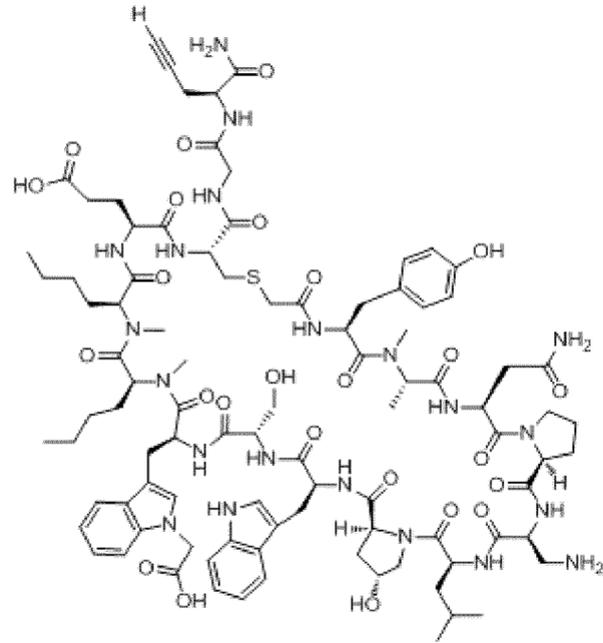


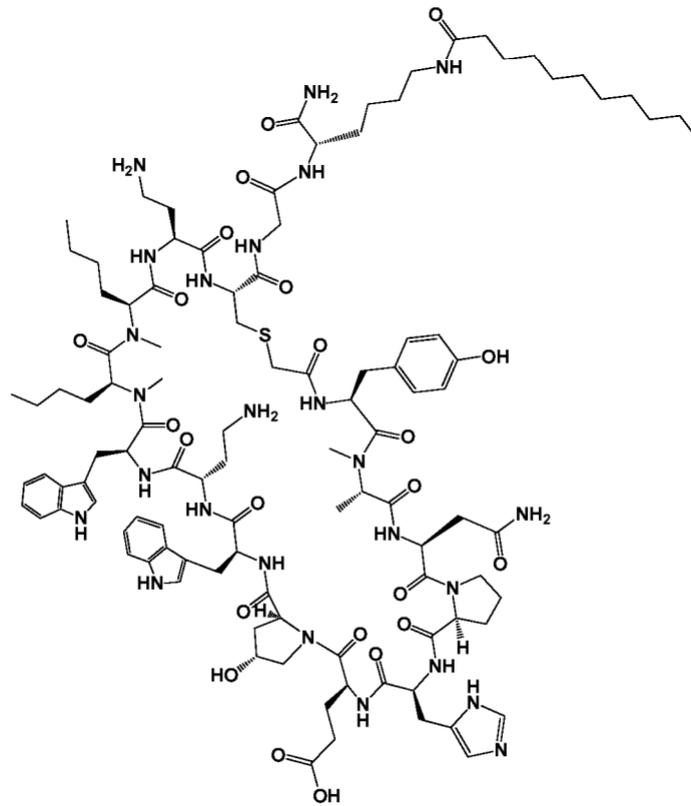
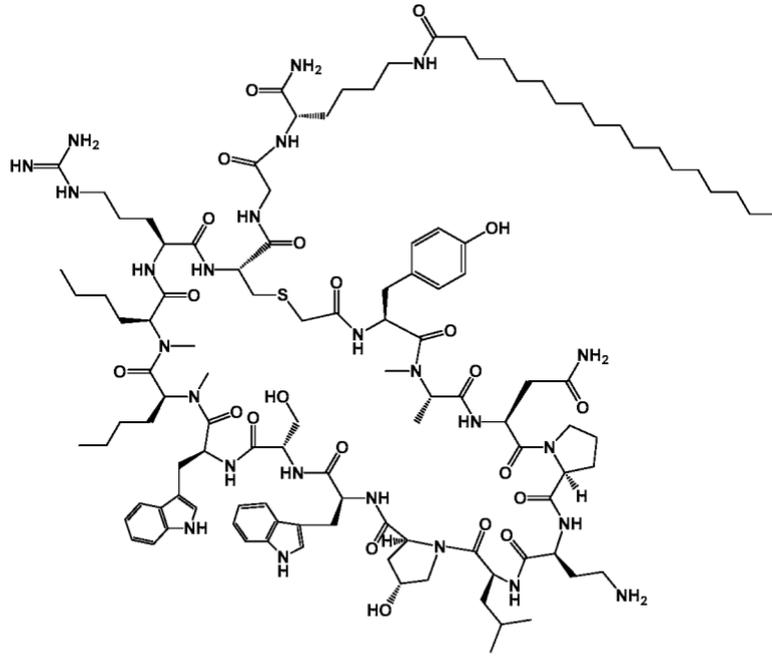


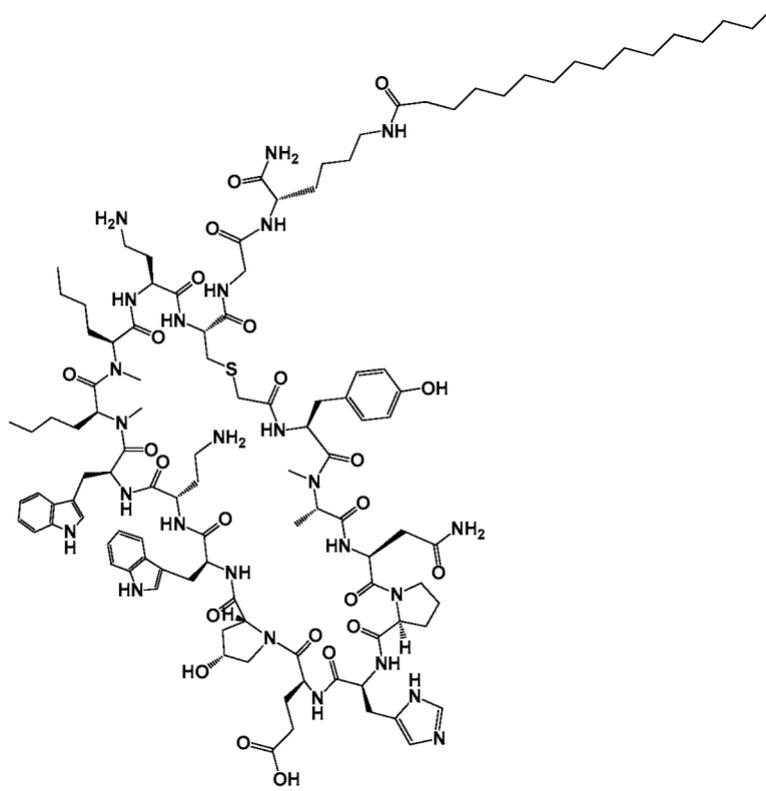




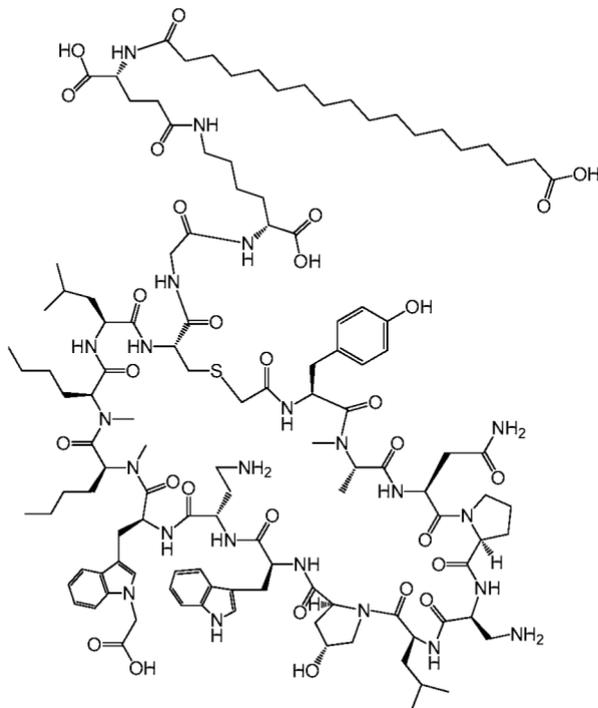




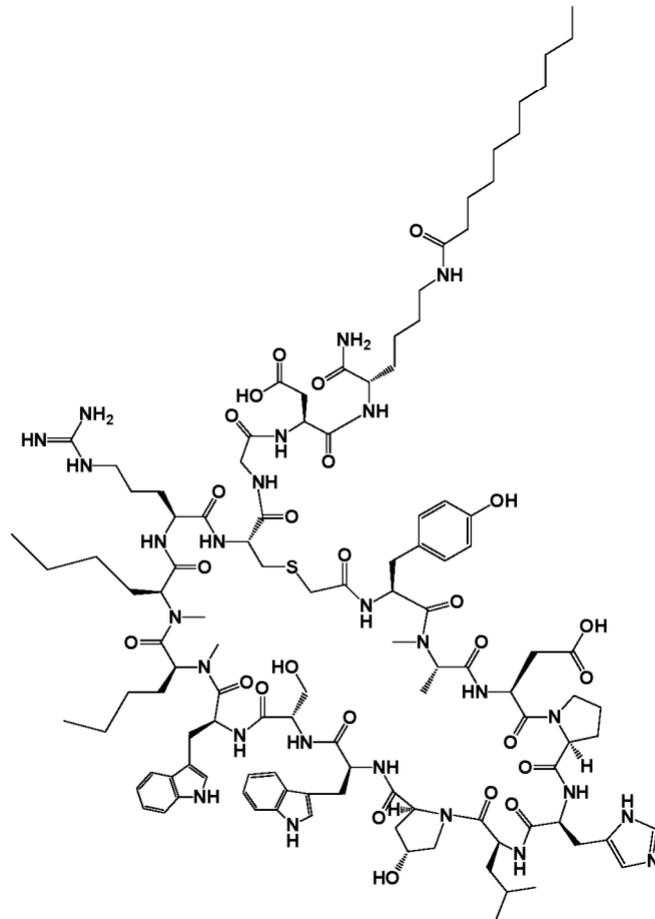
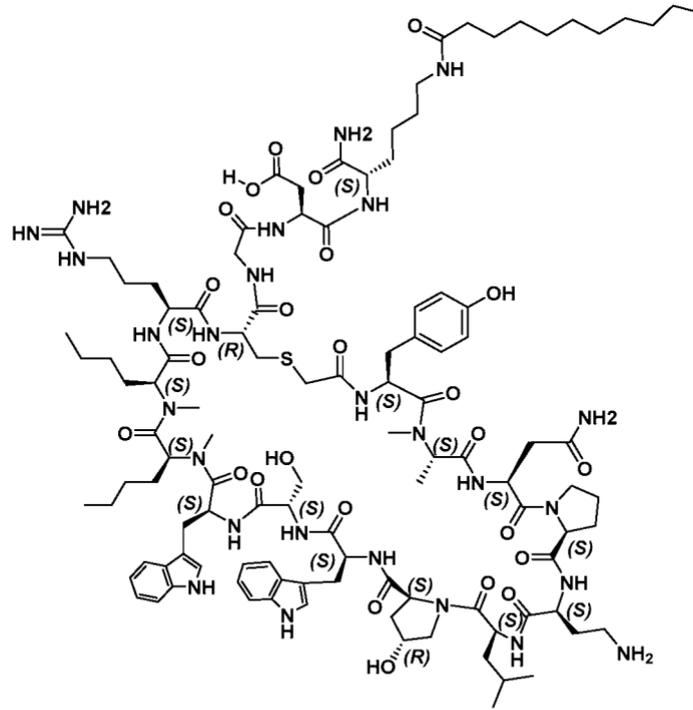


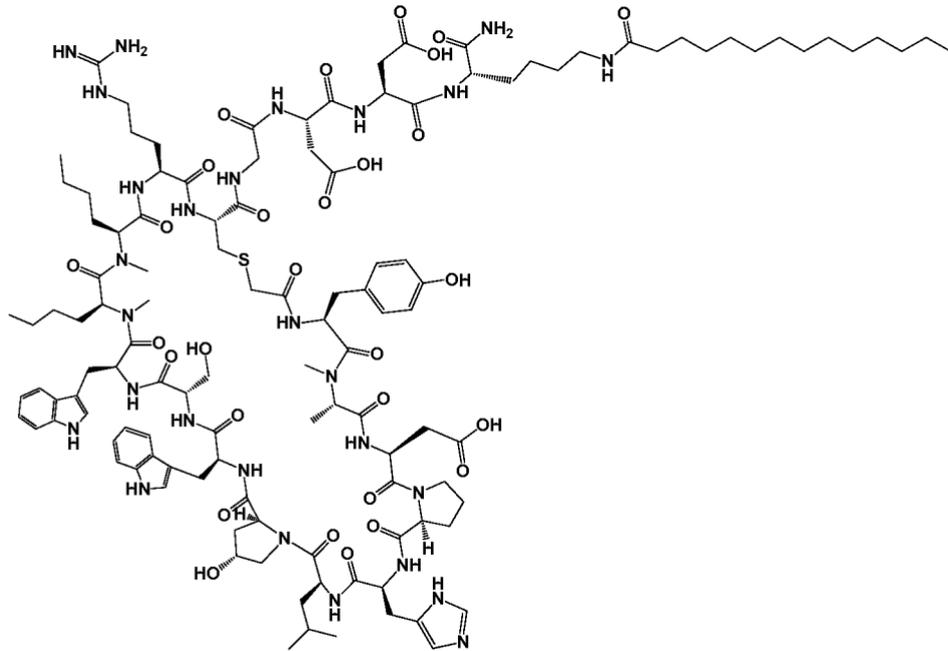


,

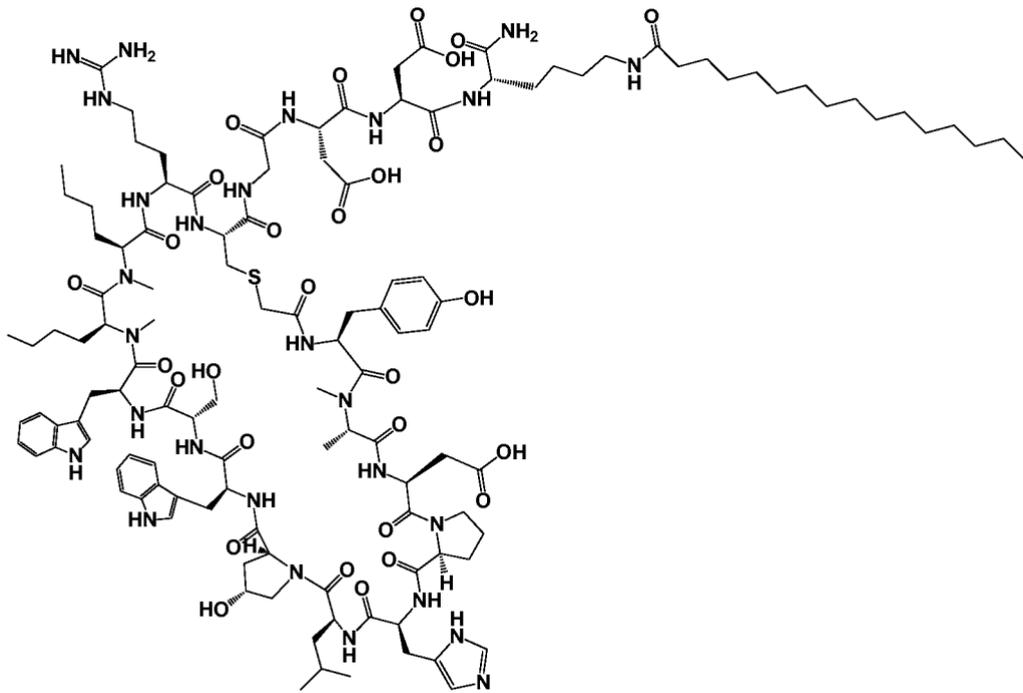


,

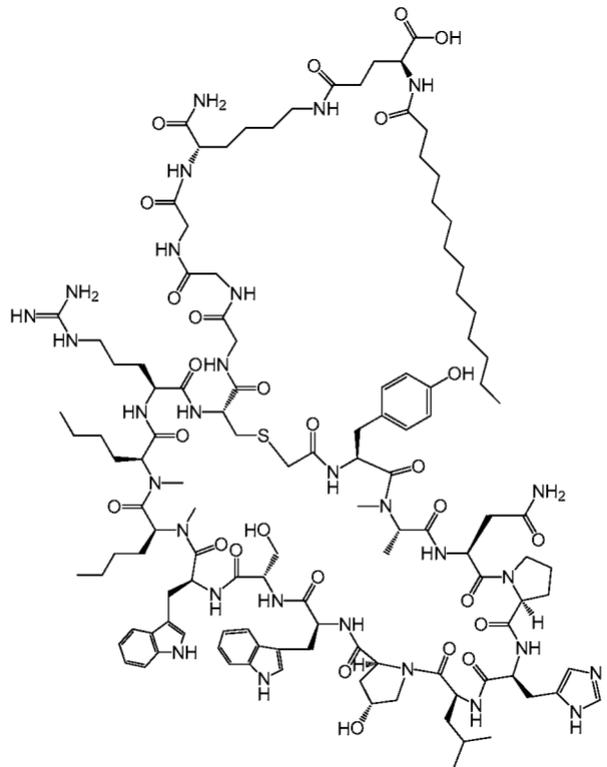
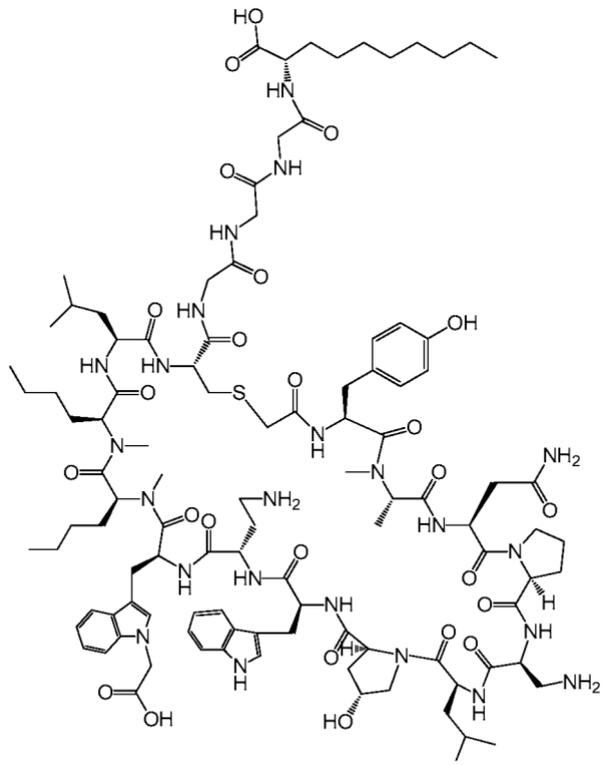


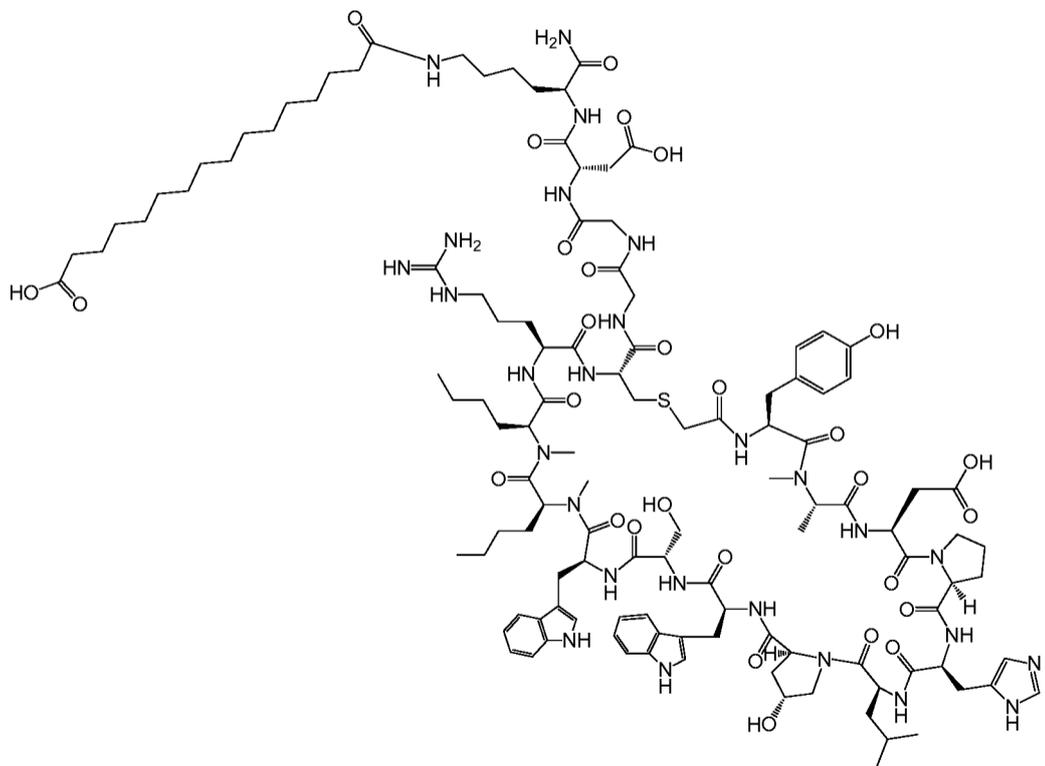
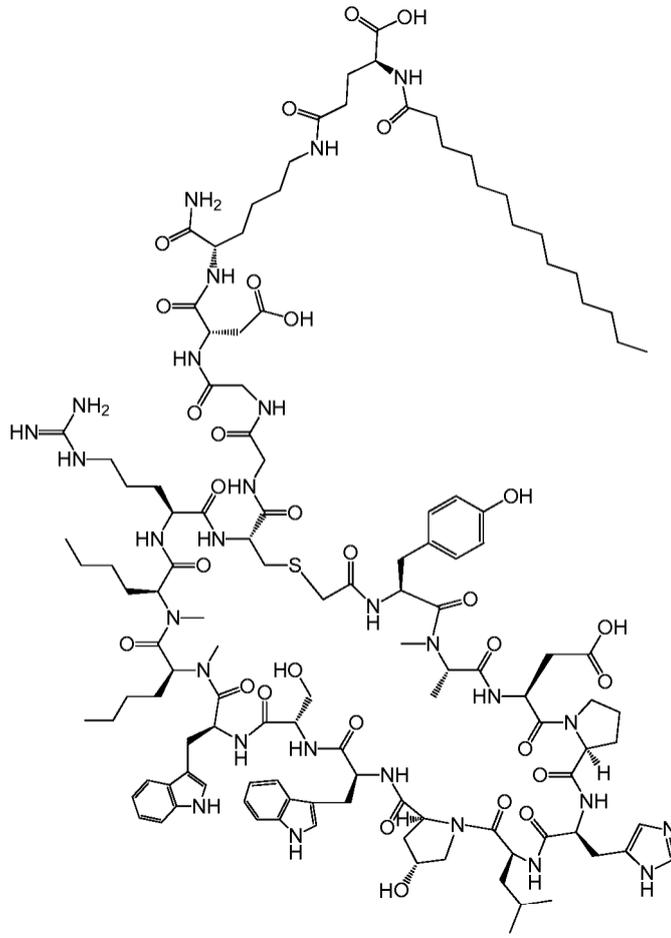


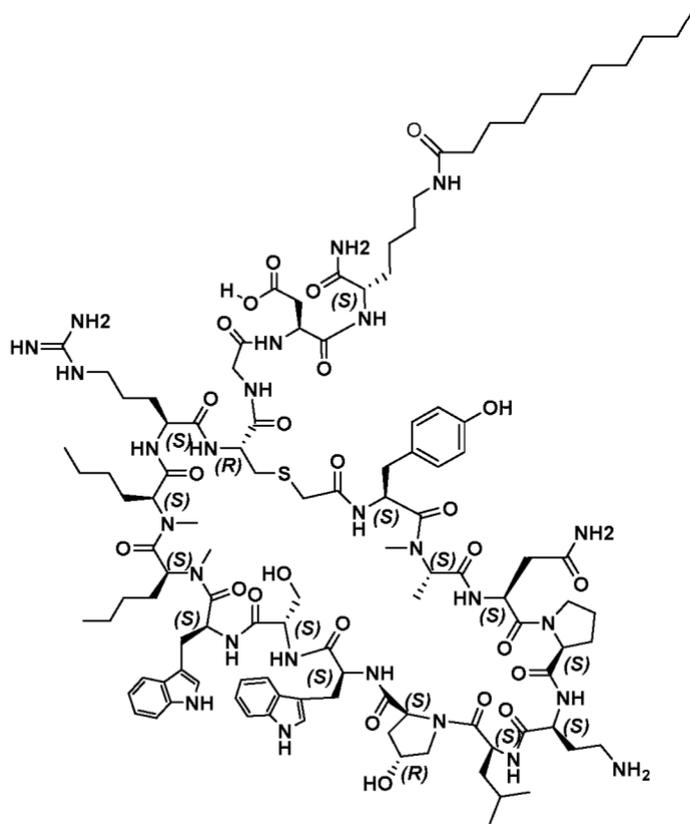
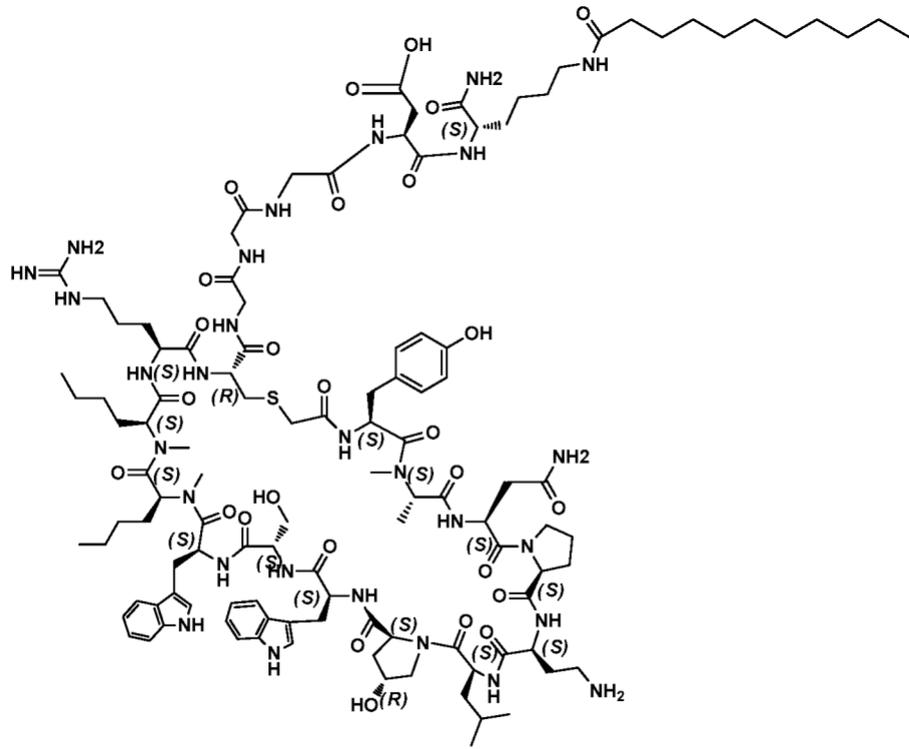
,

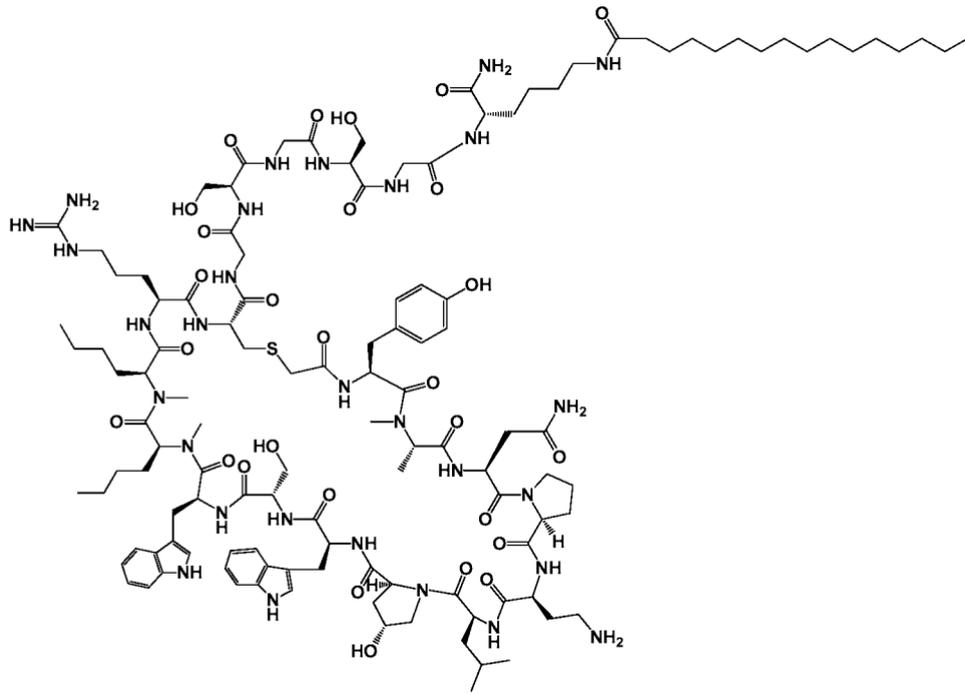


,

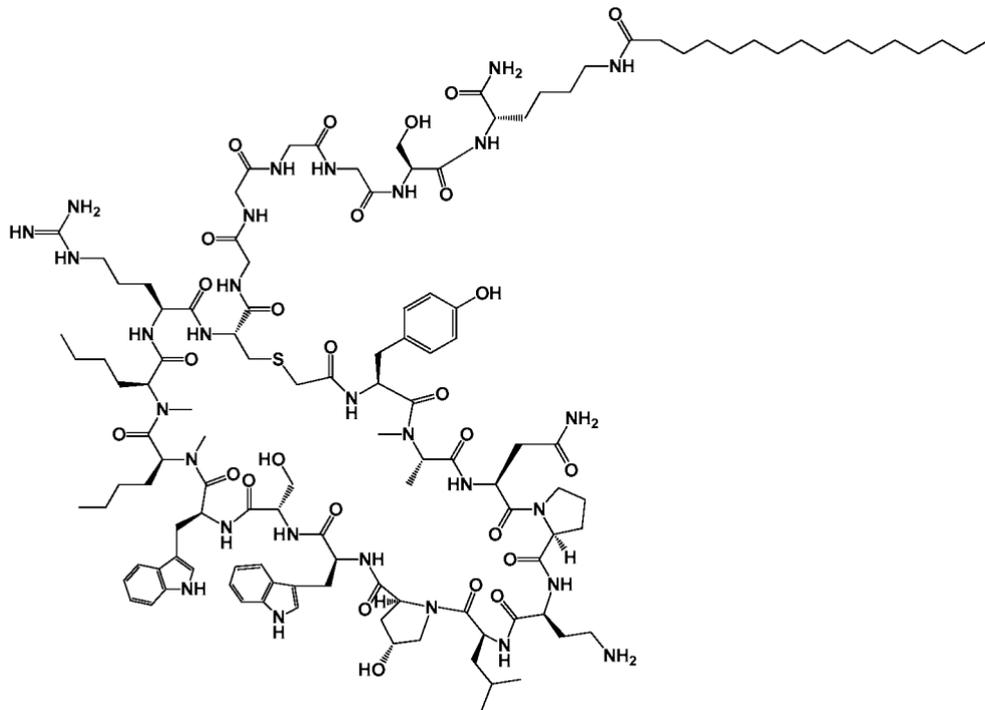




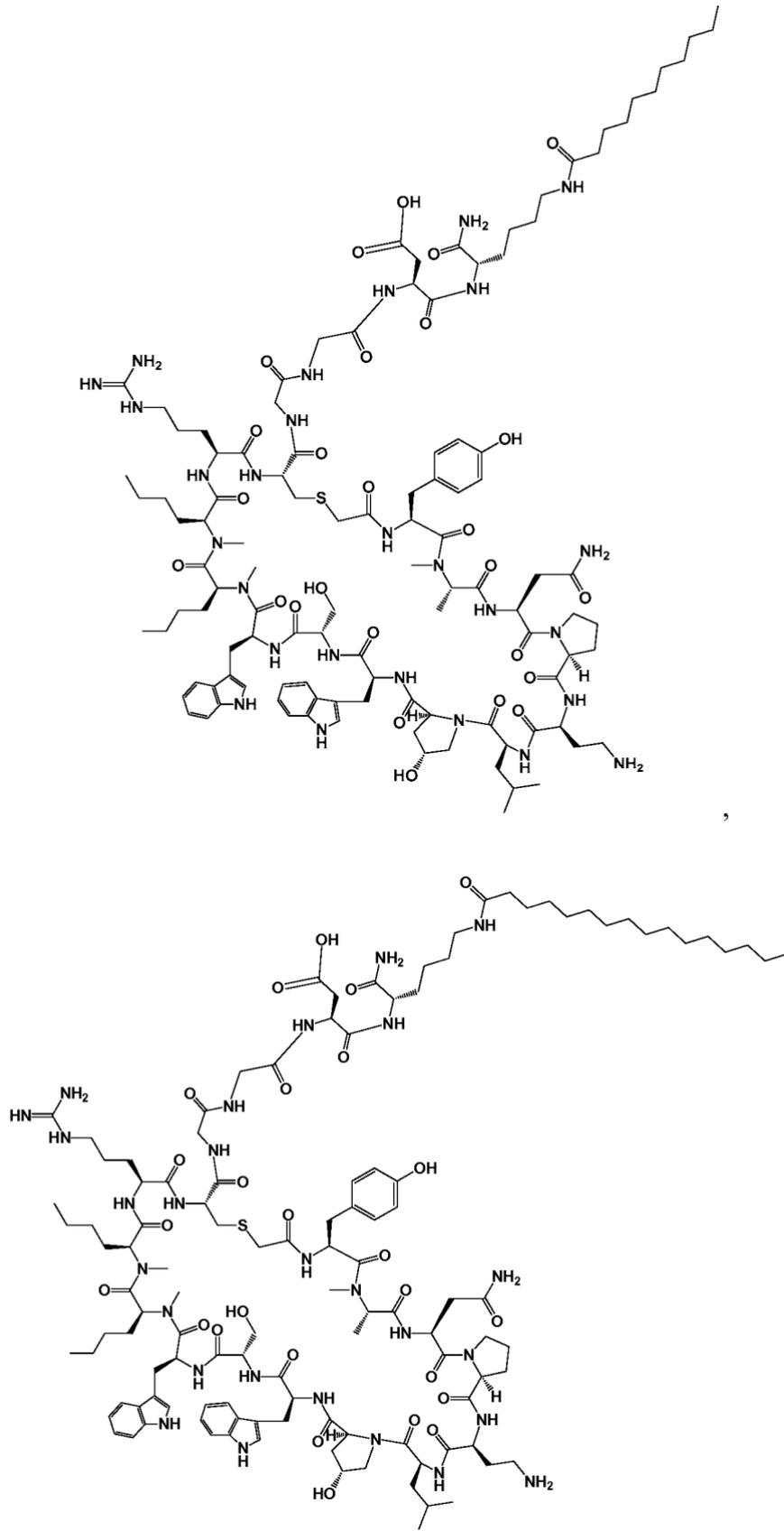


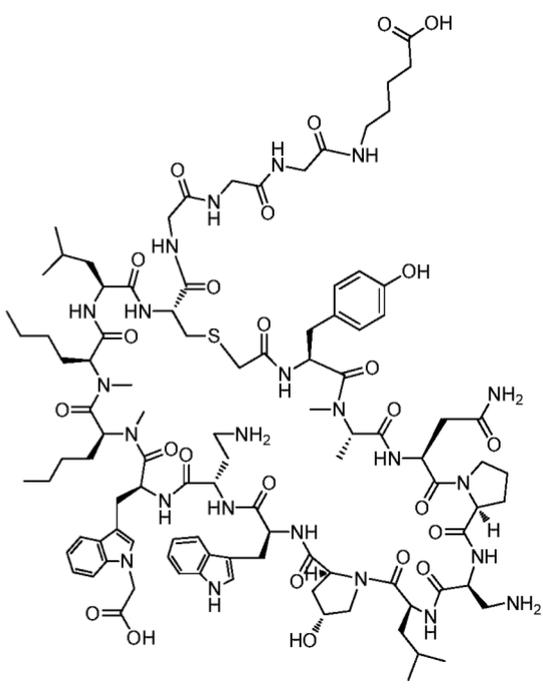
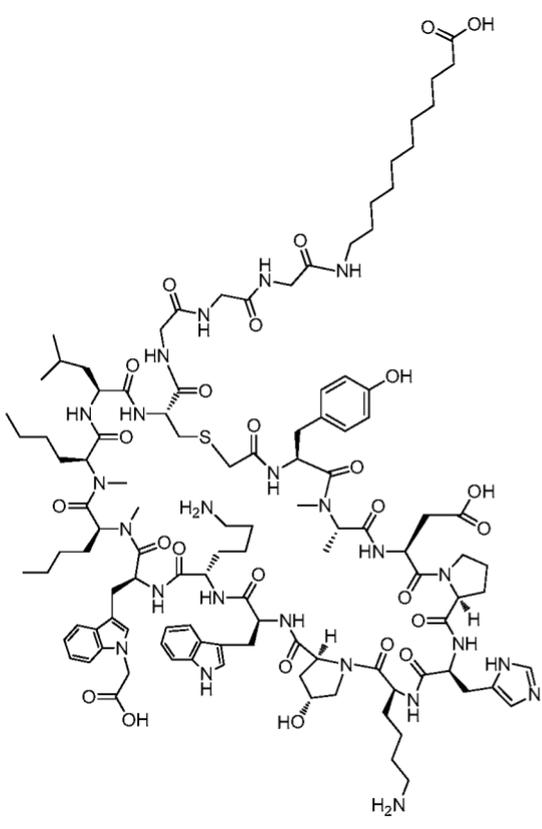
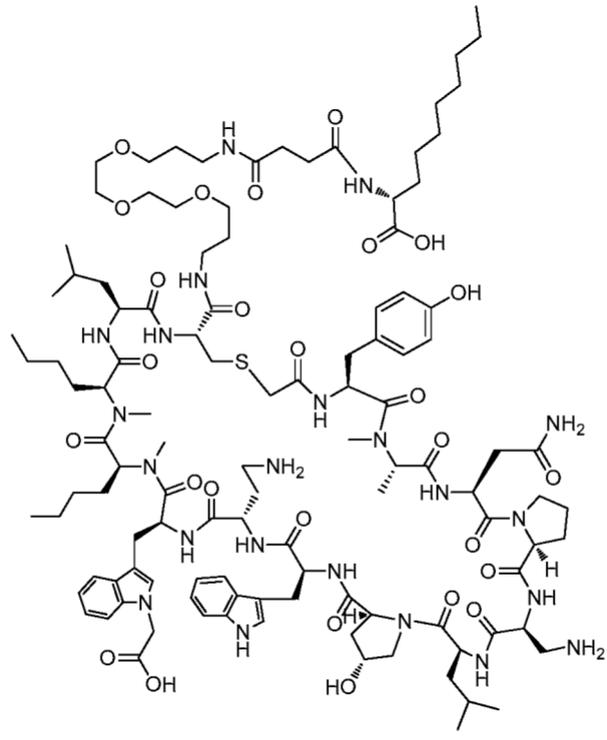


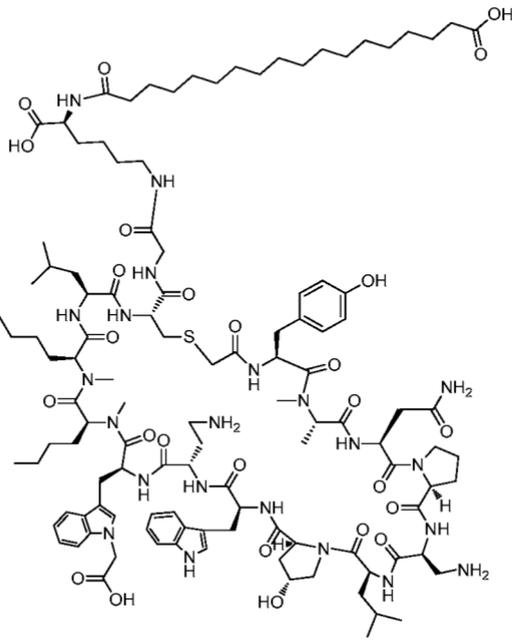
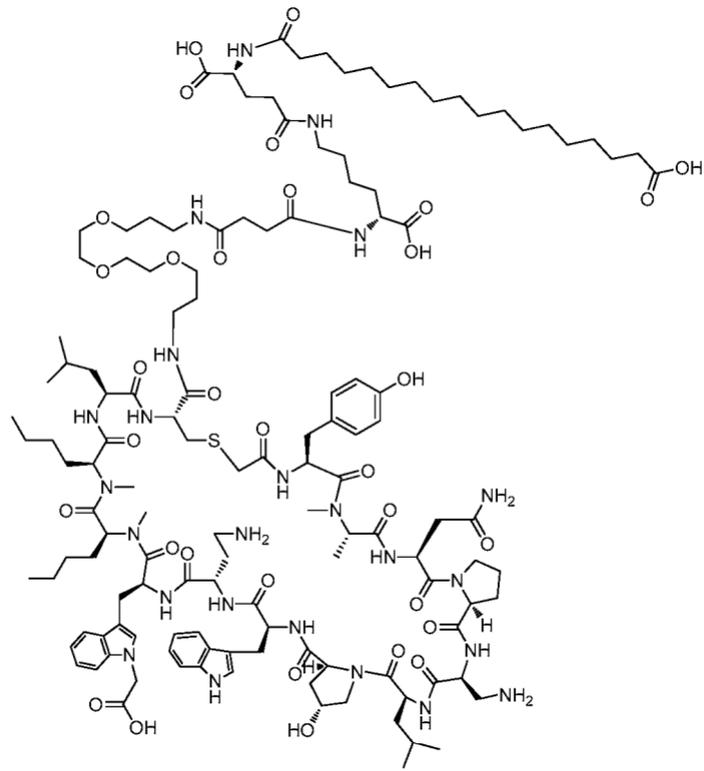
5



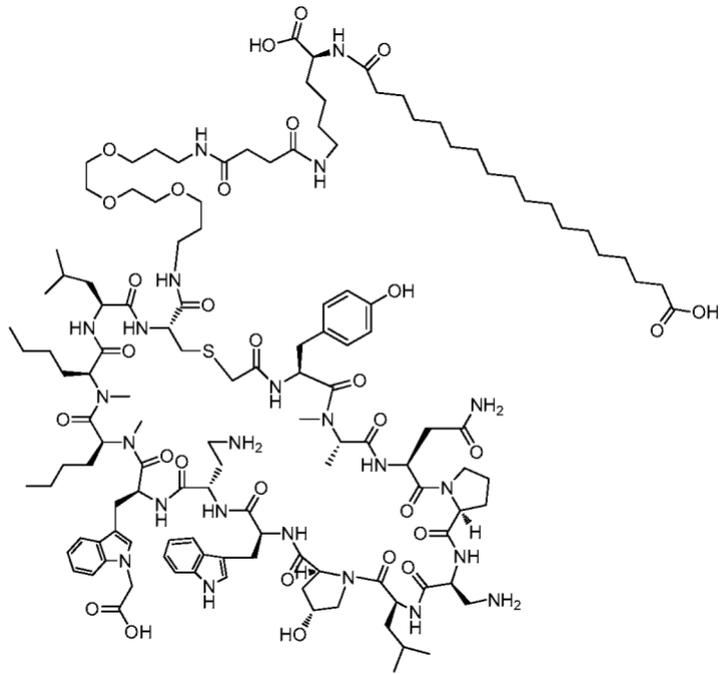
5







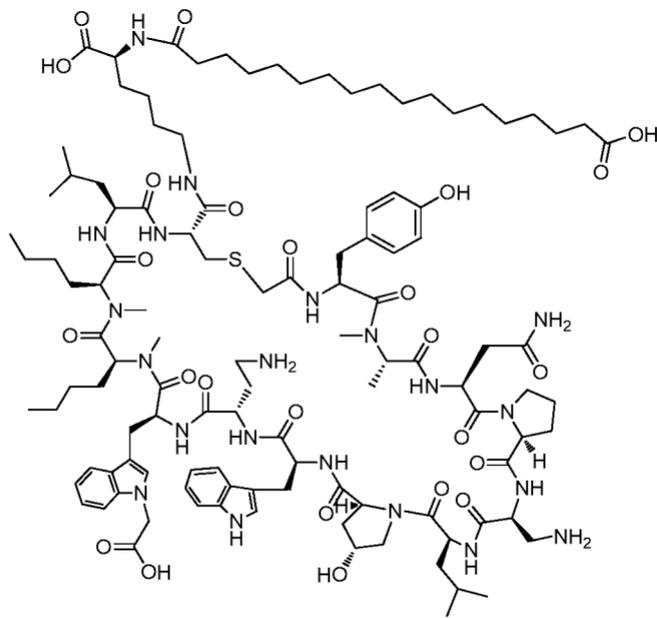
y



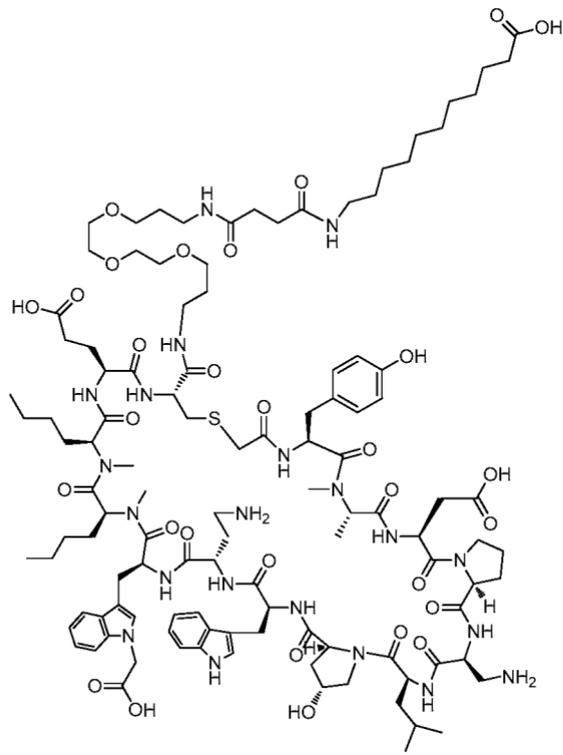
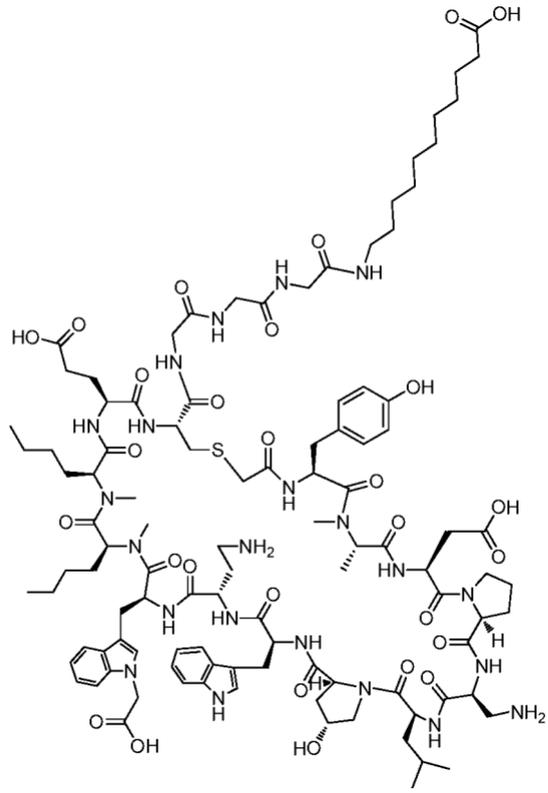
;

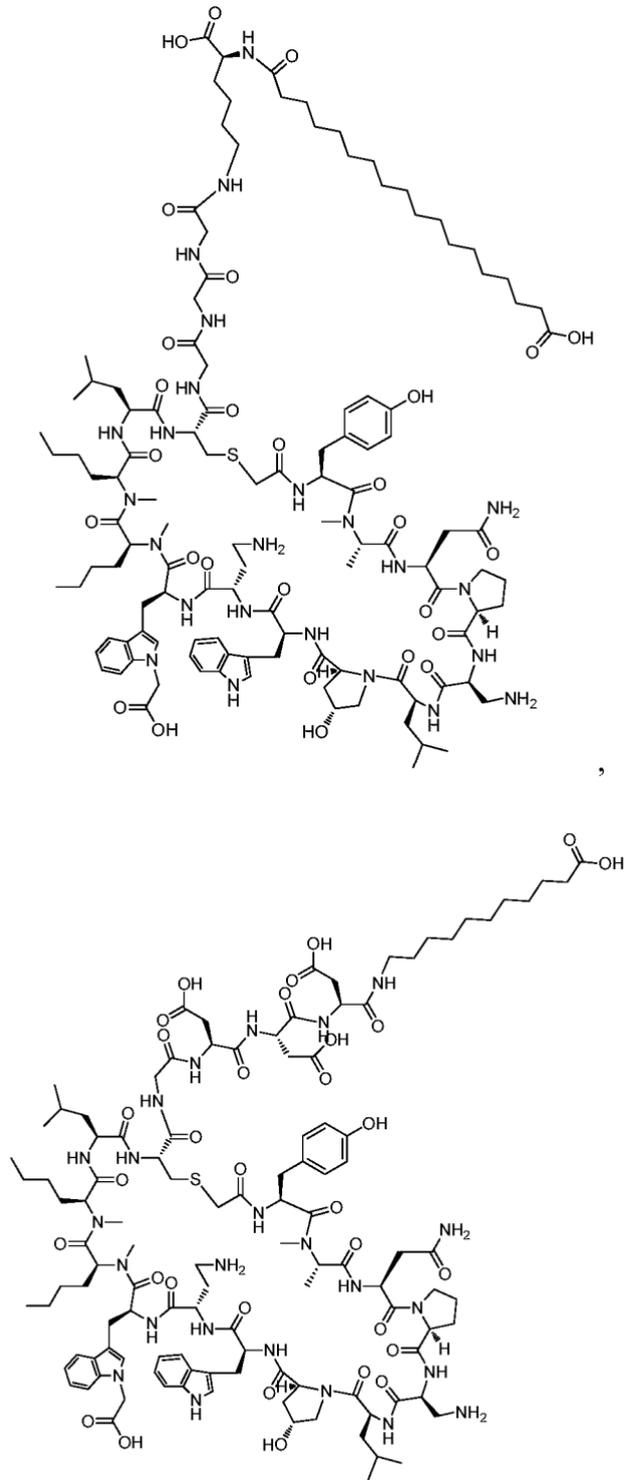
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

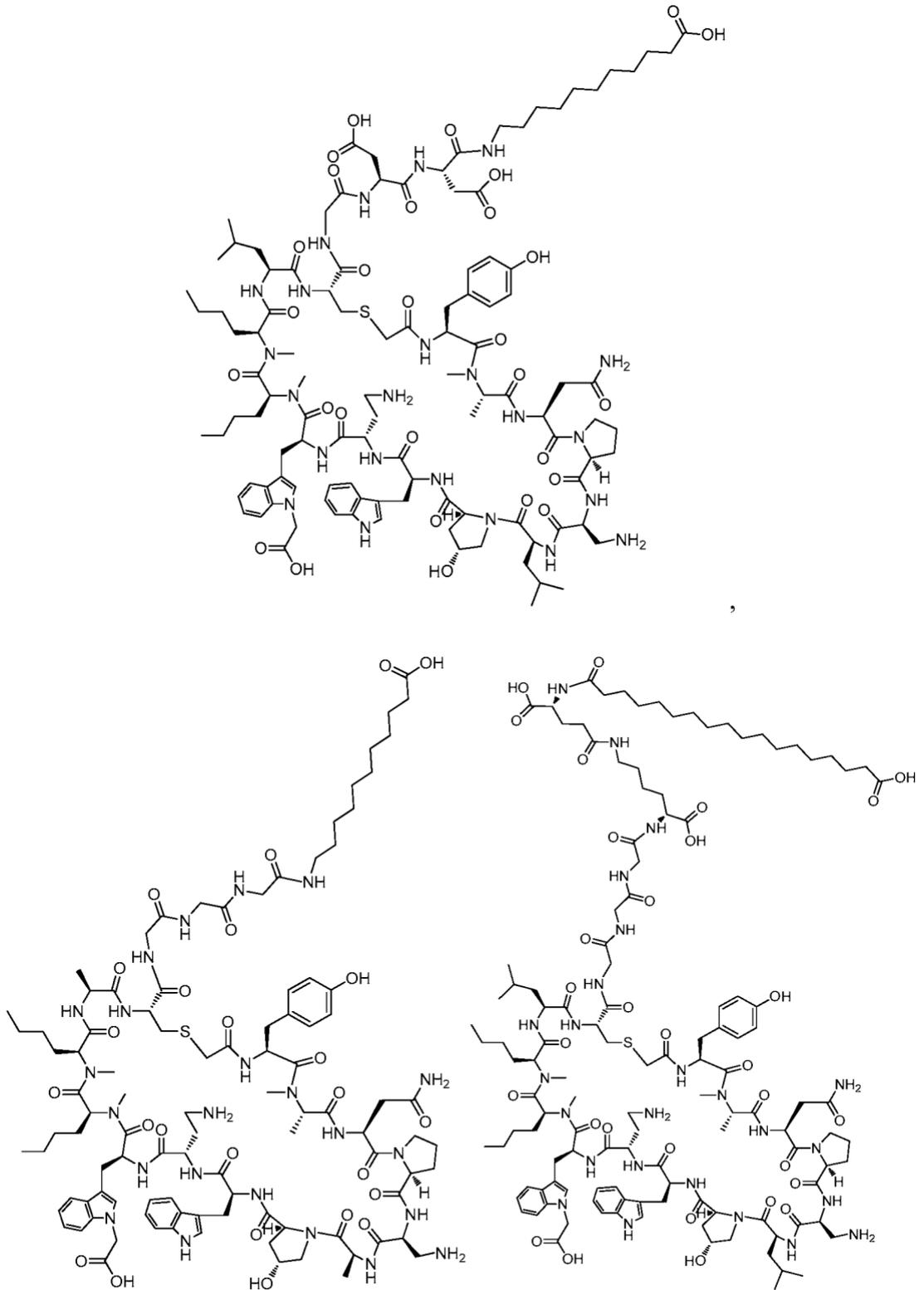
5 21. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:

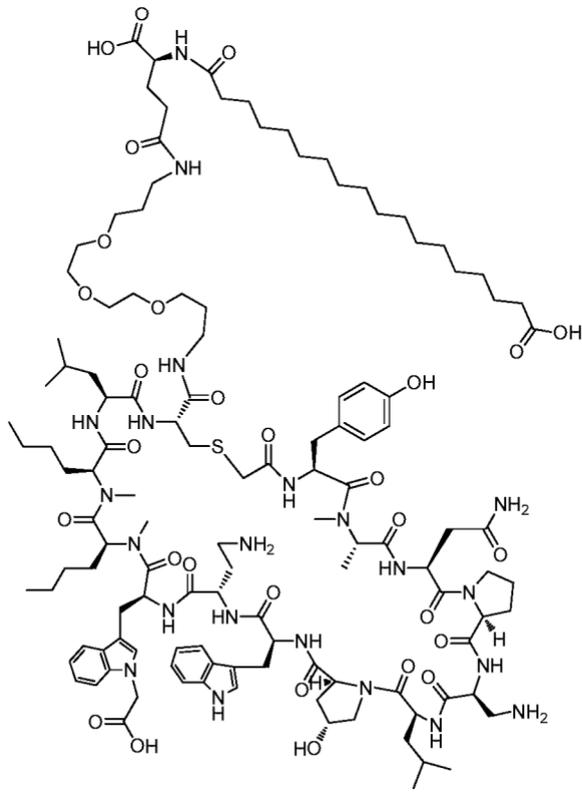
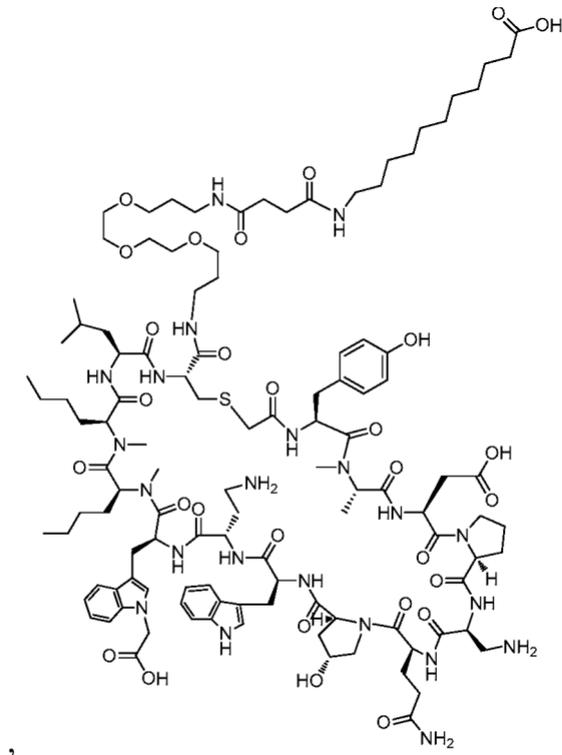


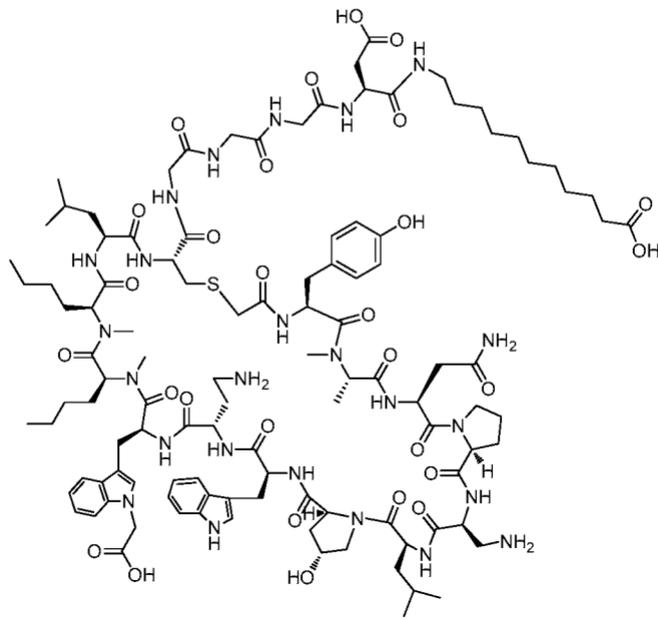
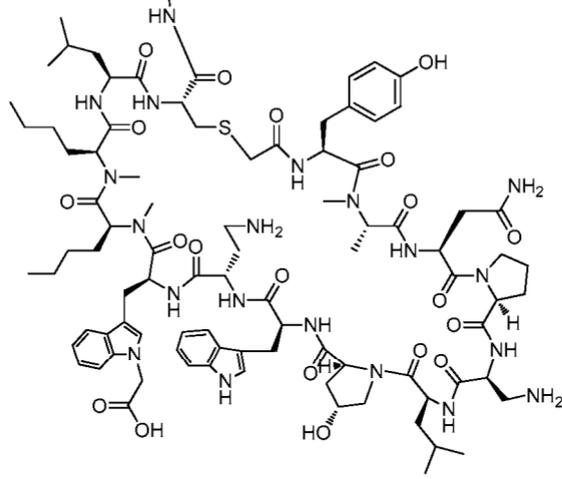
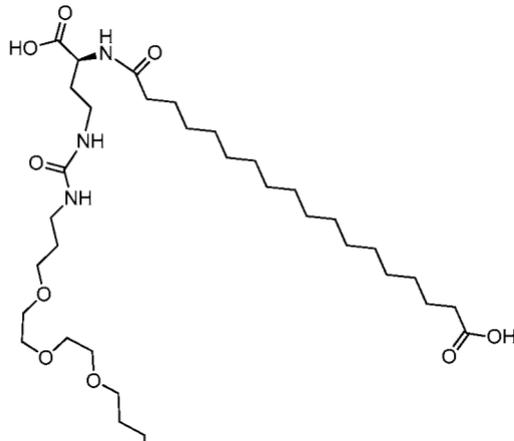
,

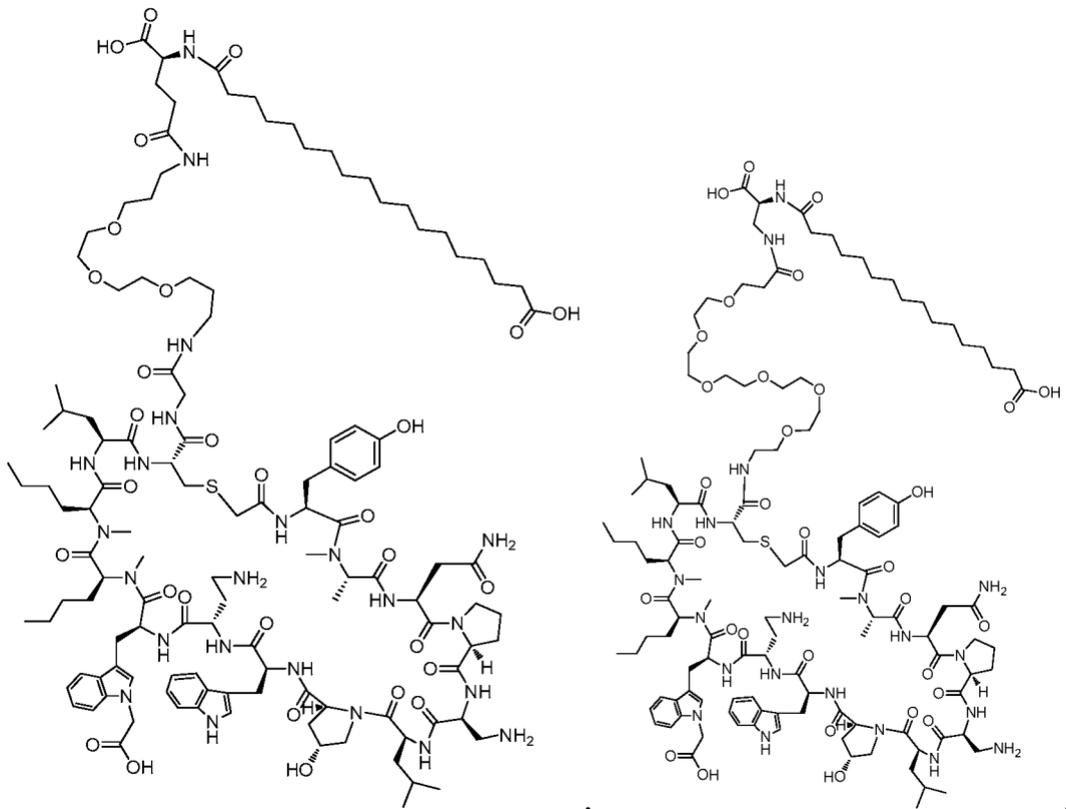
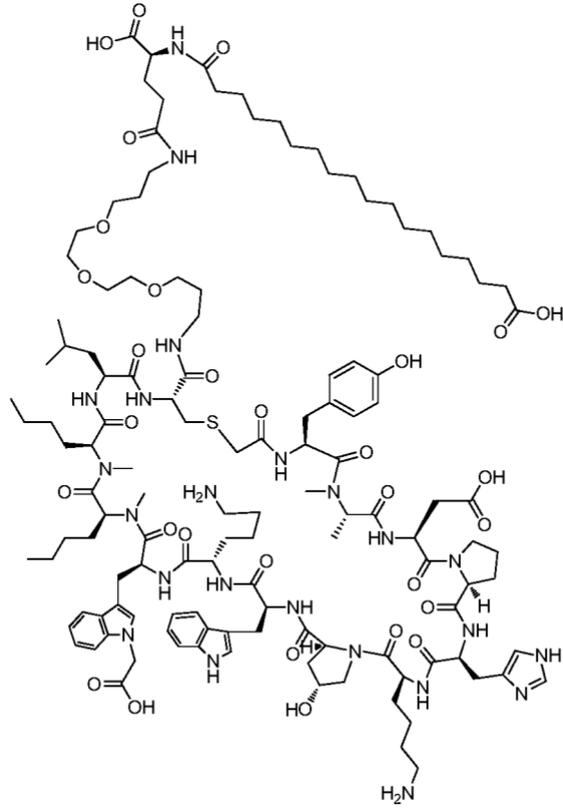


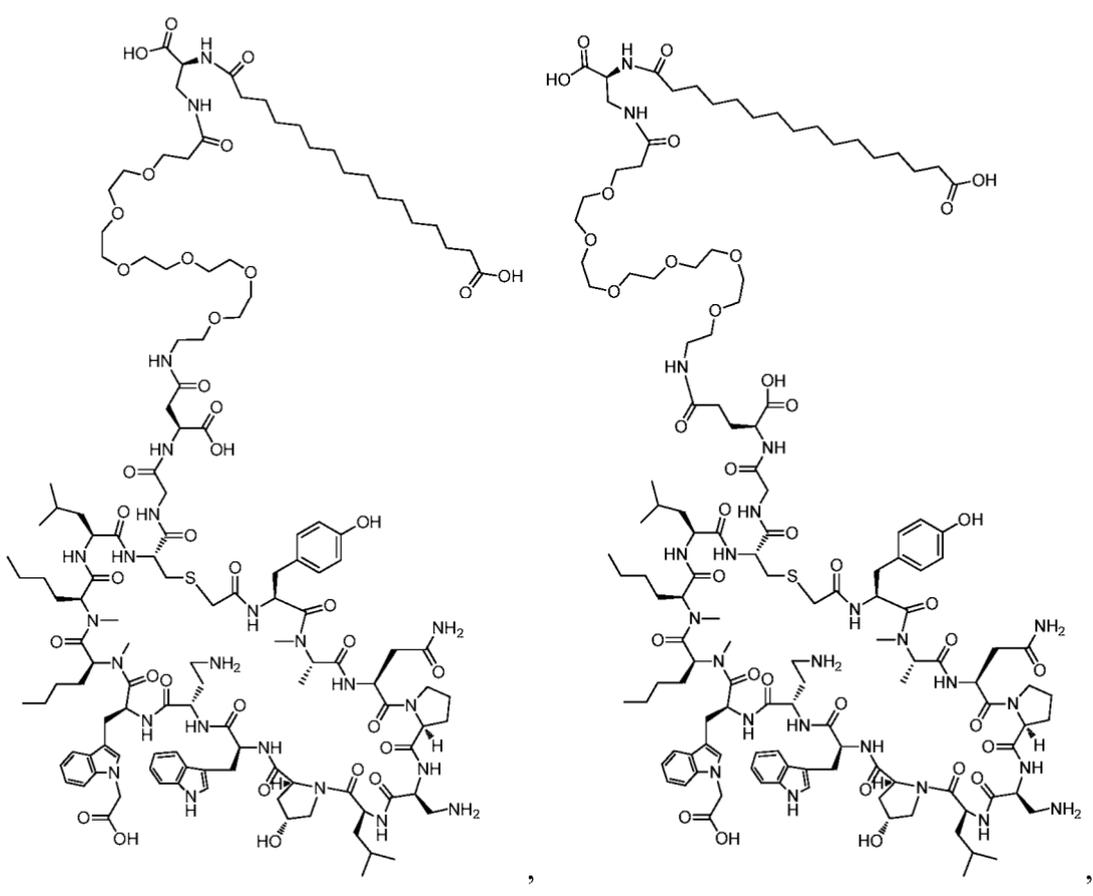
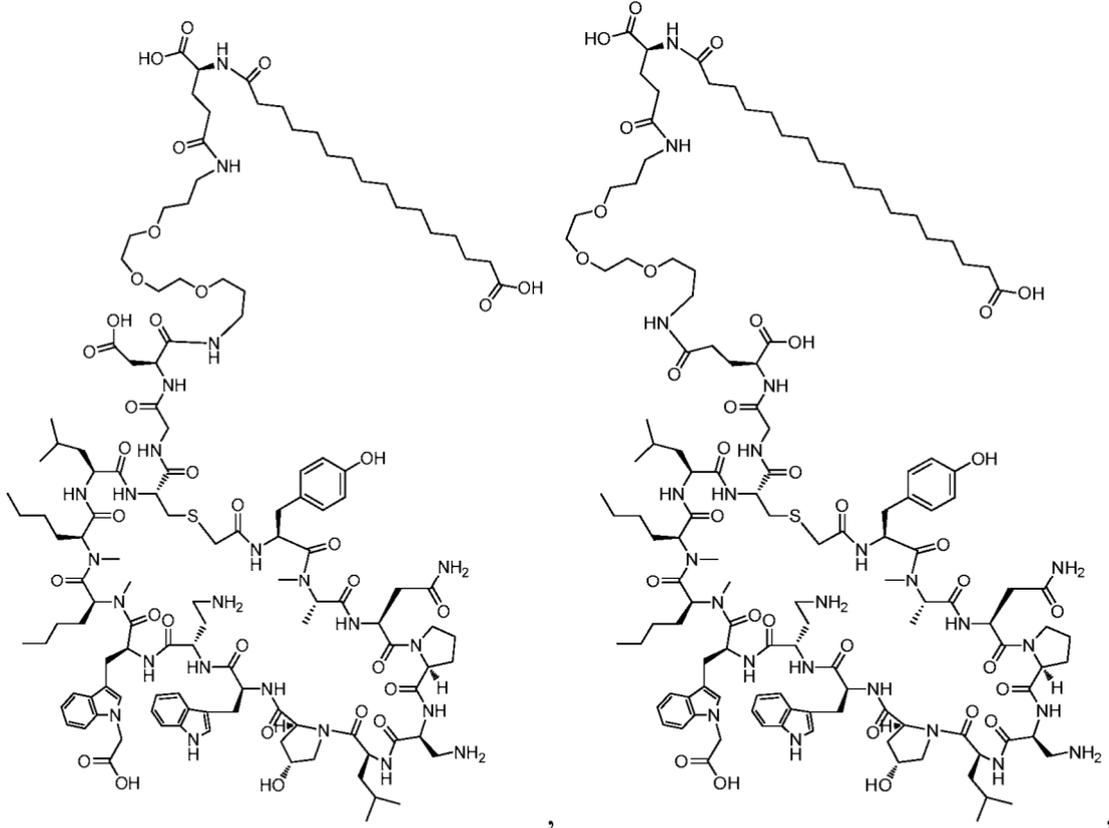


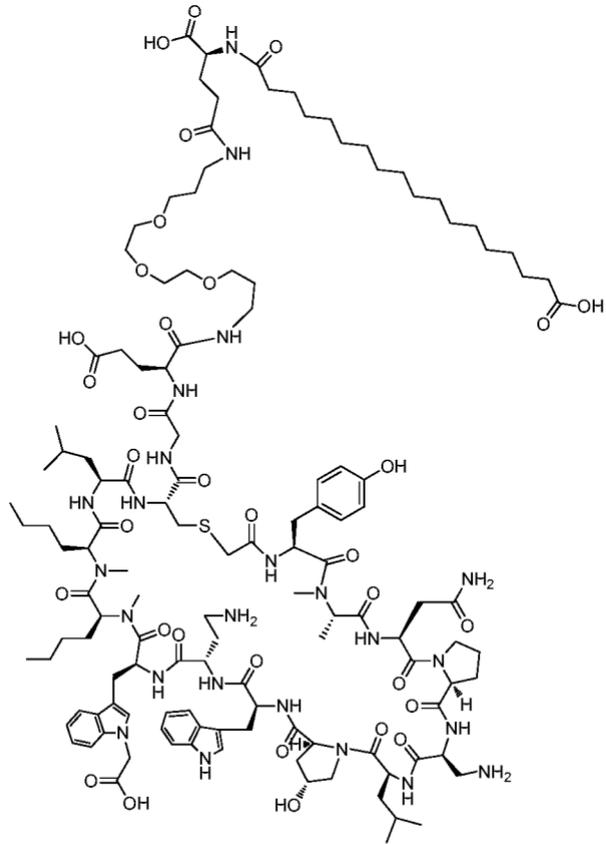
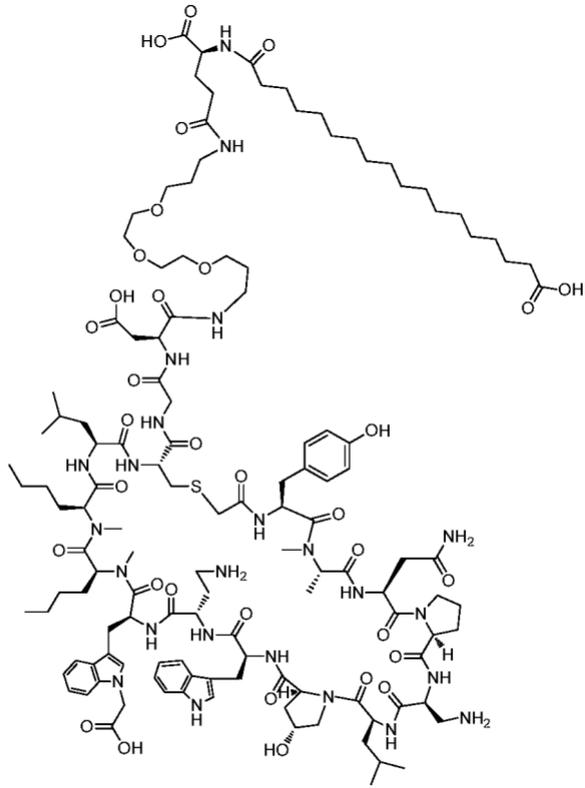


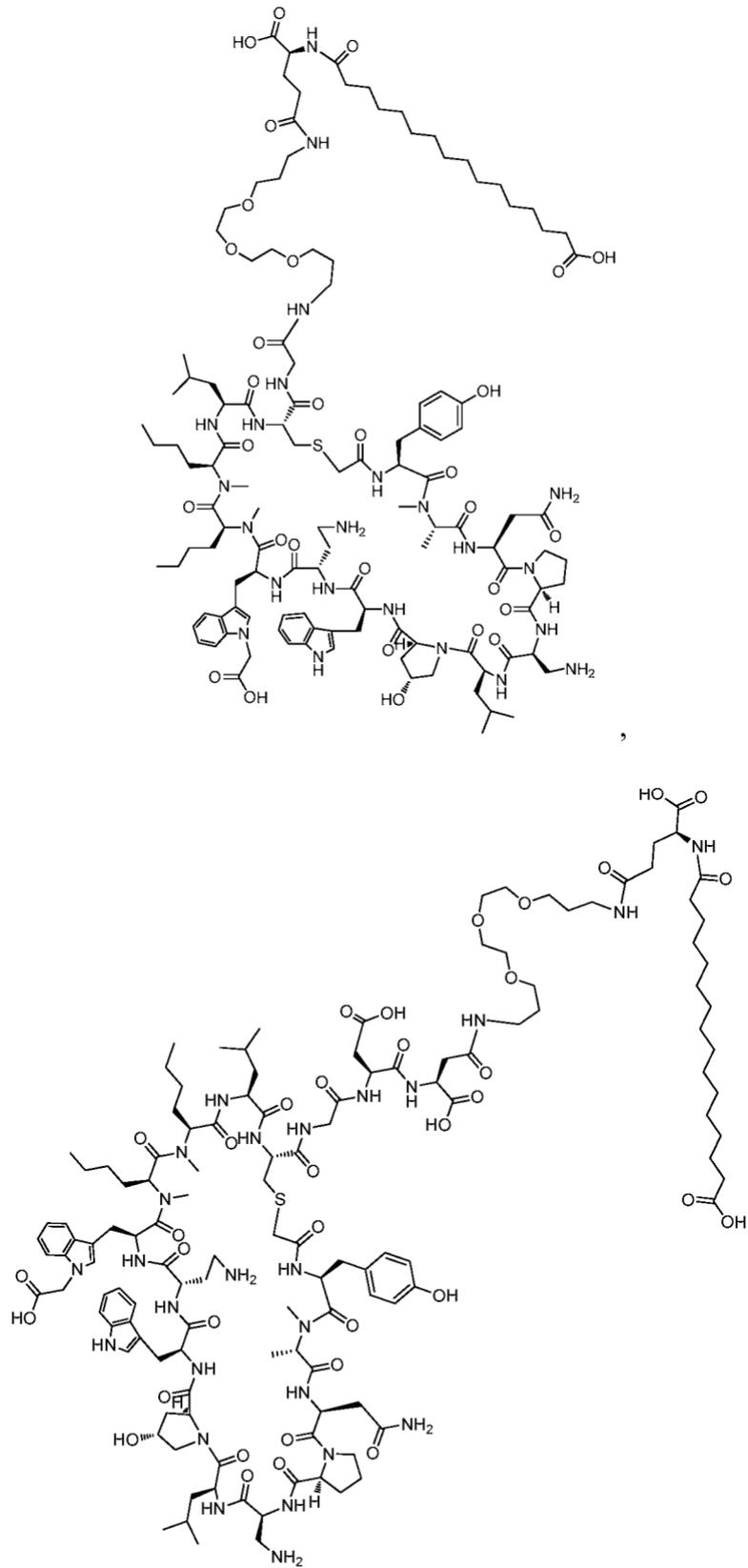


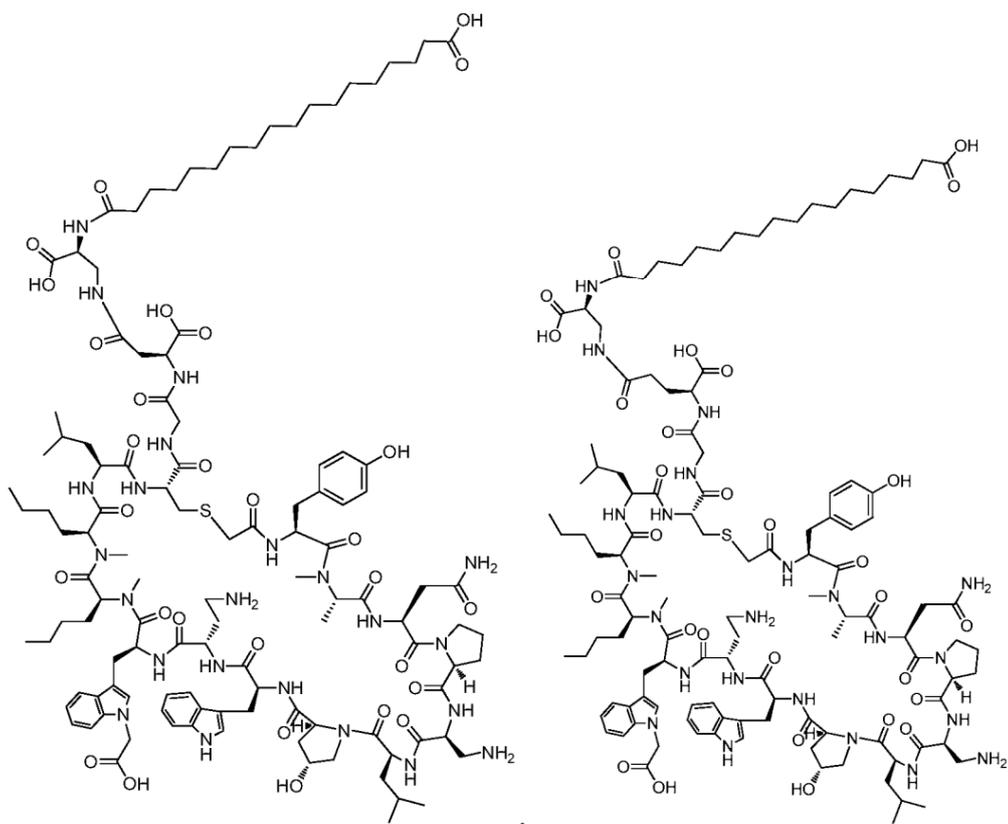
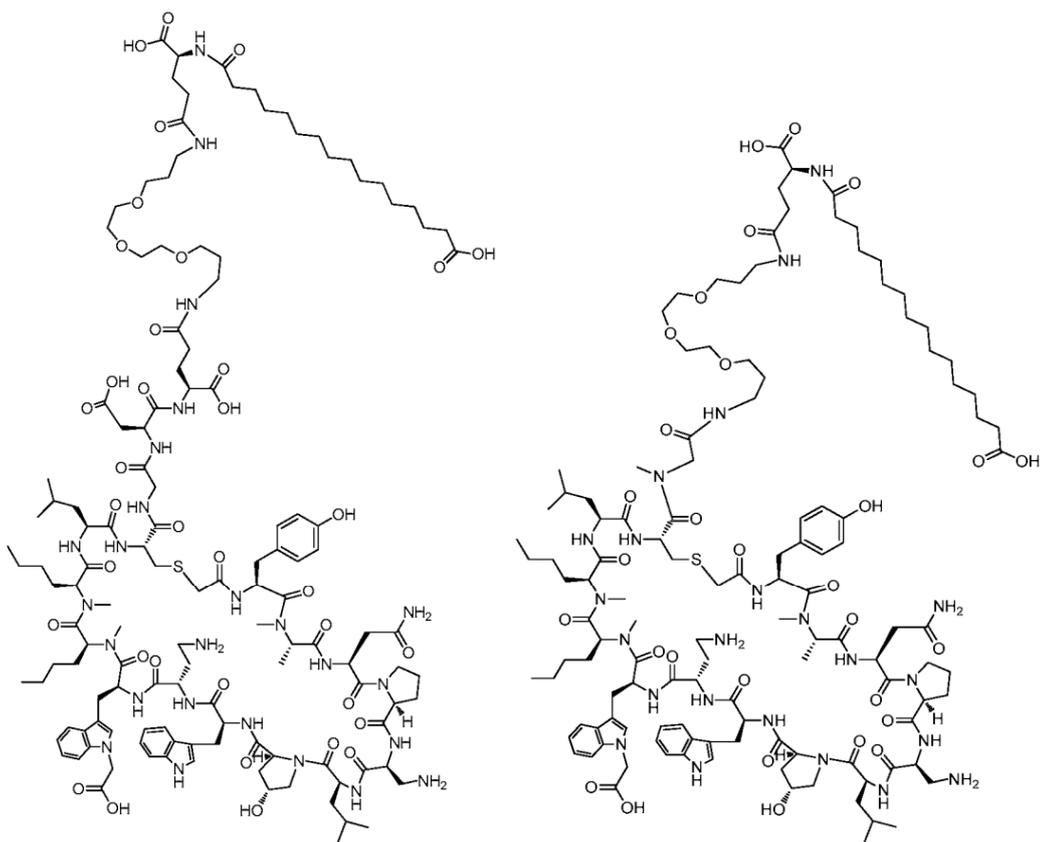


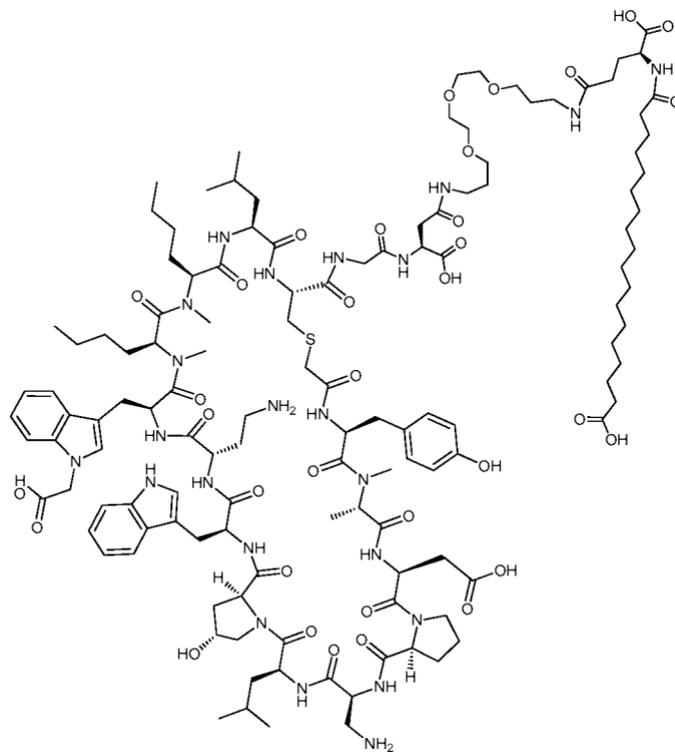
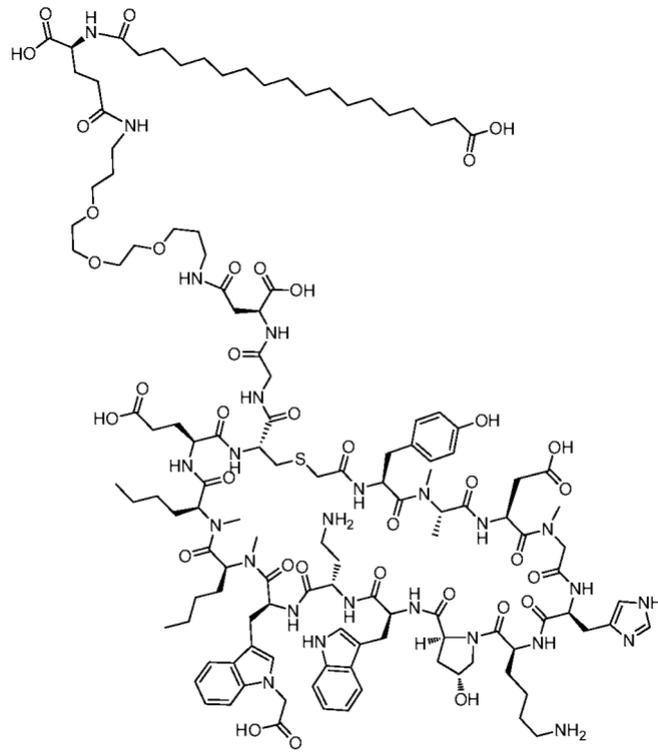


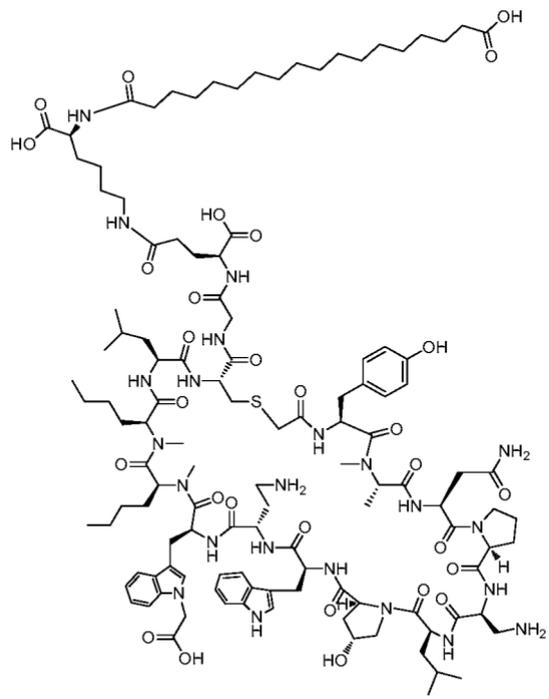
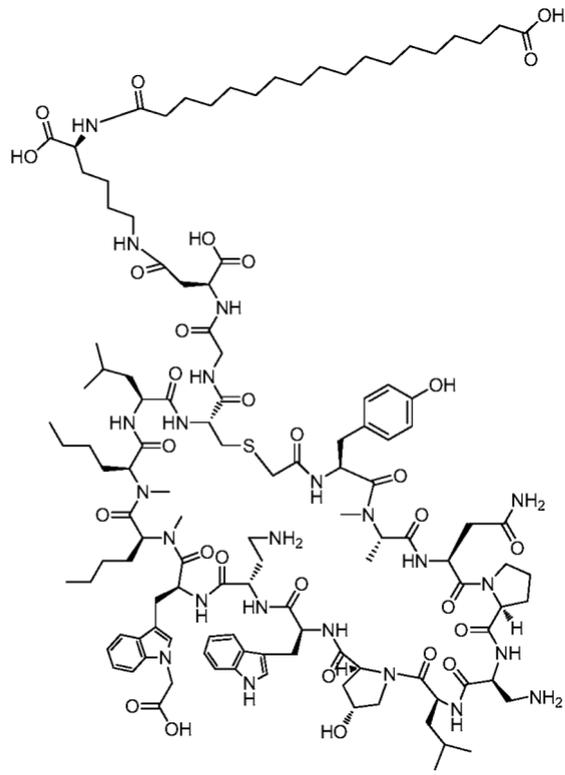


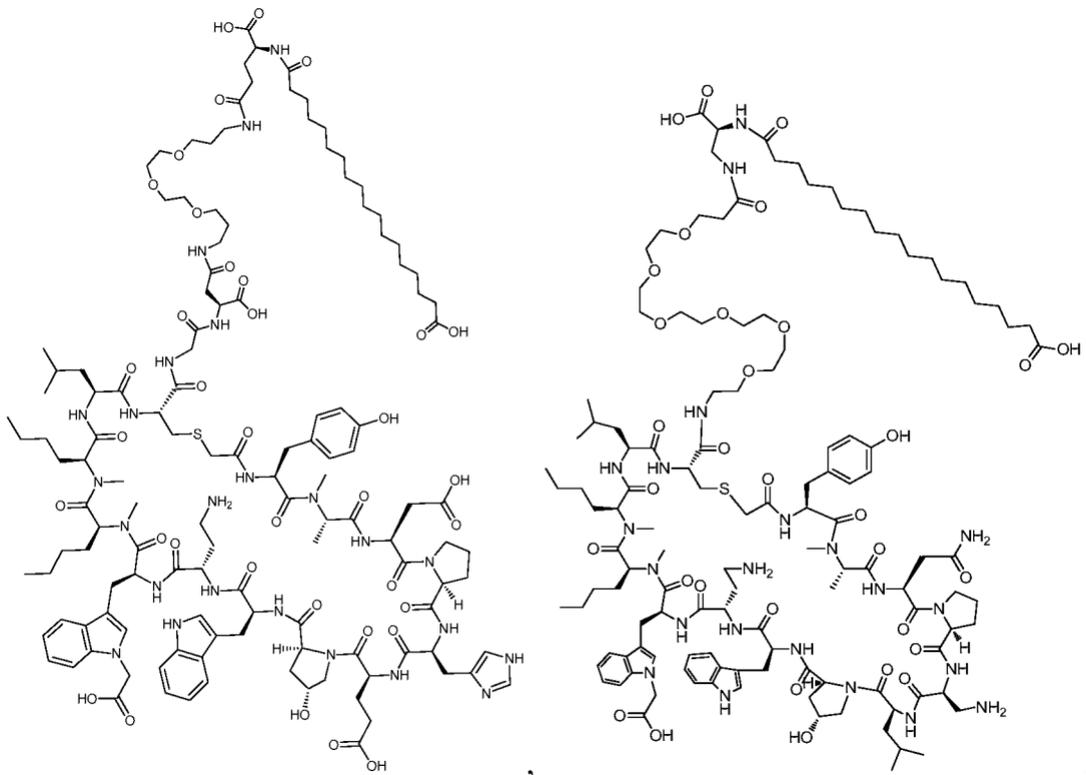
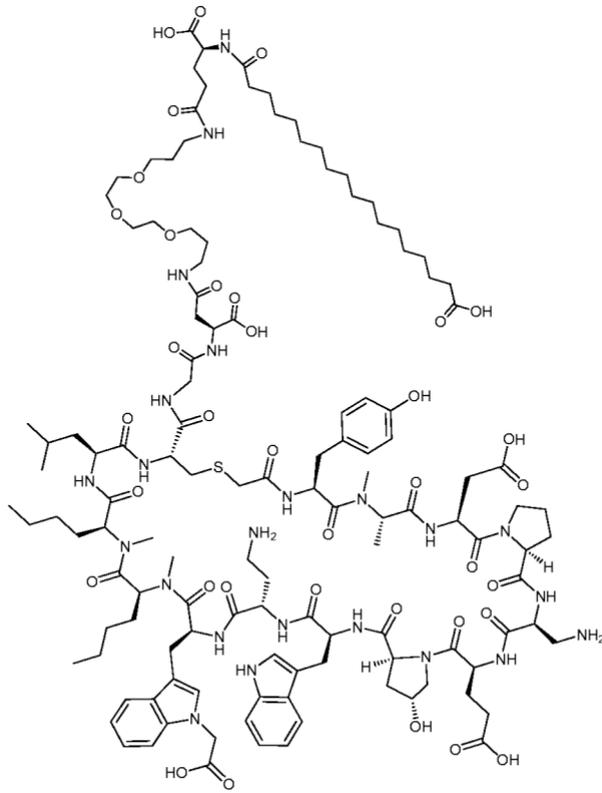


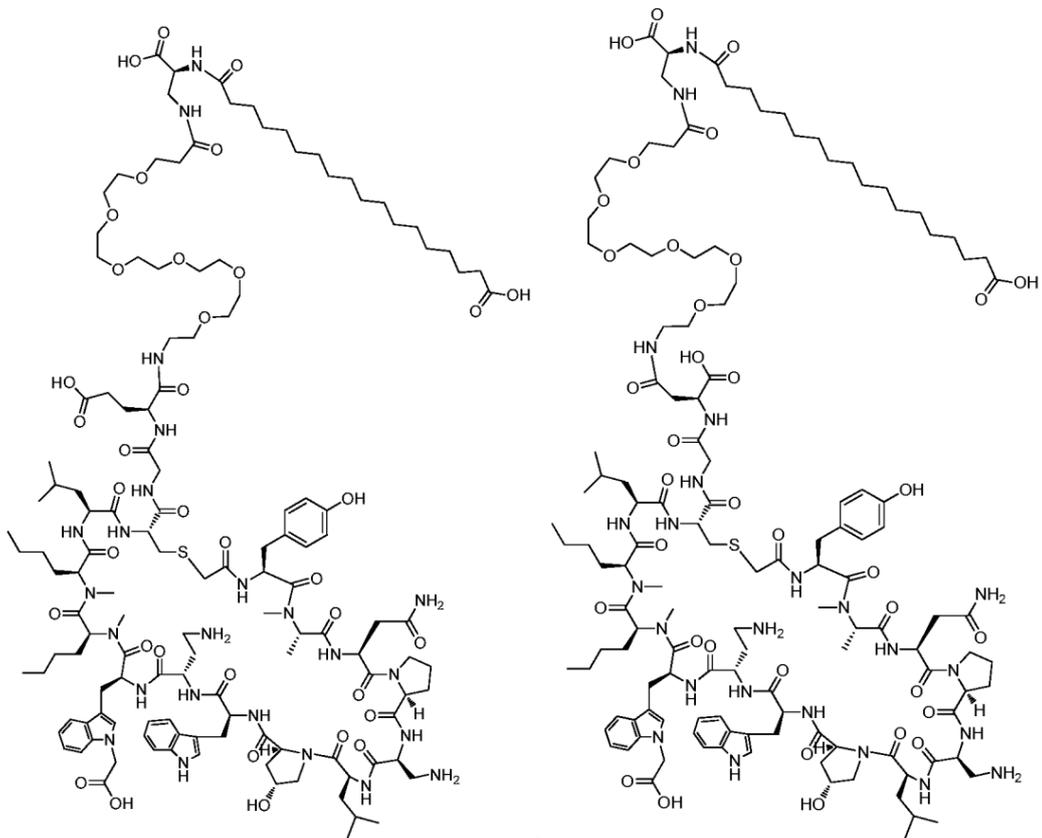
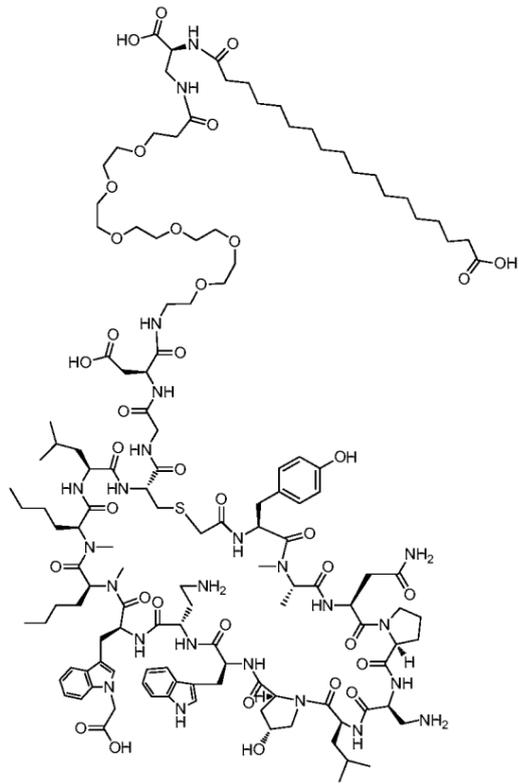


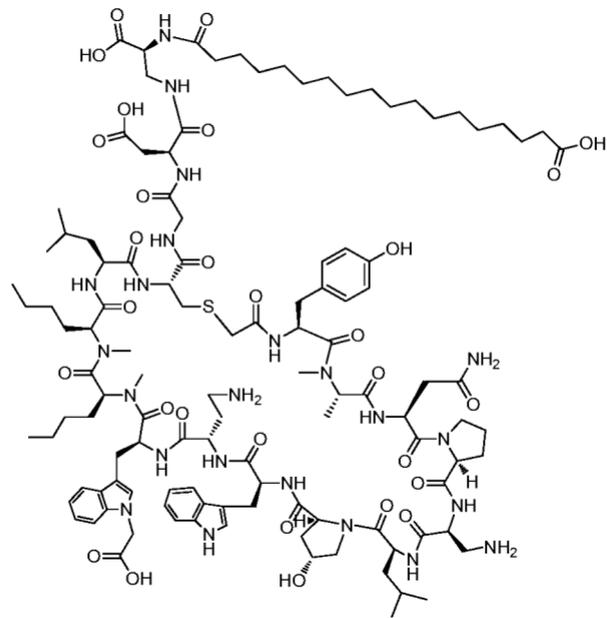
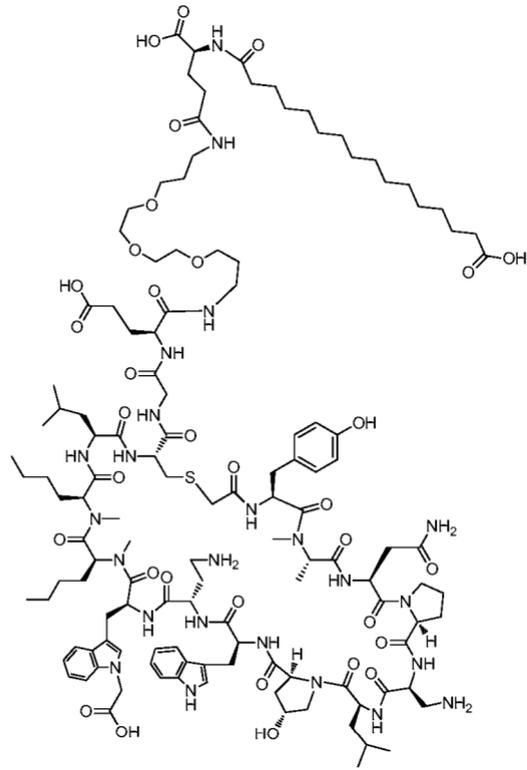


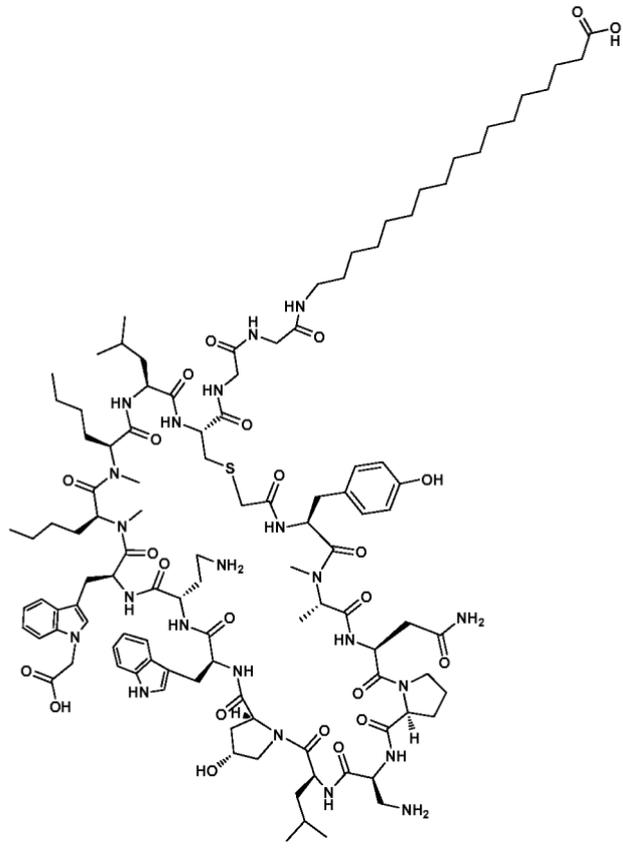
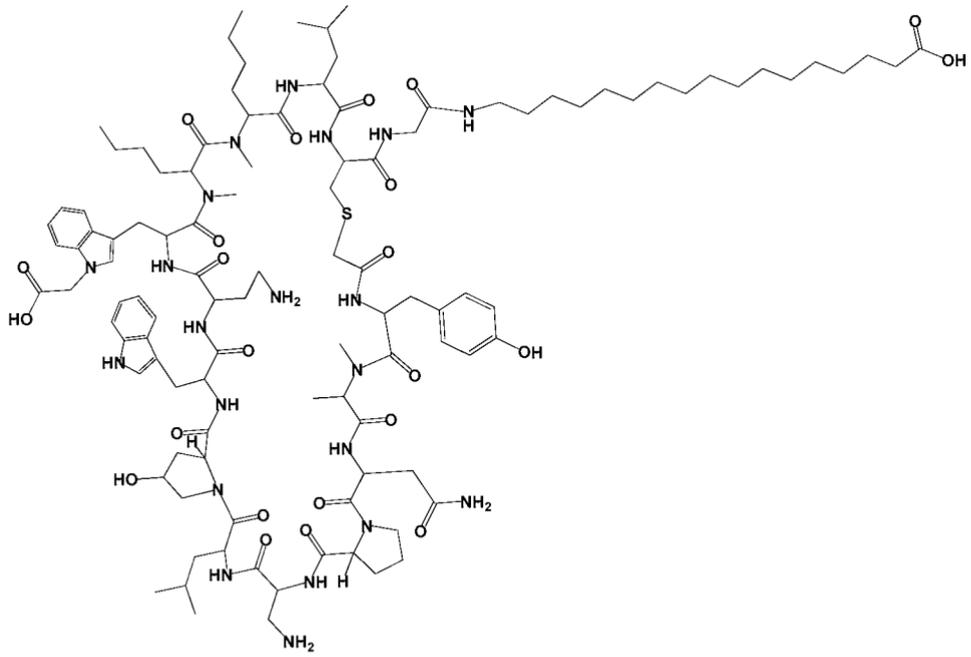


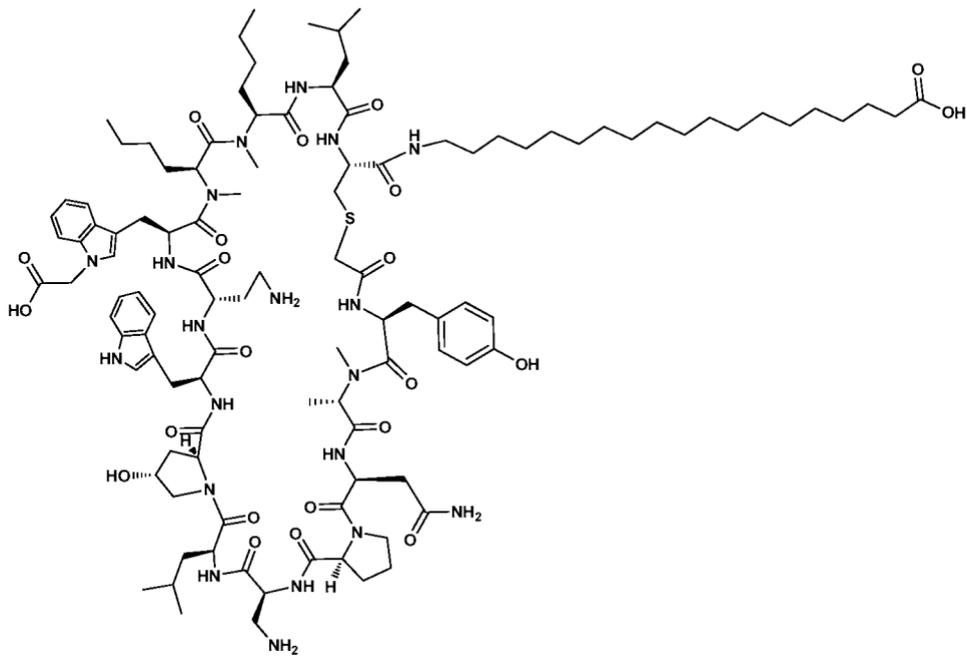
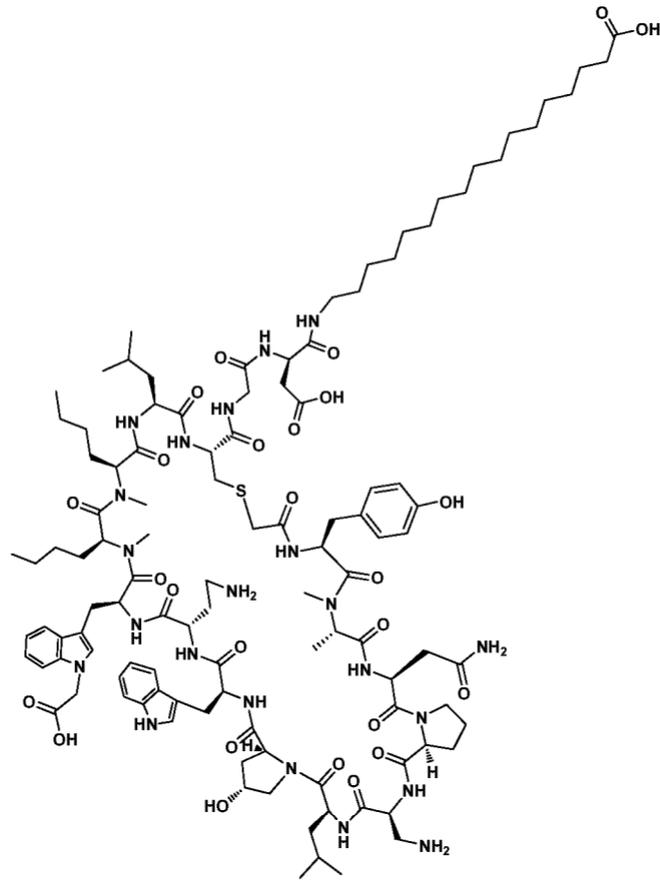


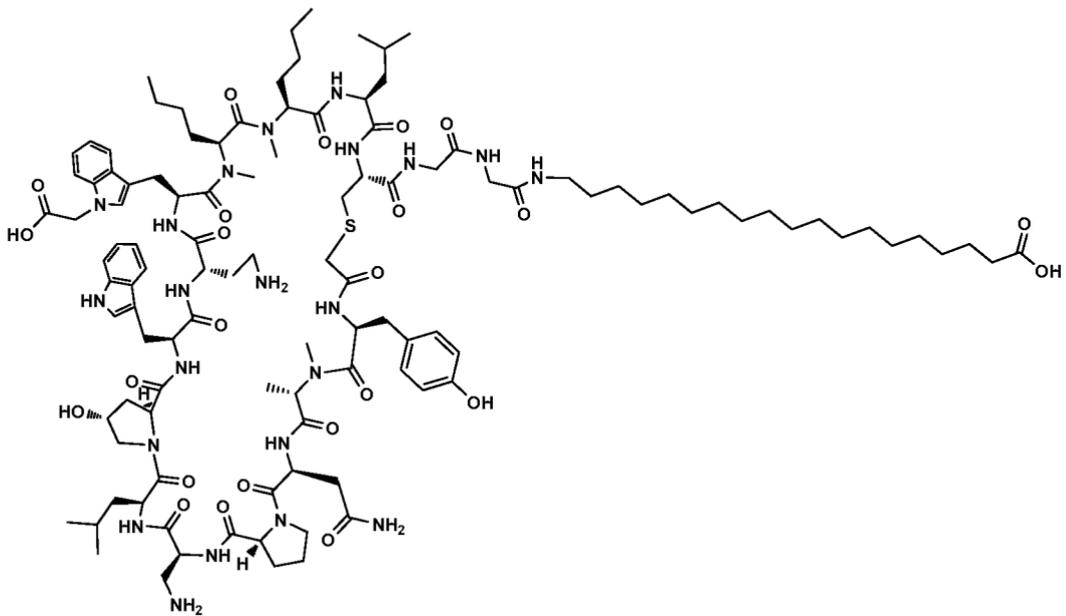
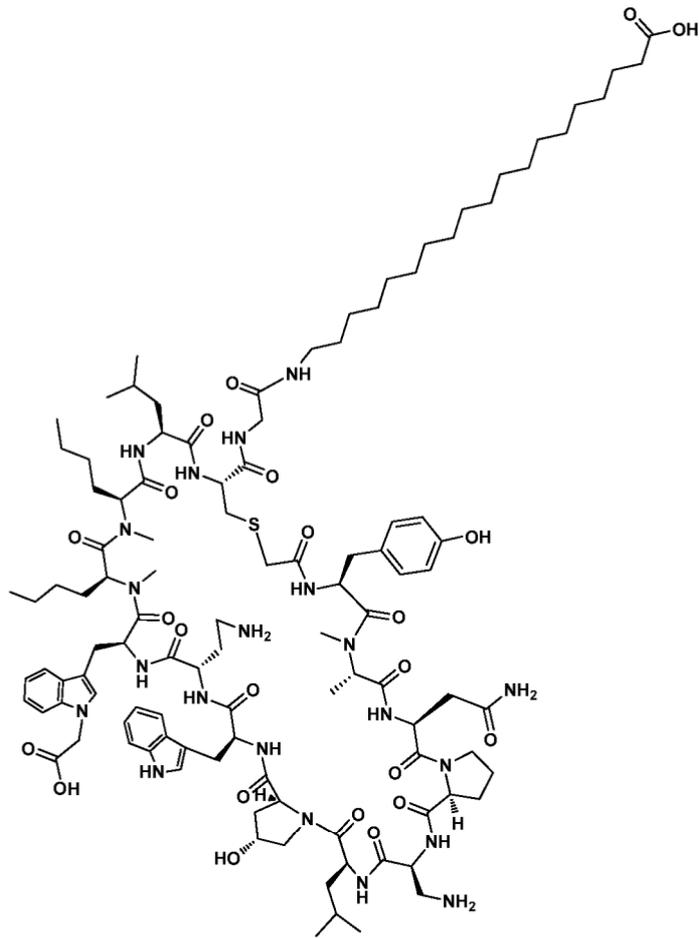


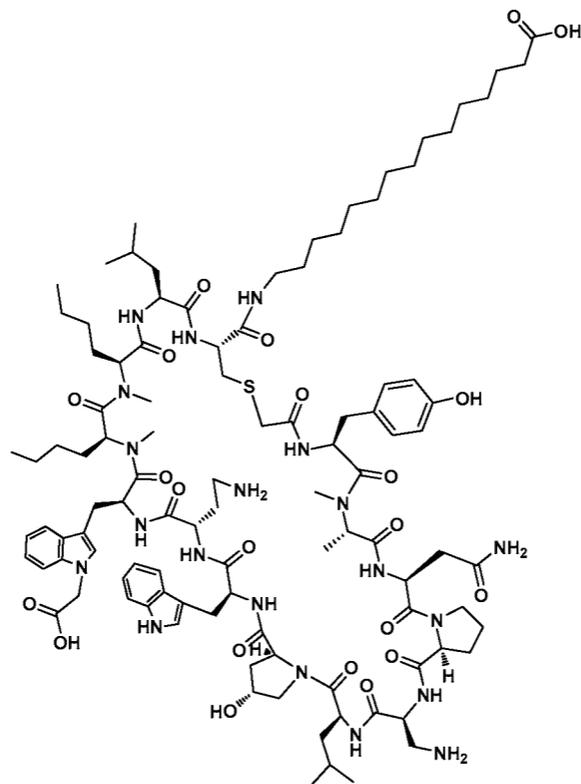
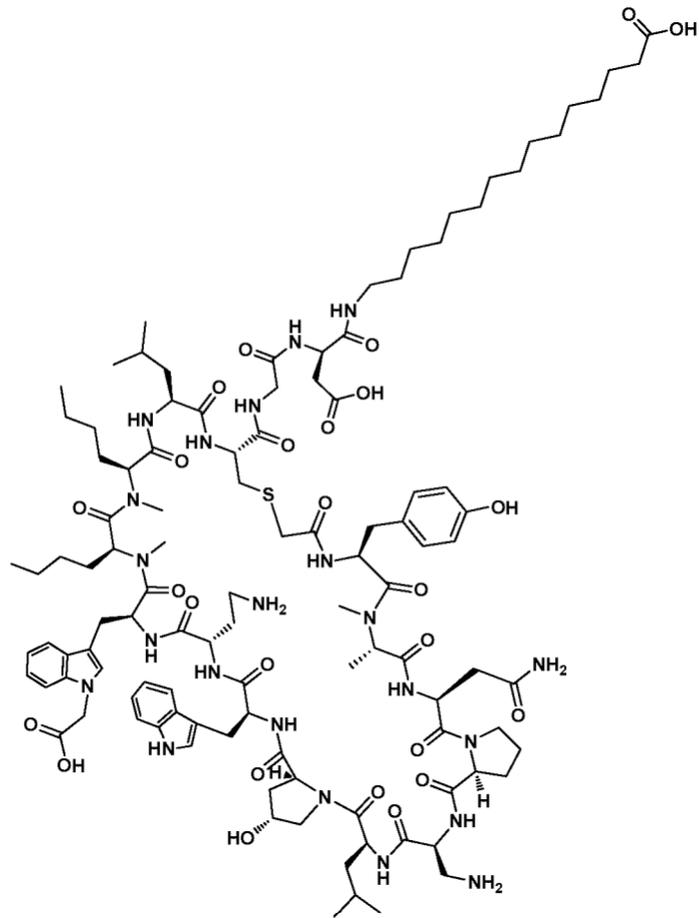




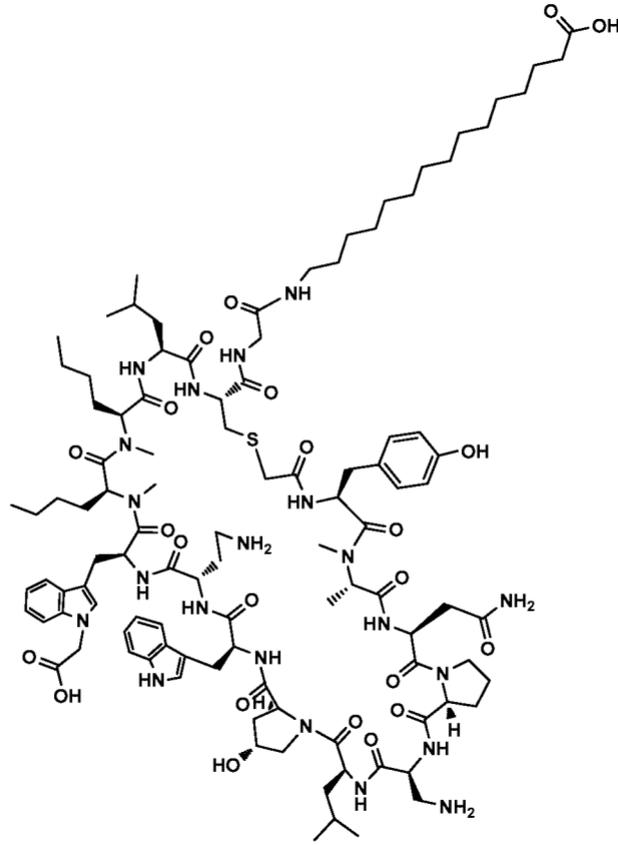








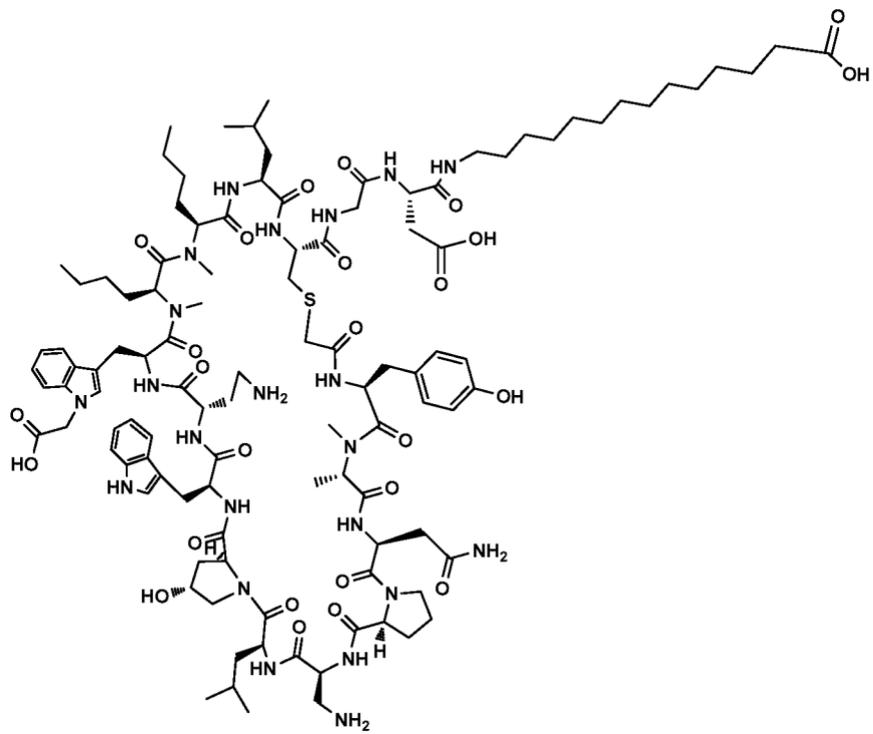
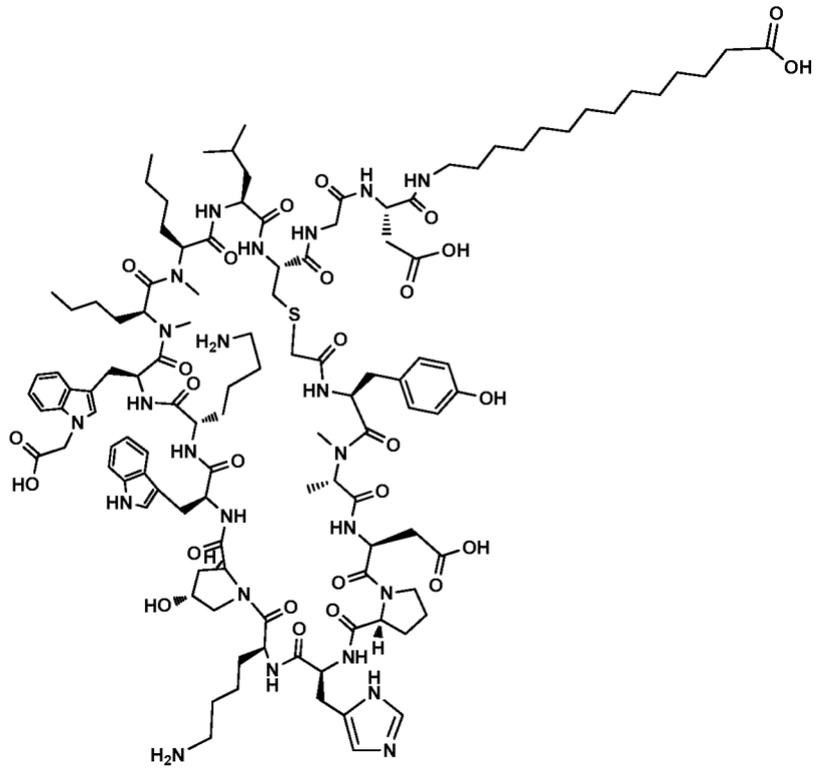
y

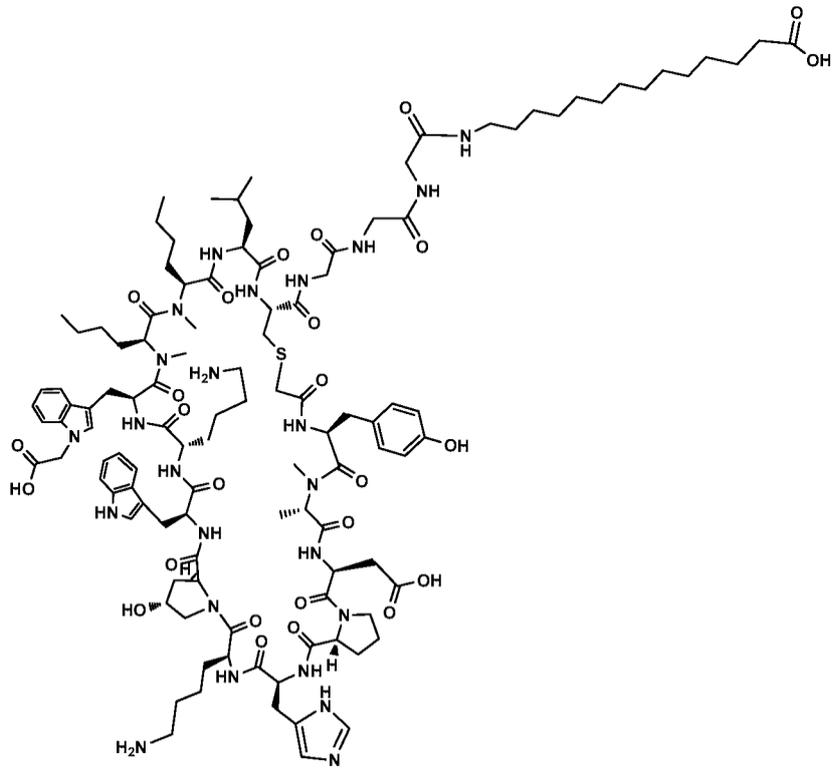
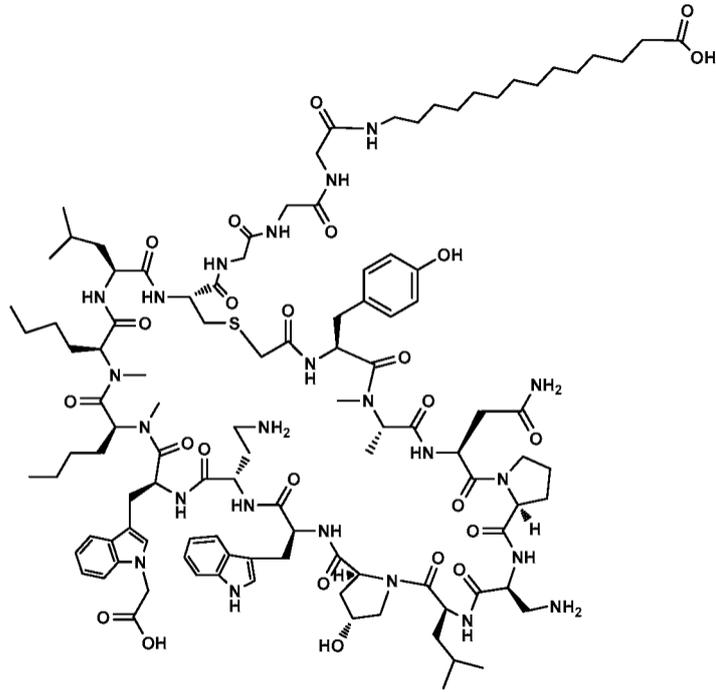


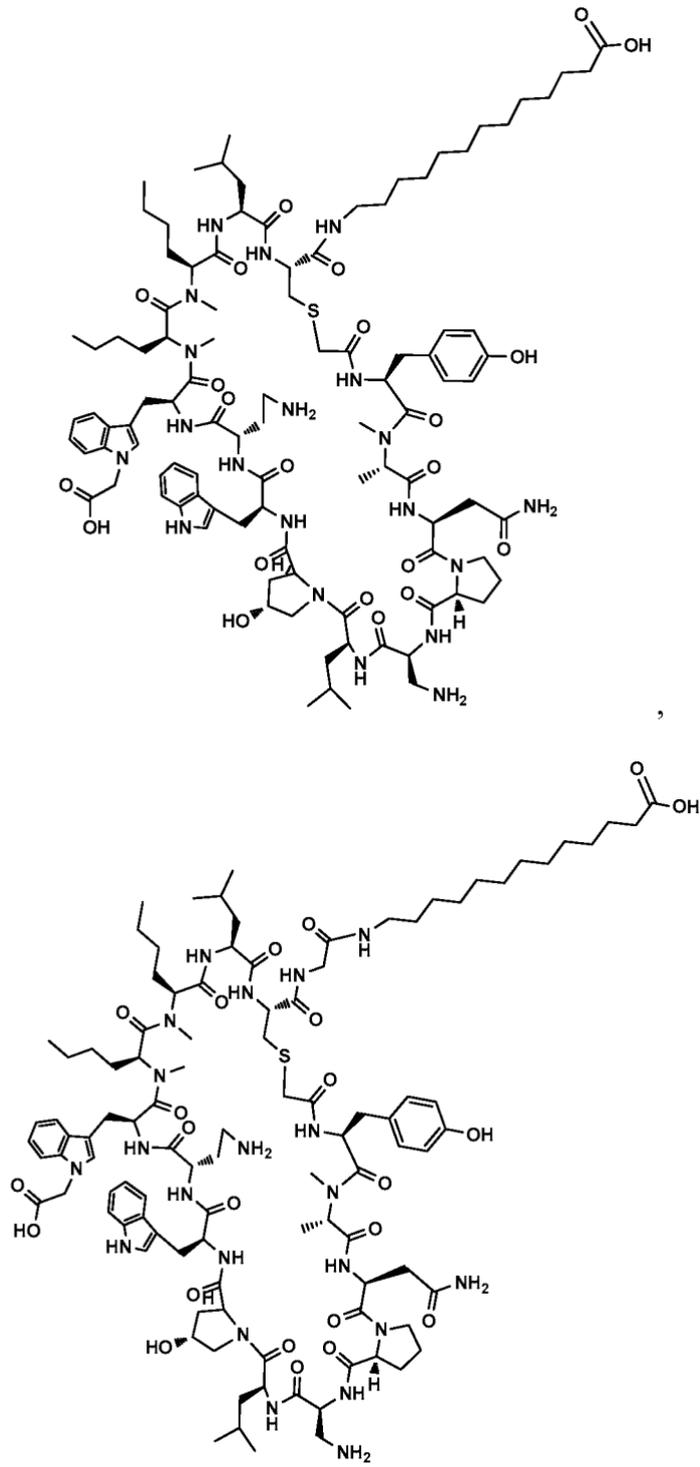
5

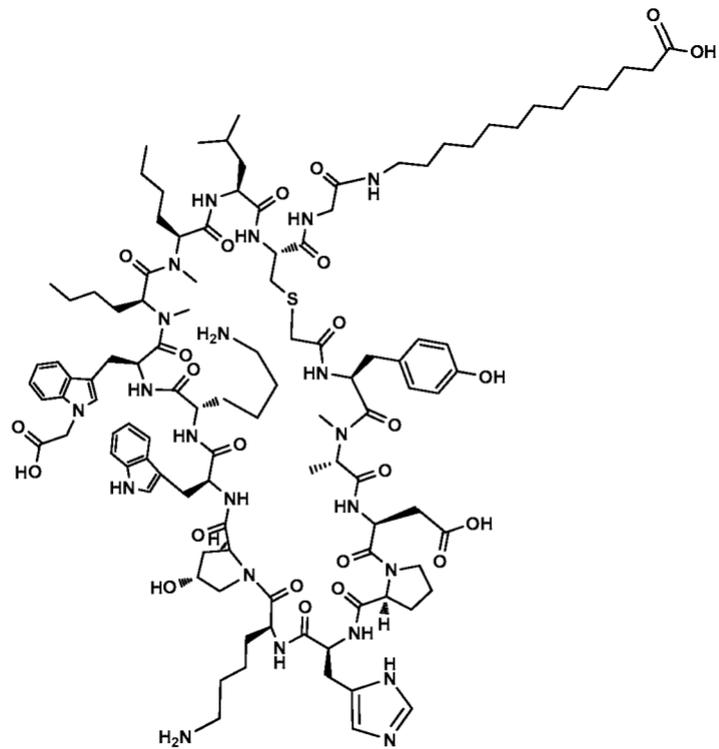
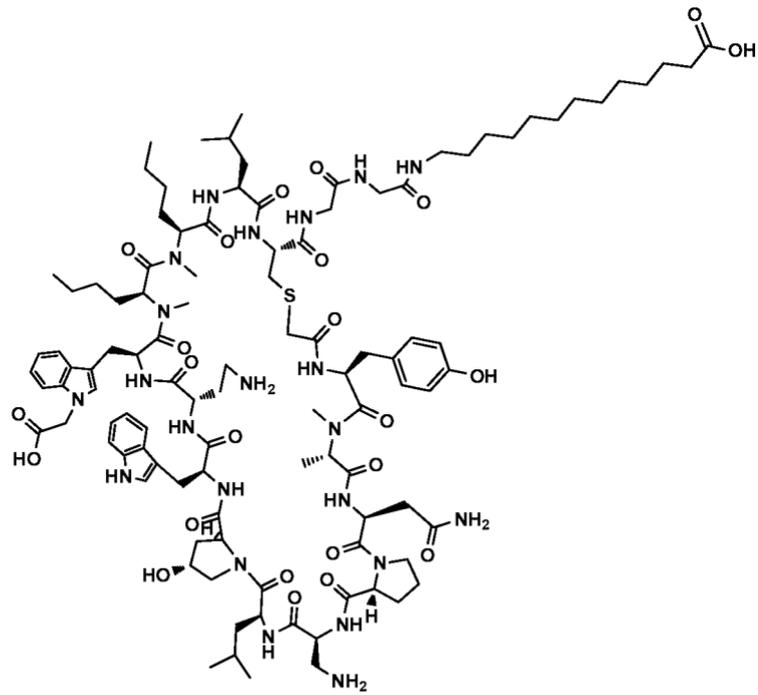
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

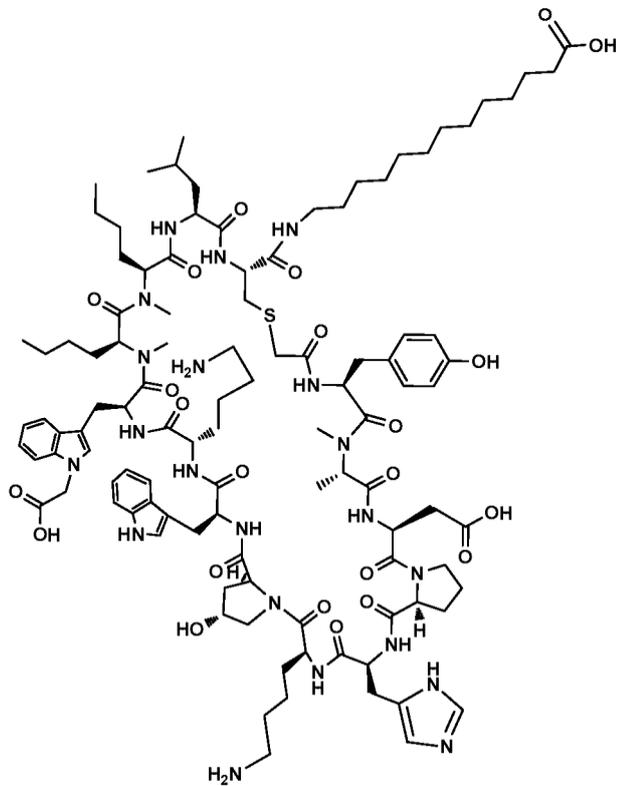
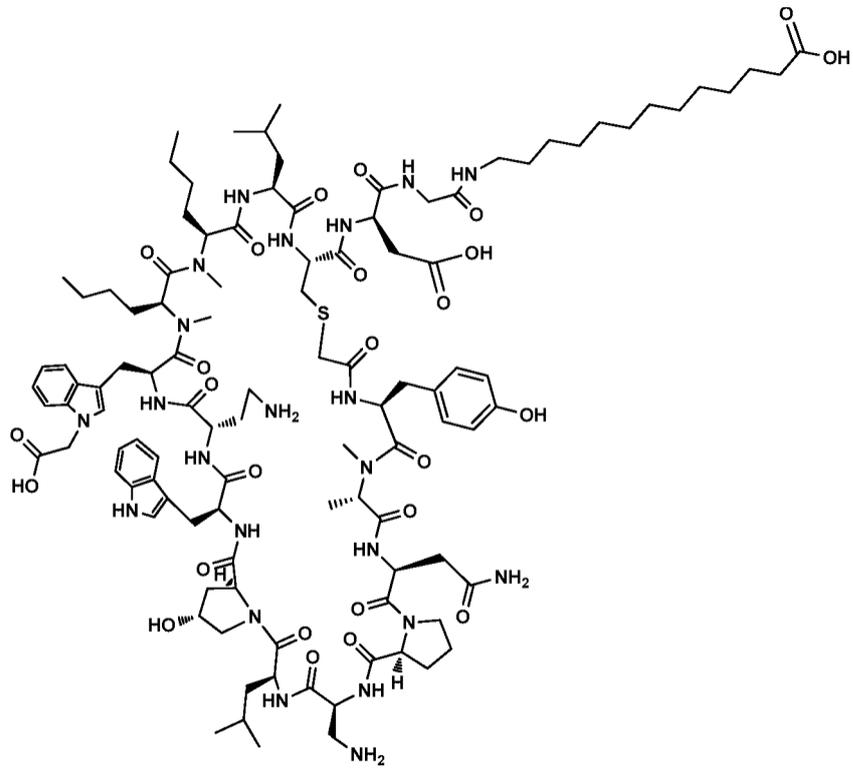
22. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:

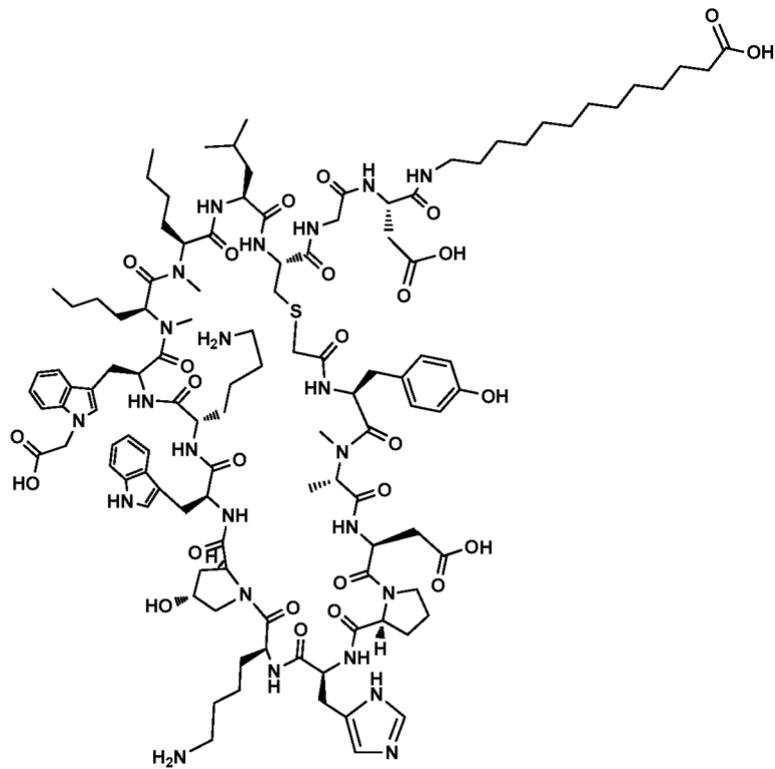
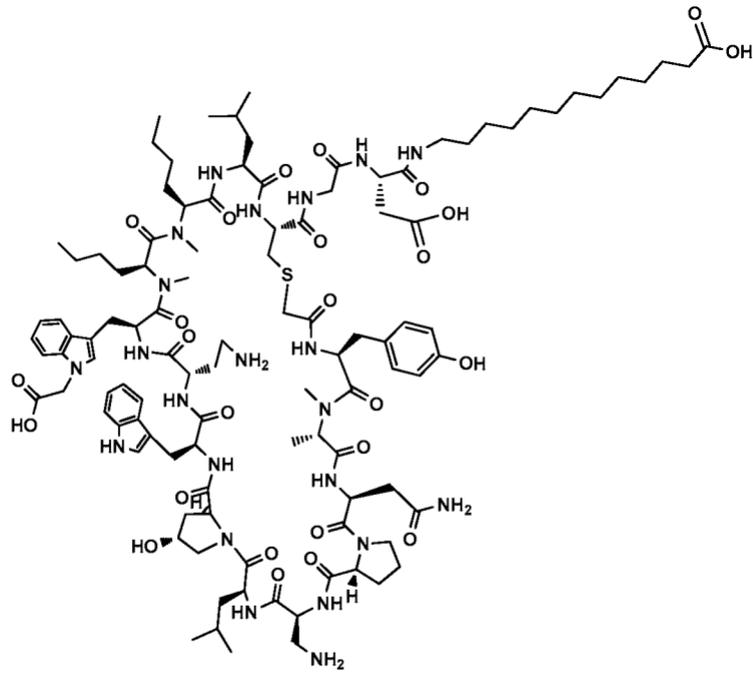


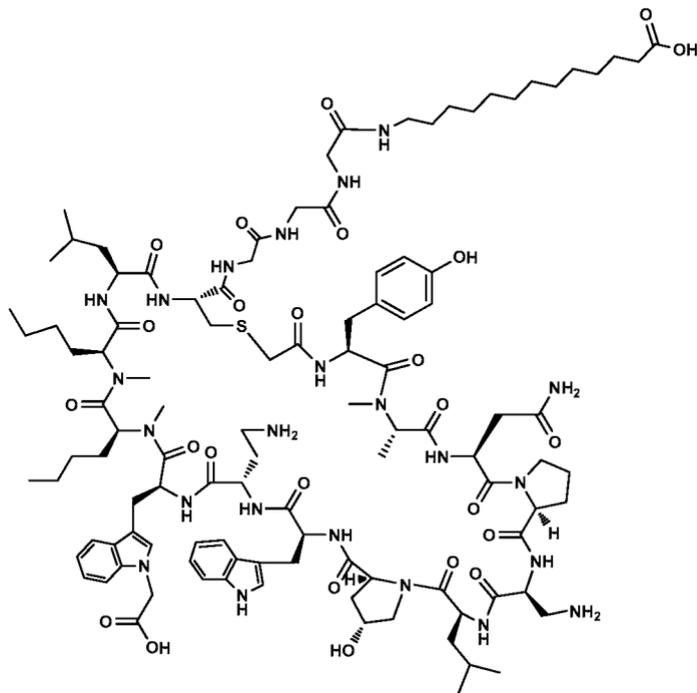
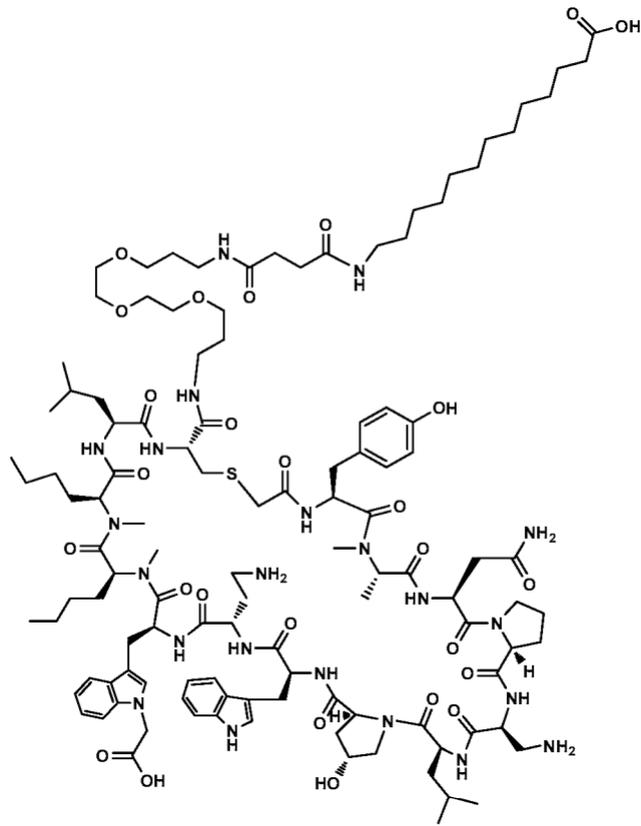


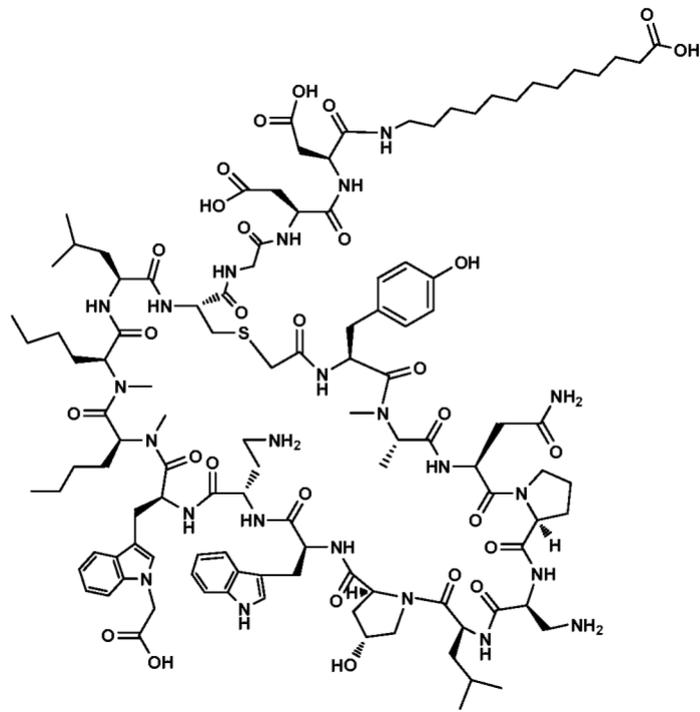
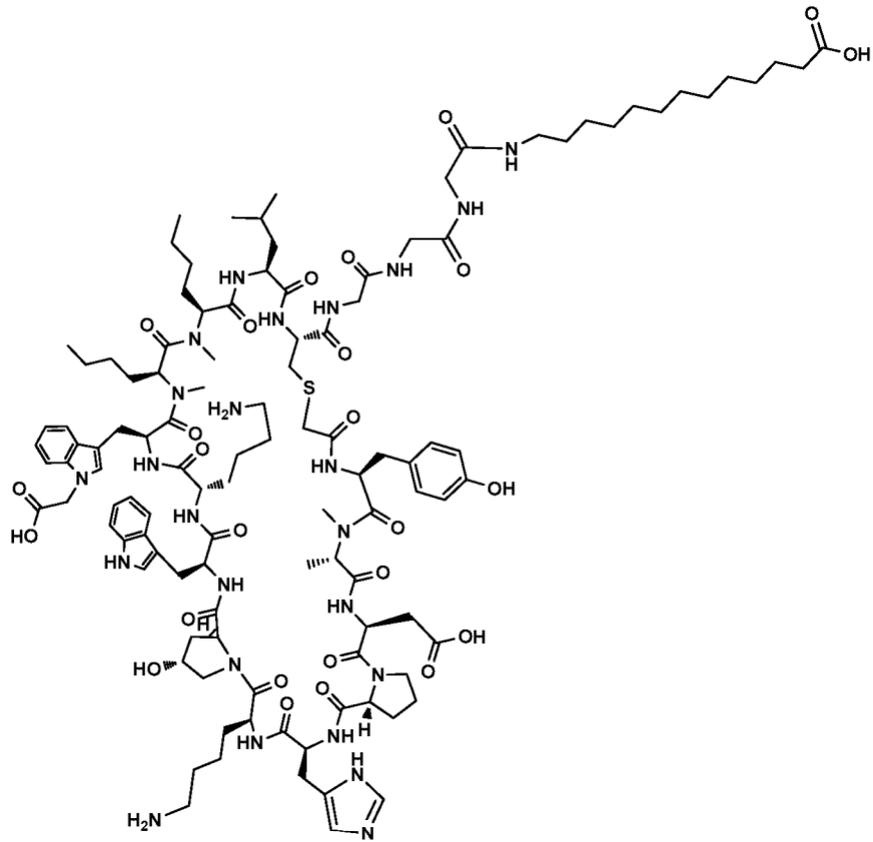


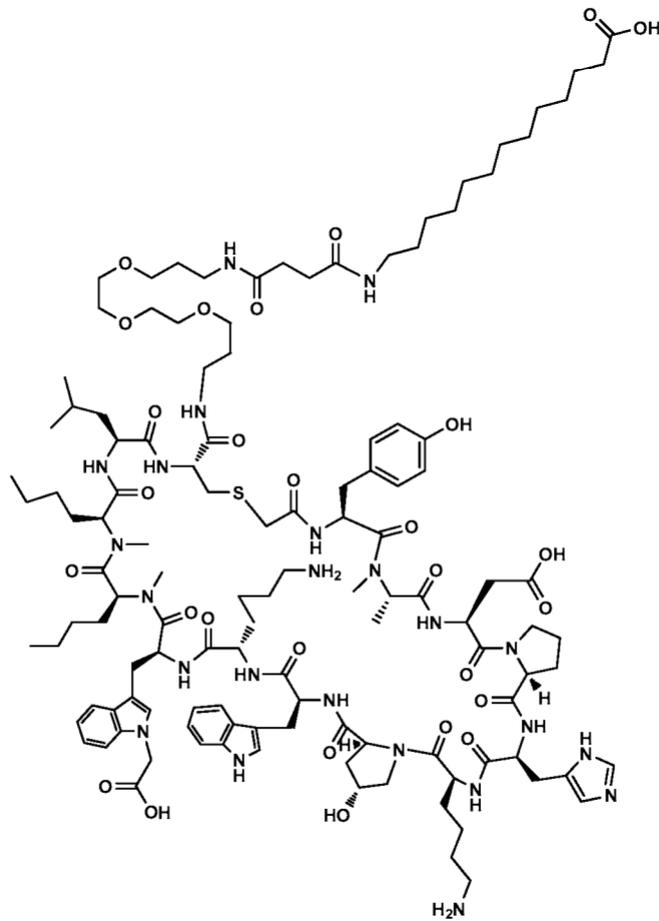
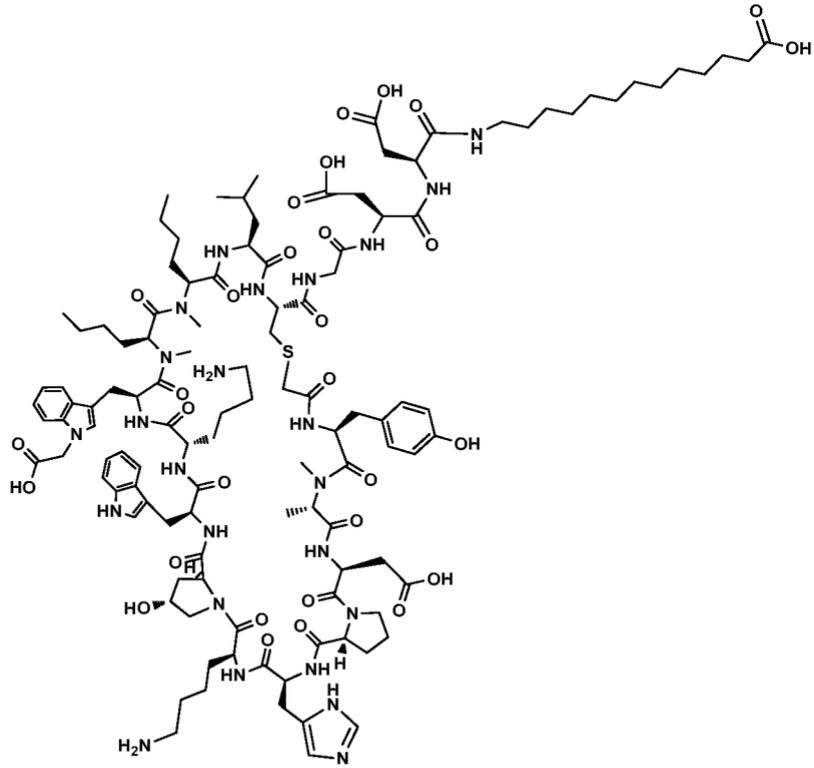


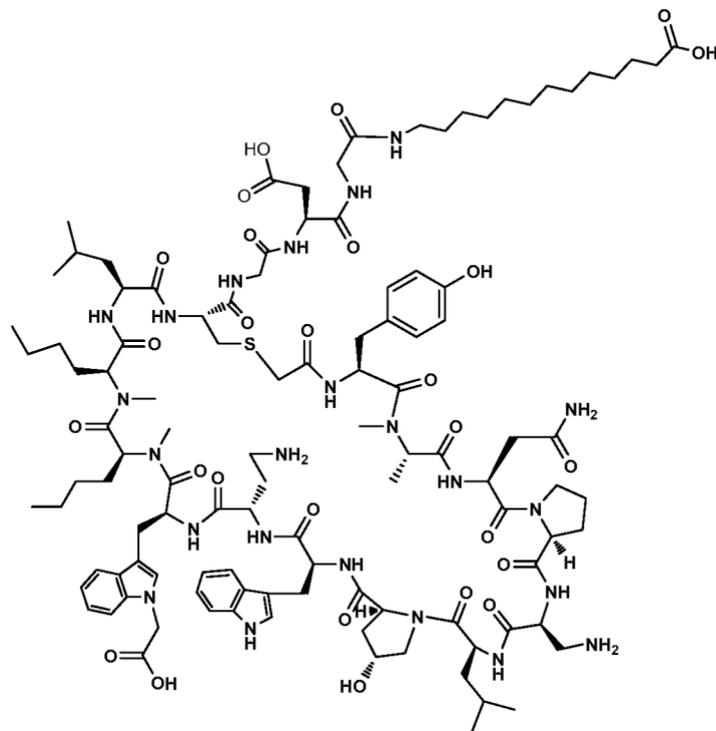
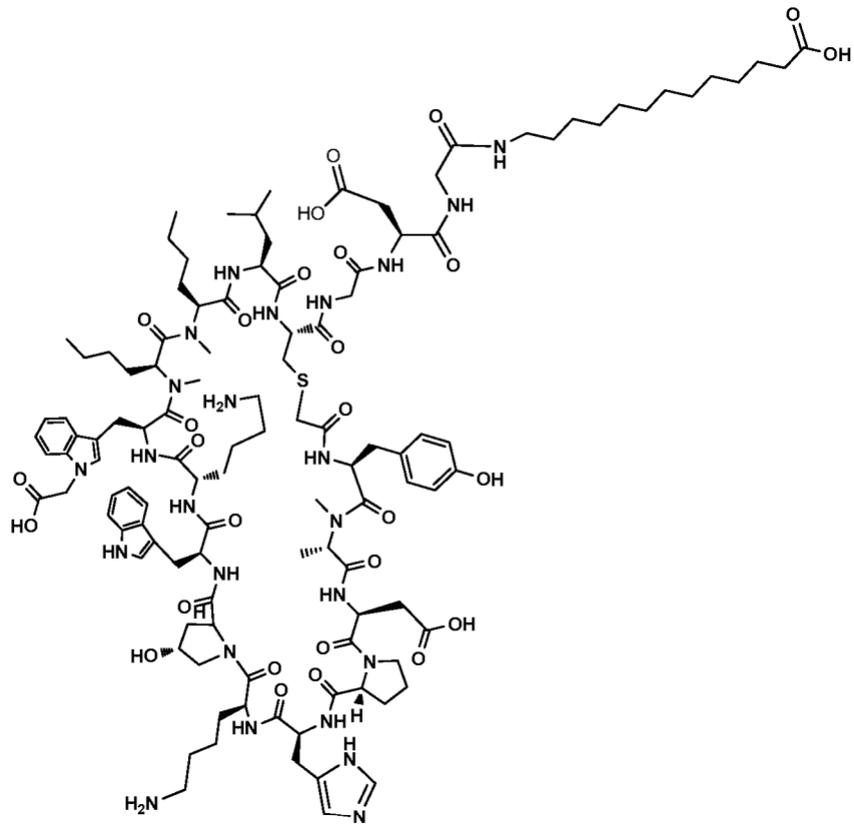


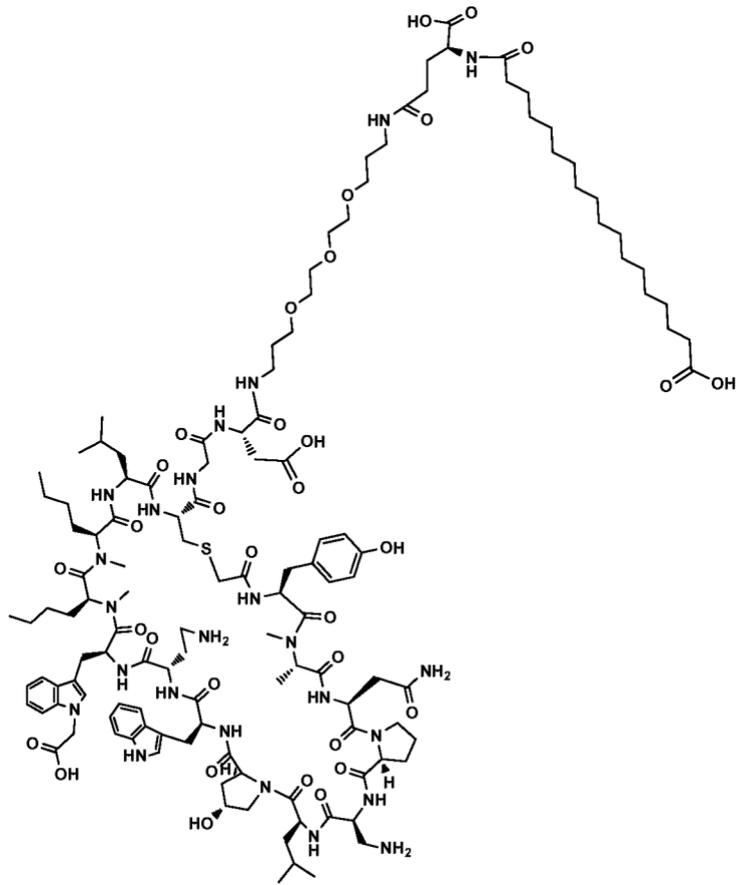


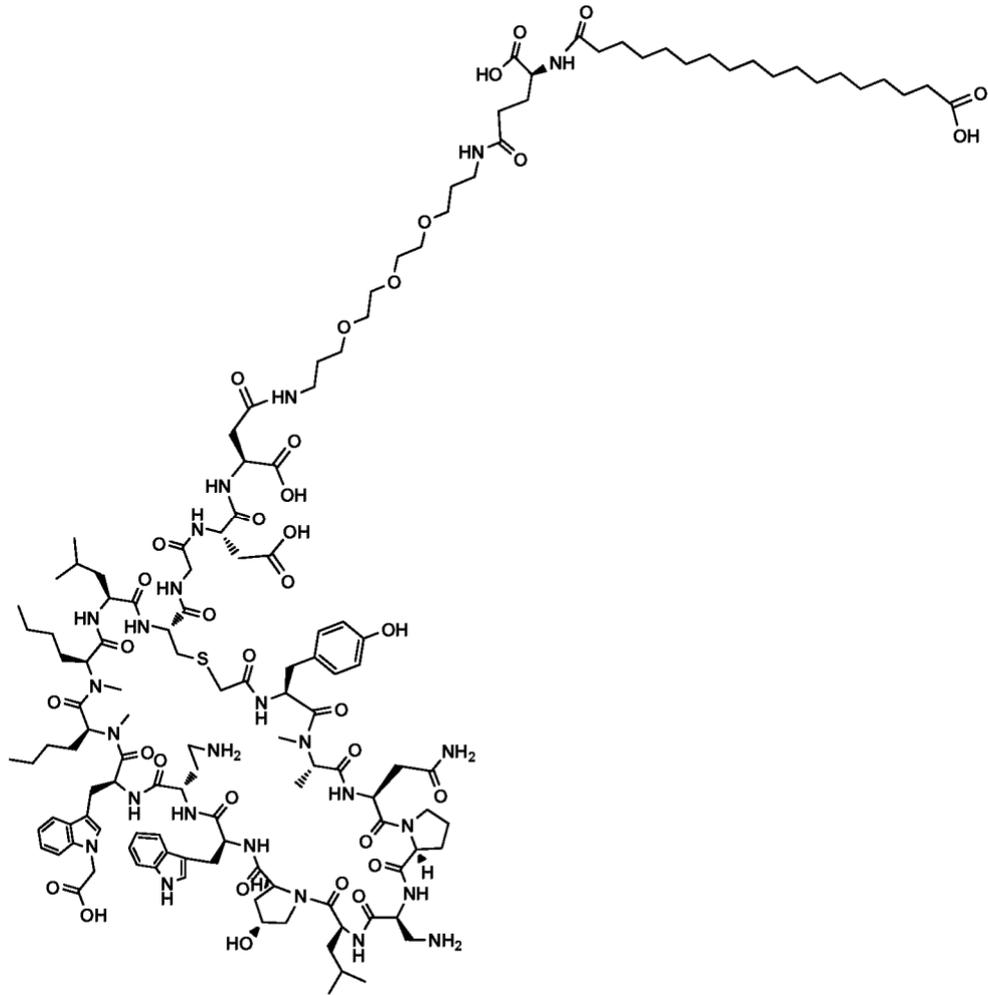


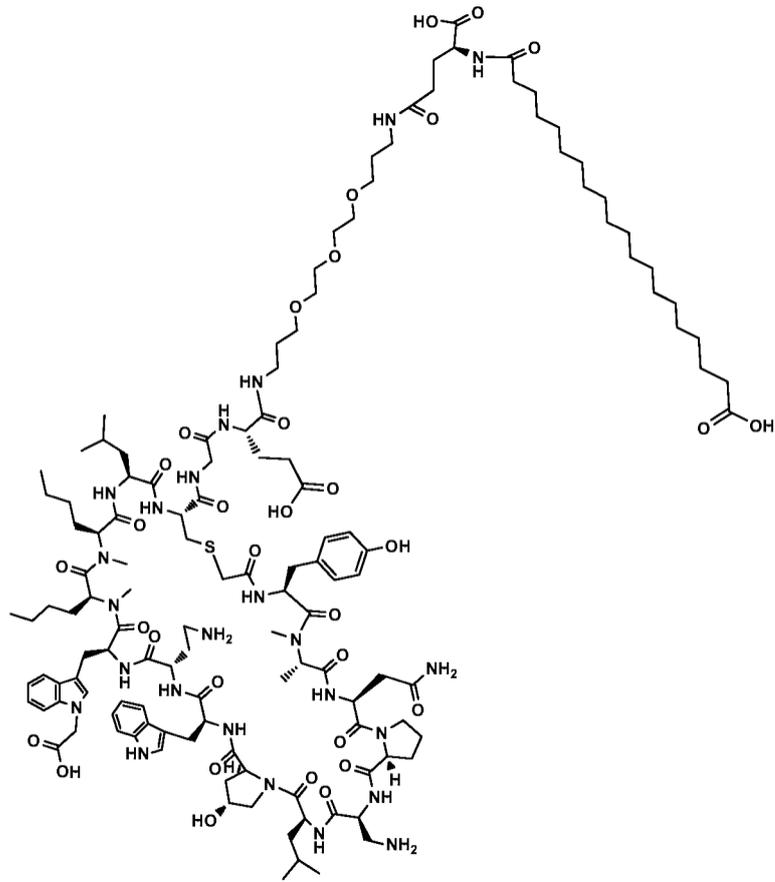


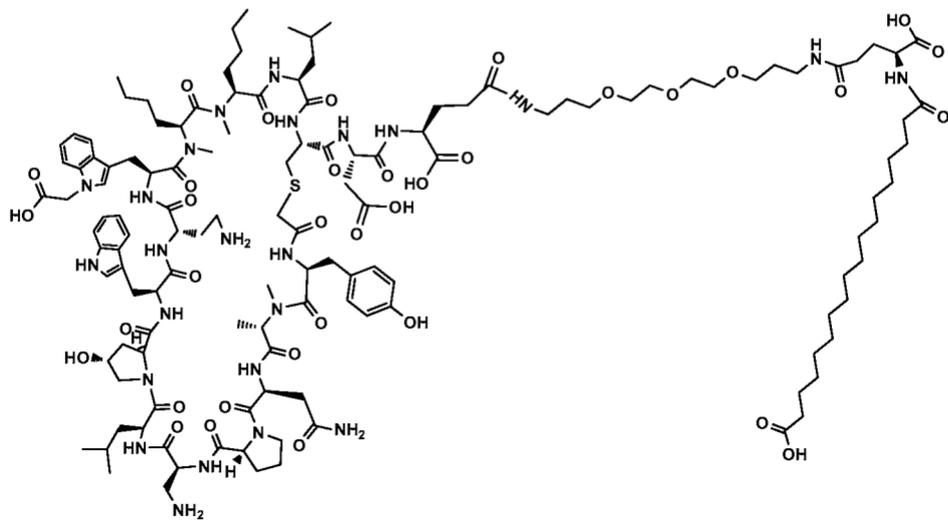
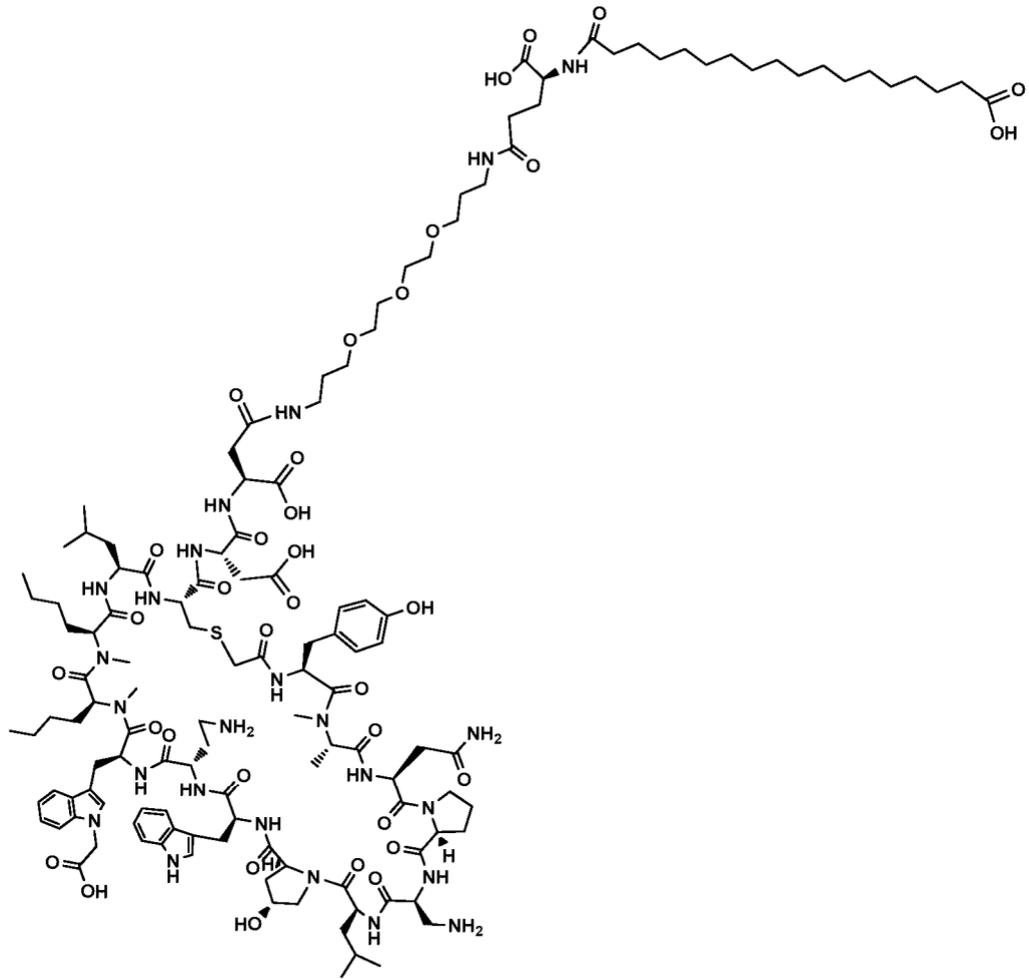


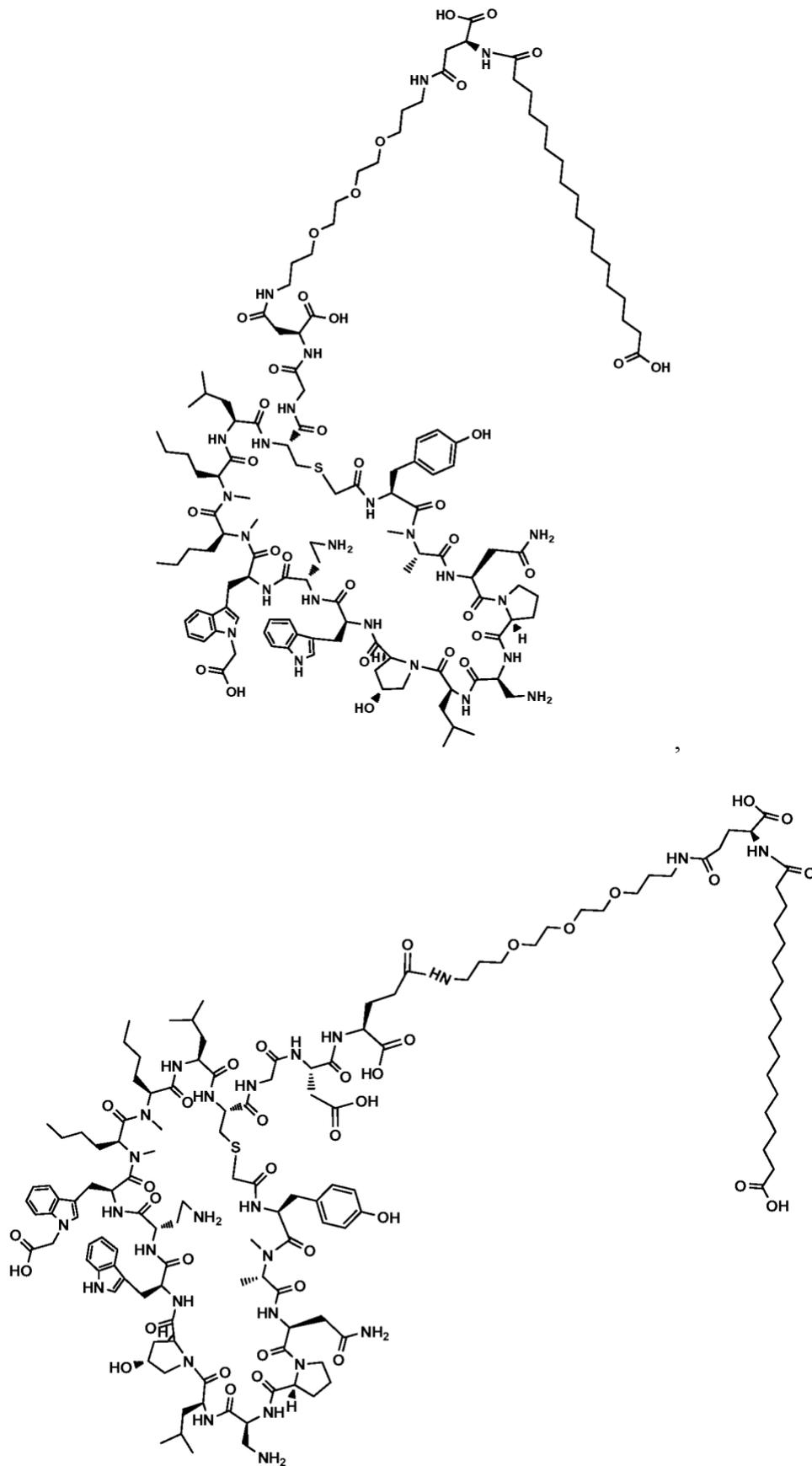


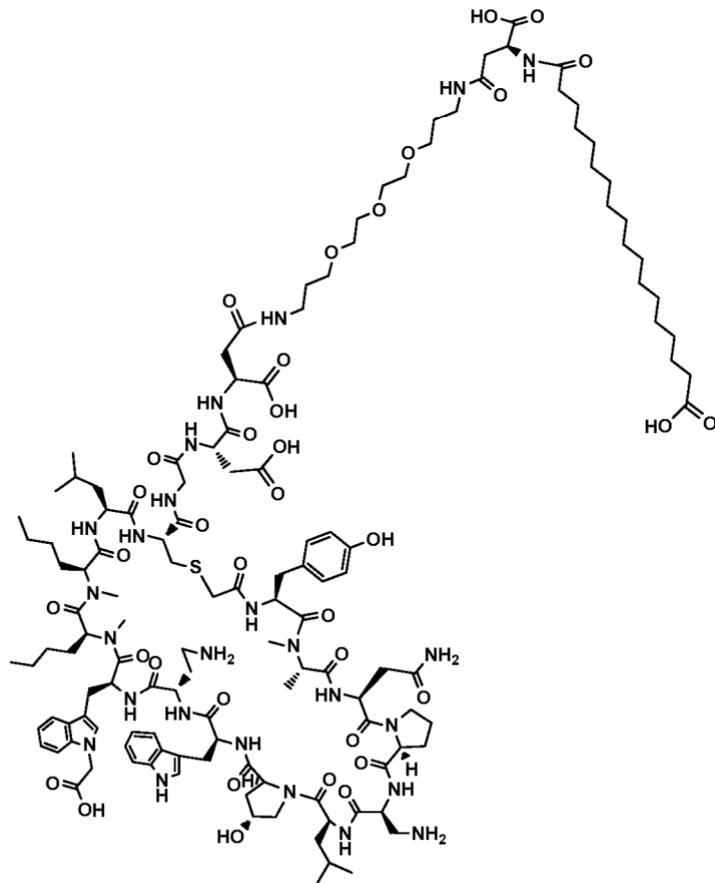
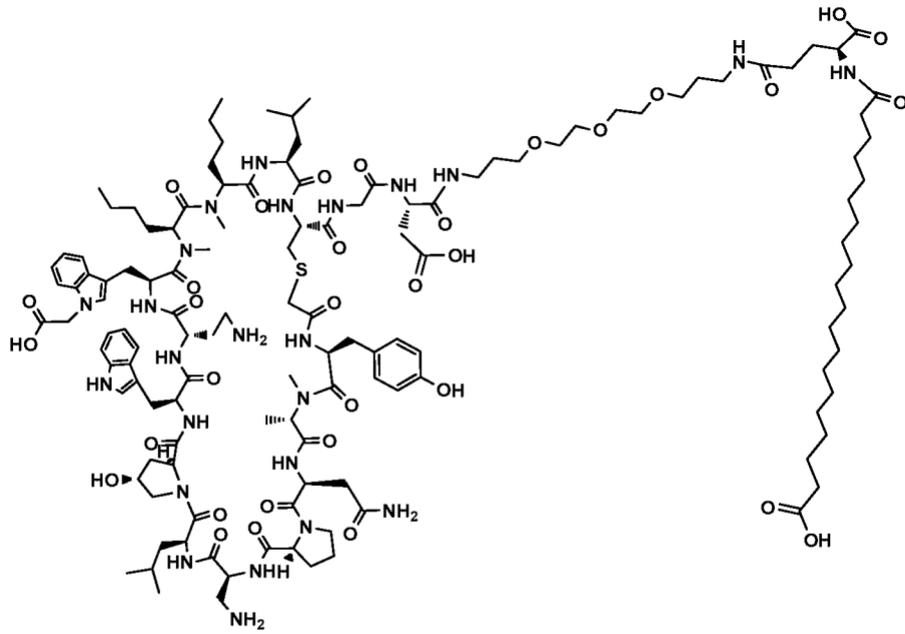


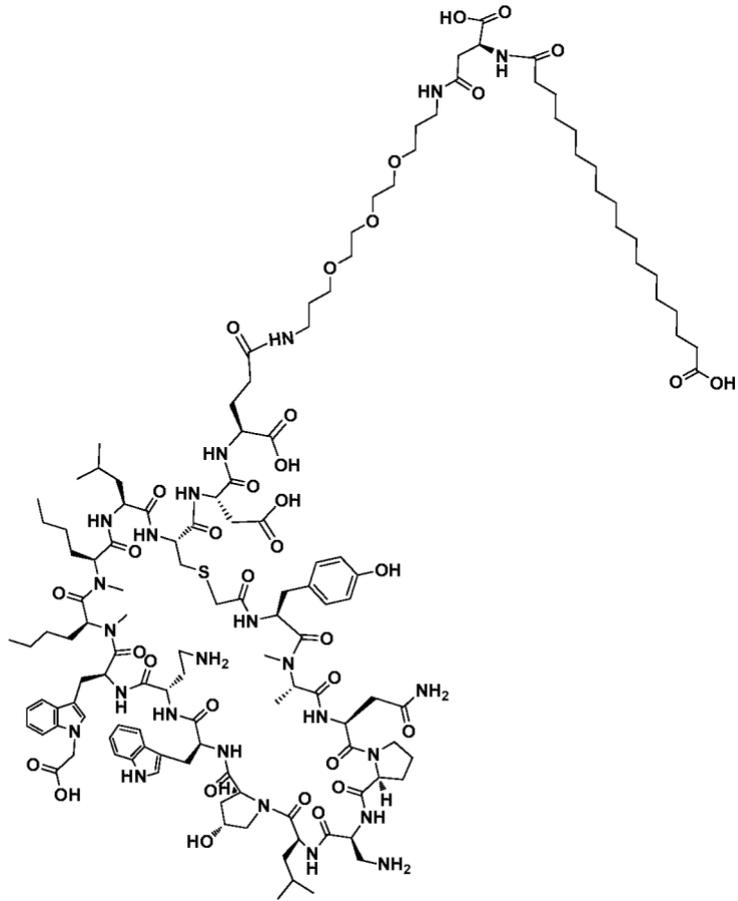


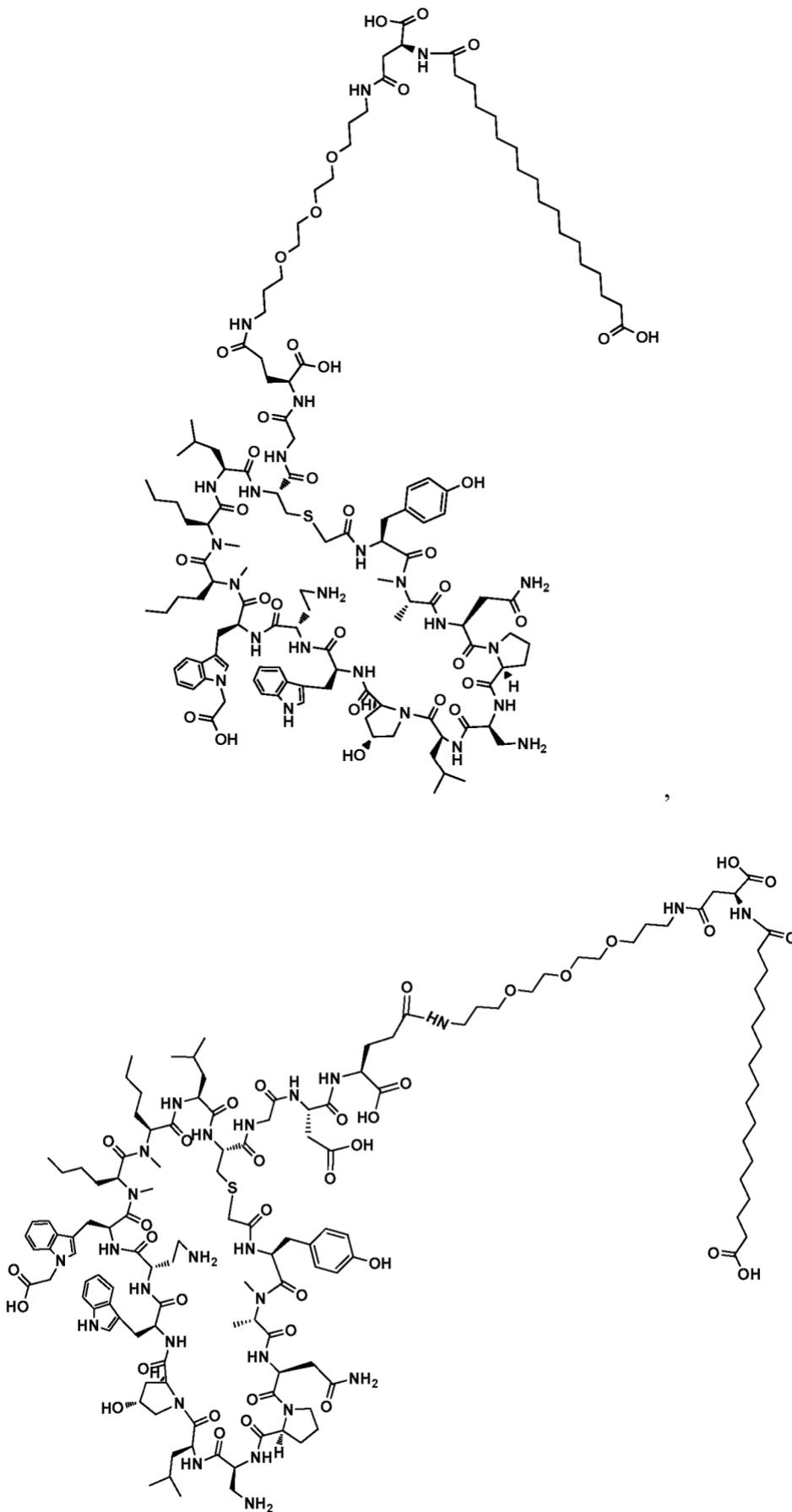


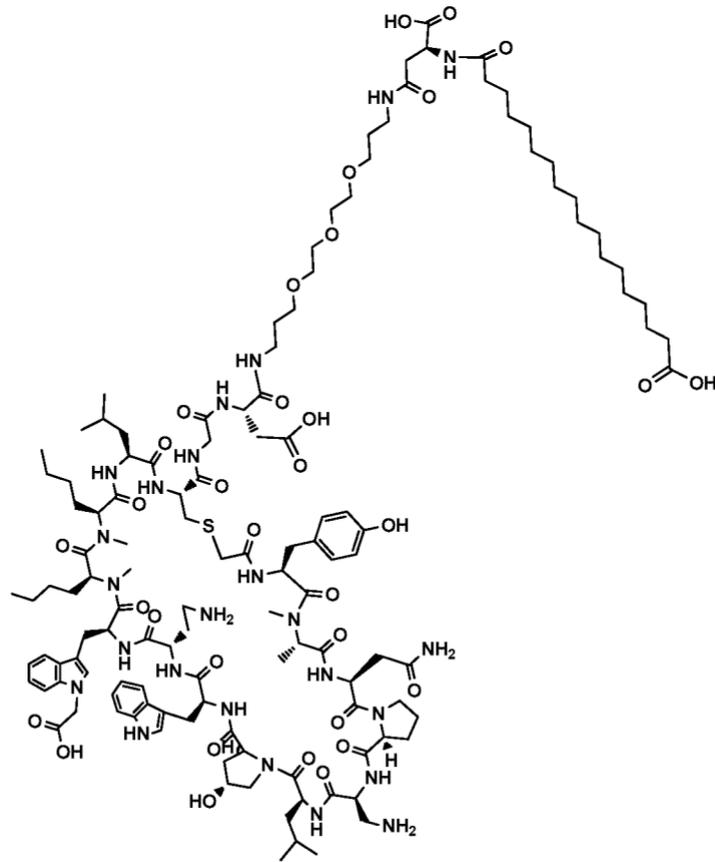
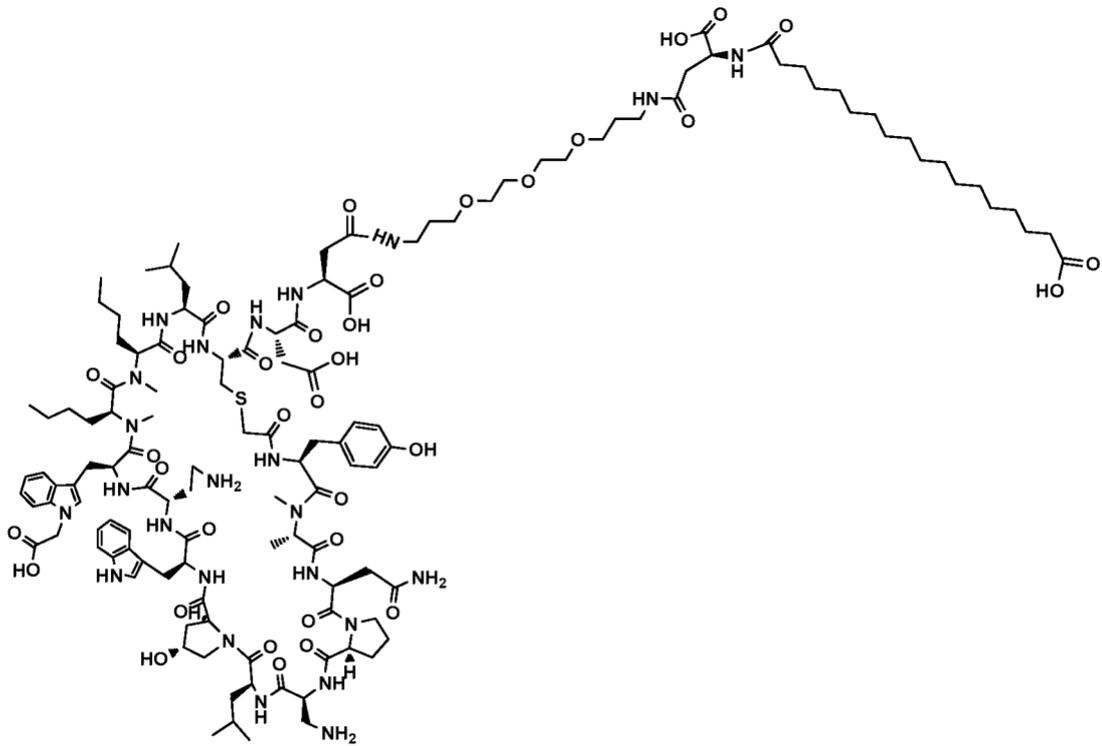


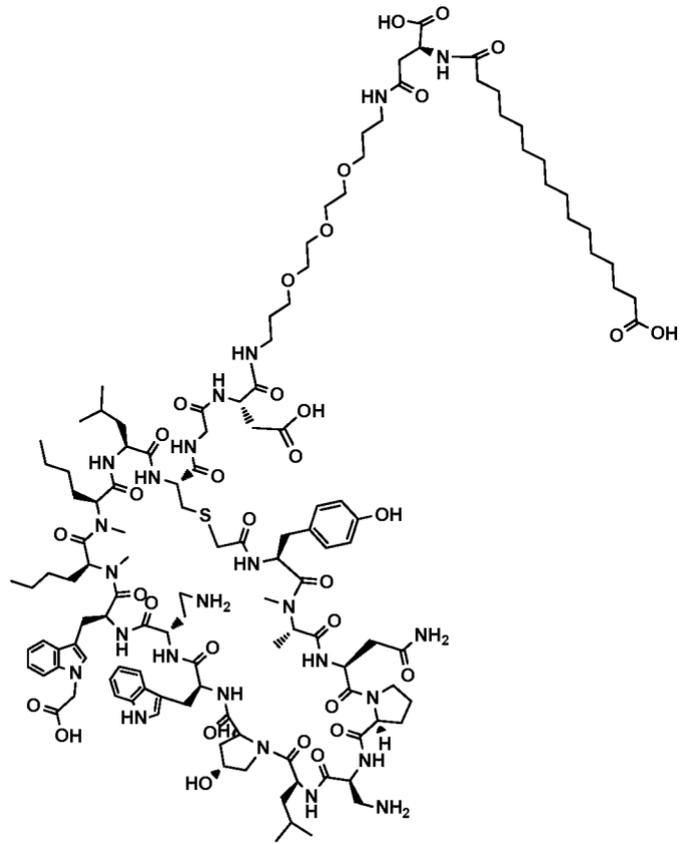




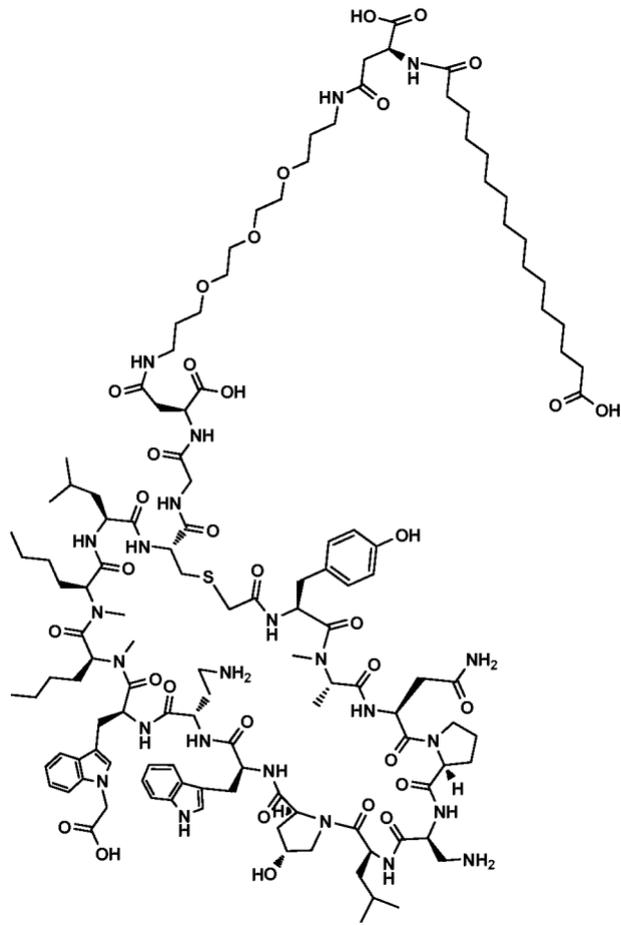


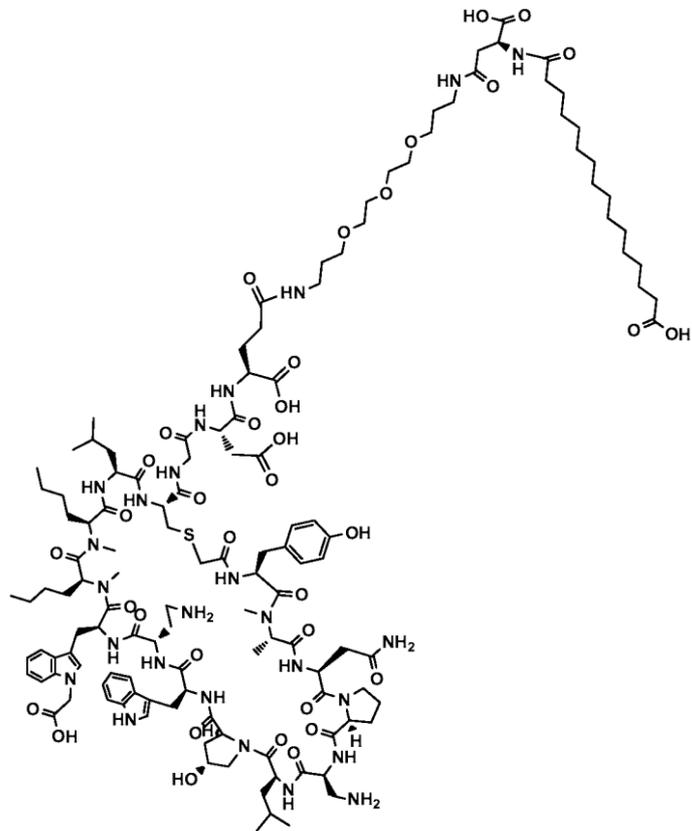
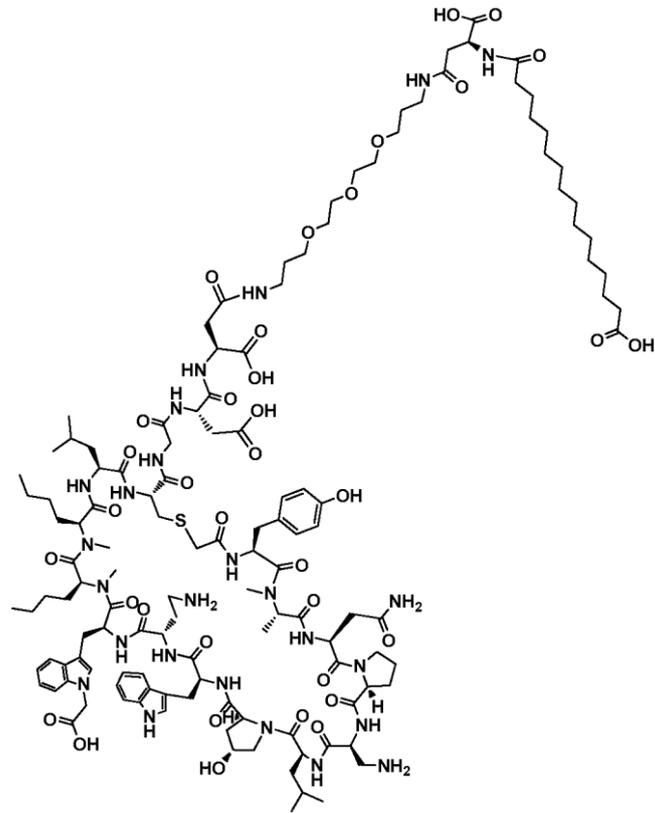


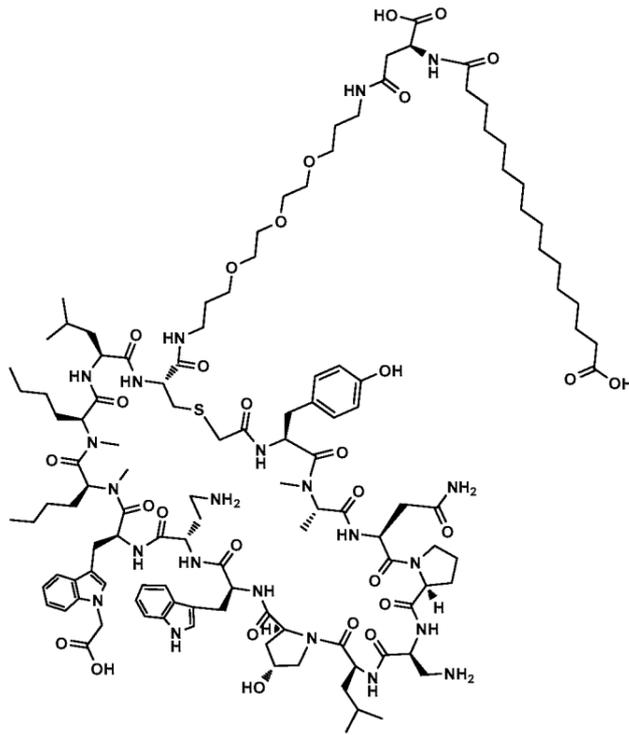




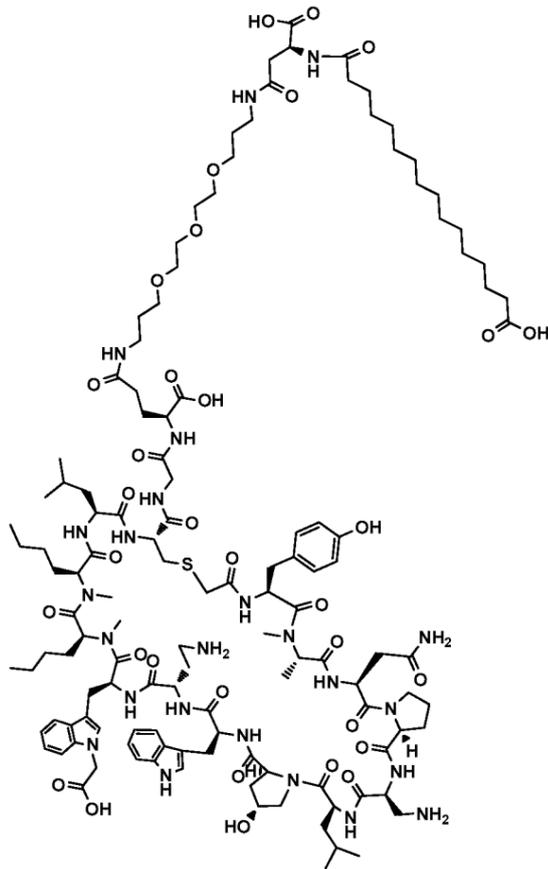
2







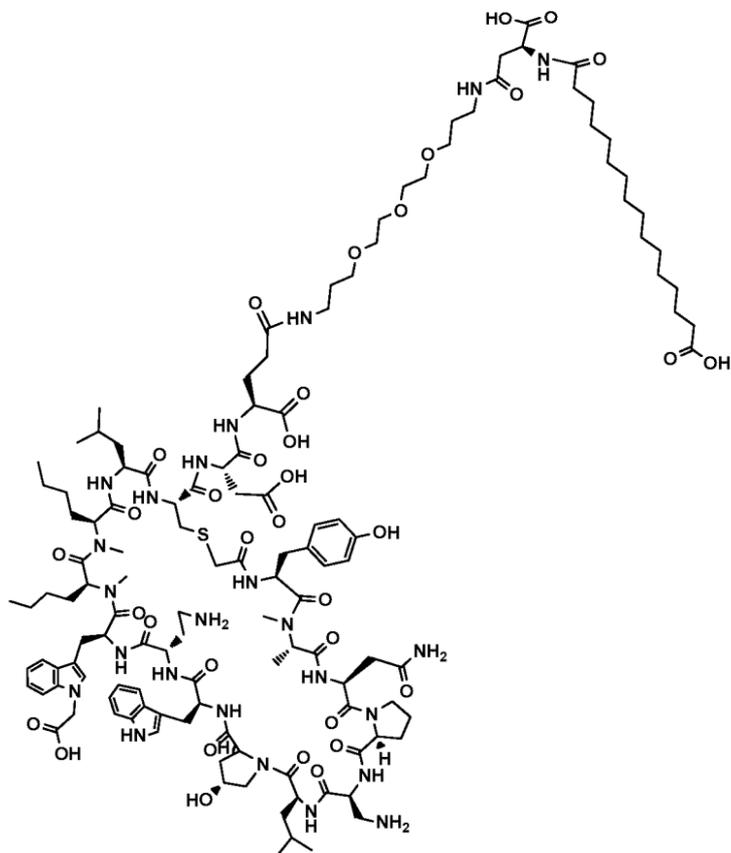
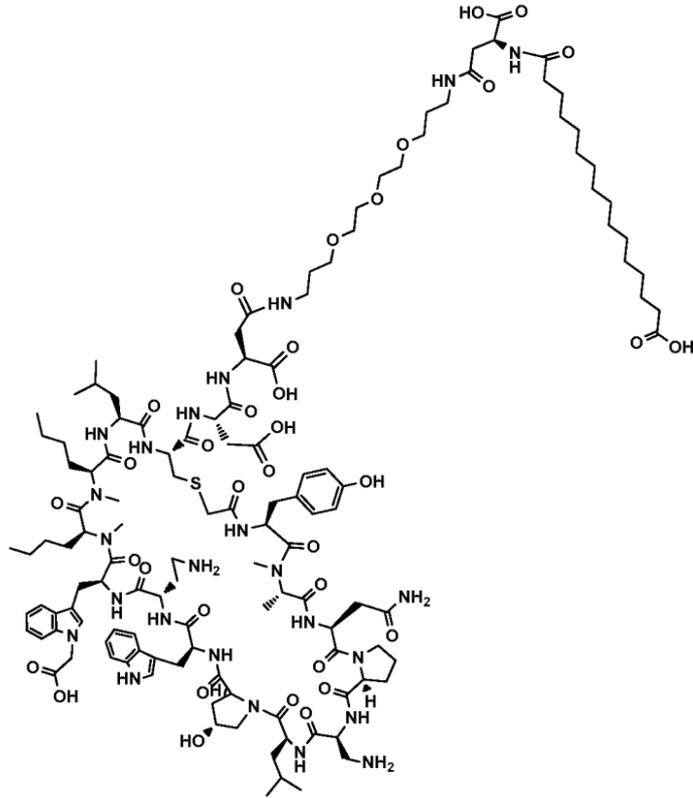
y

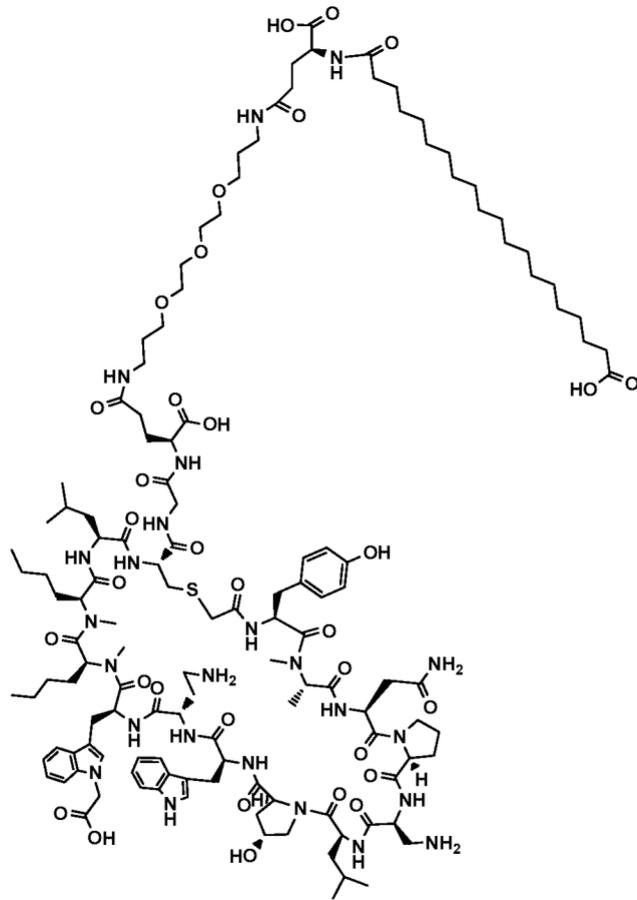


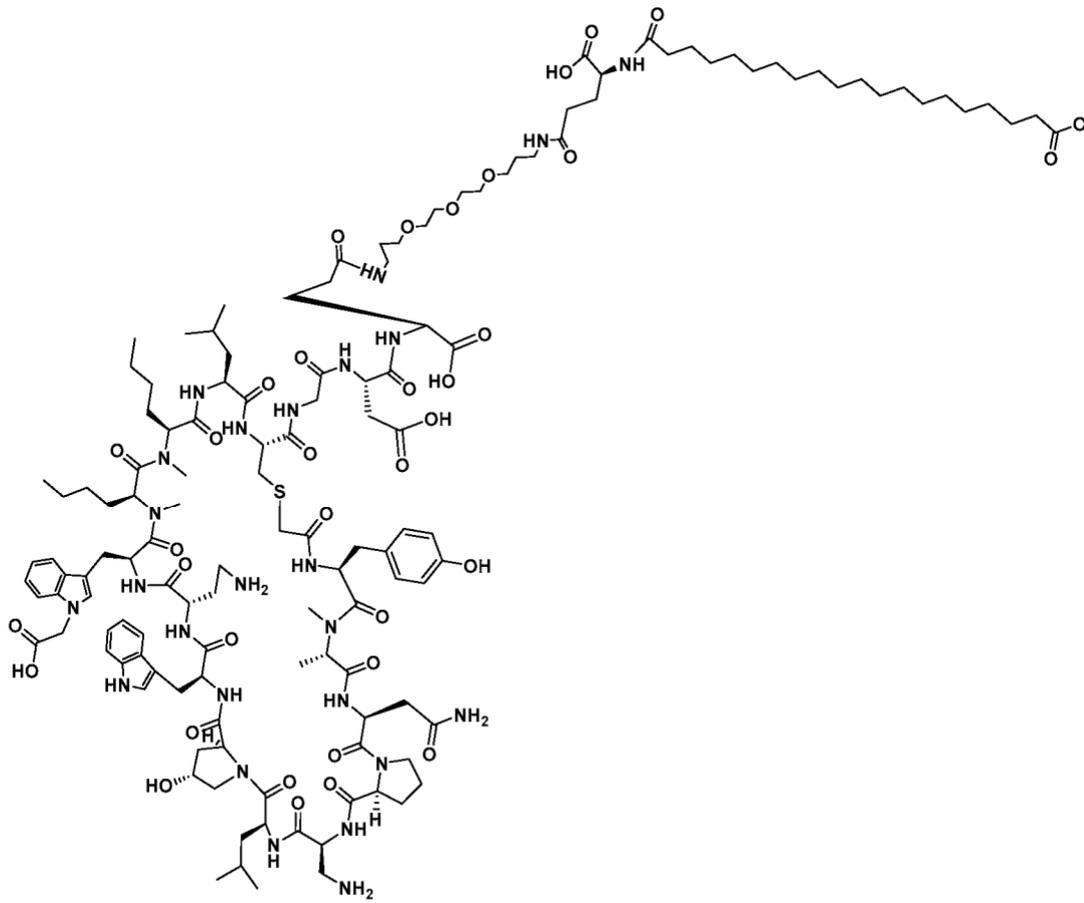
5

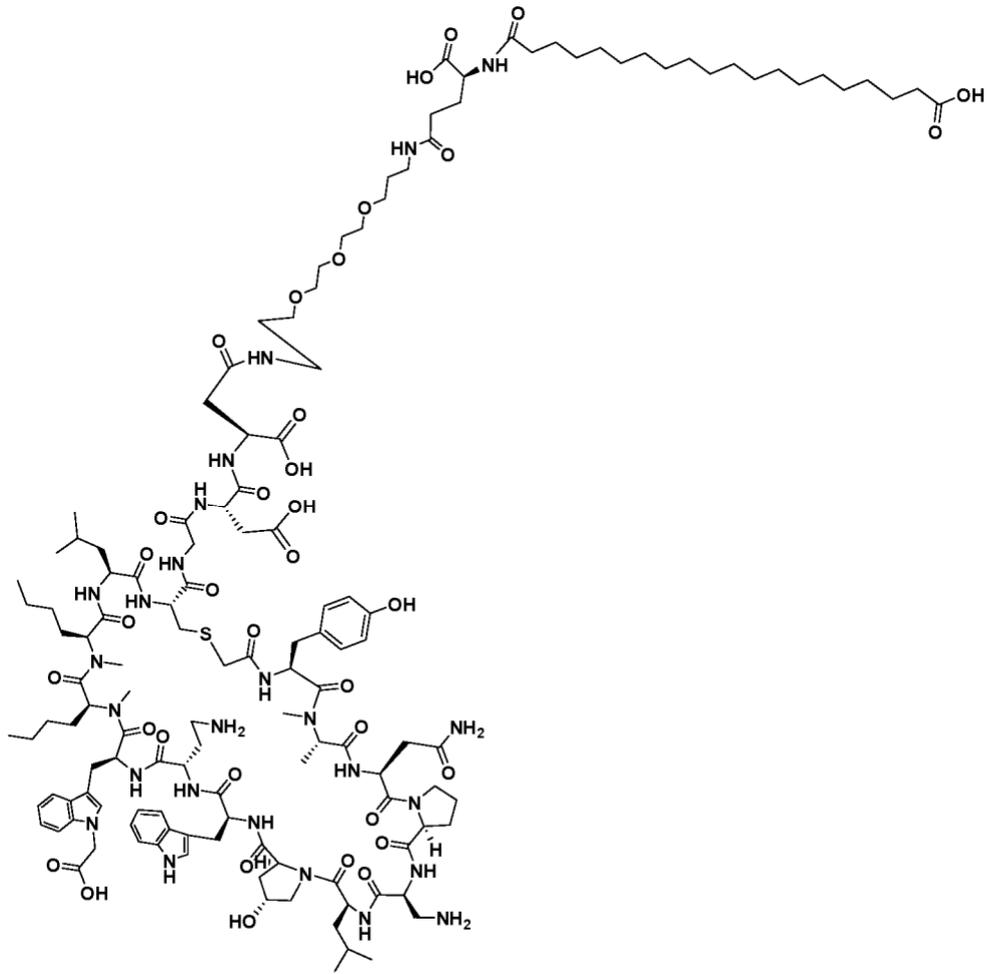
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

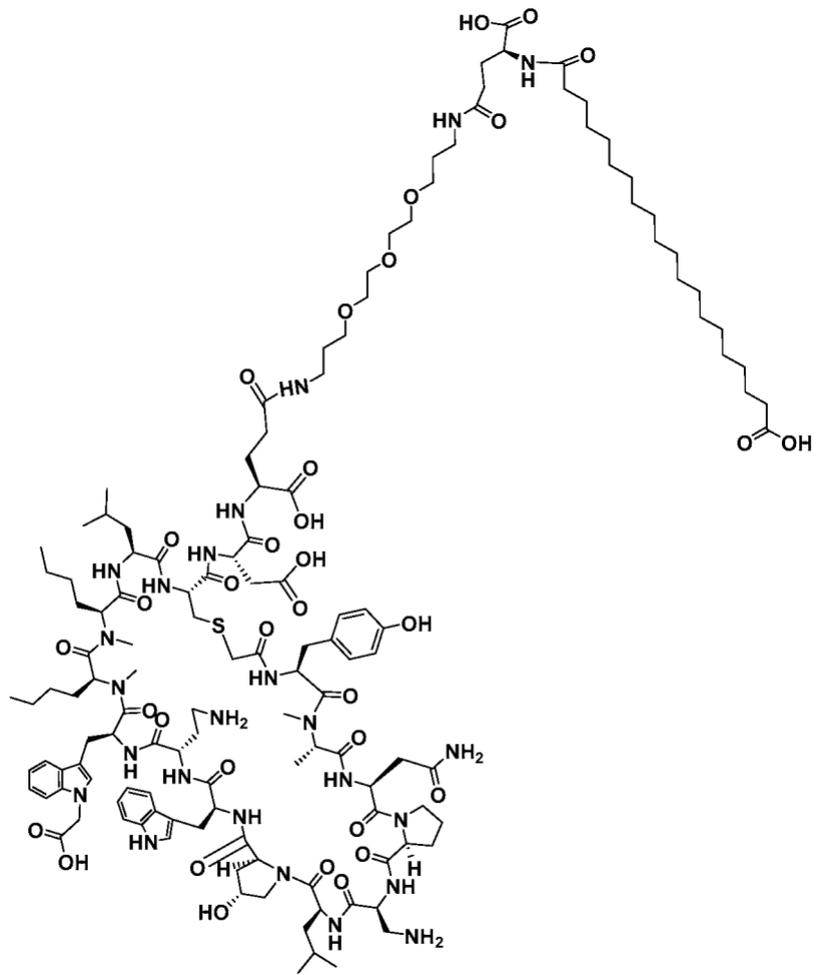
23. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 16 seleccionado de:

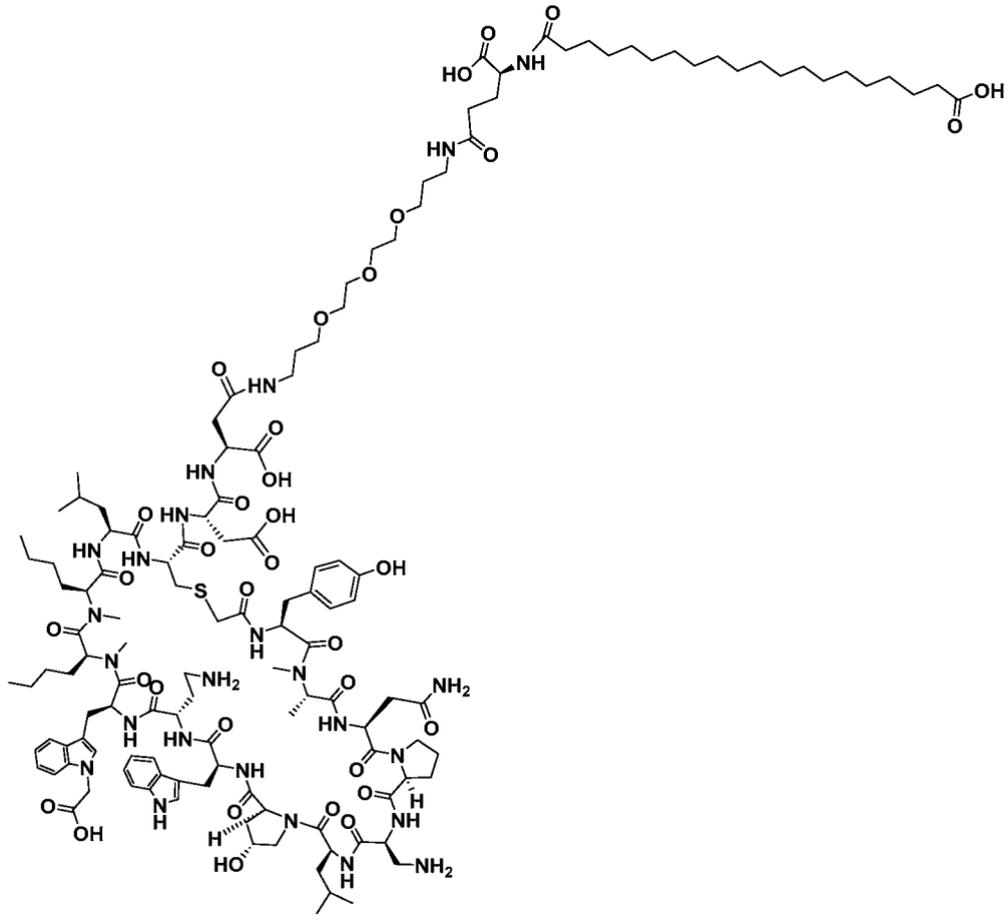


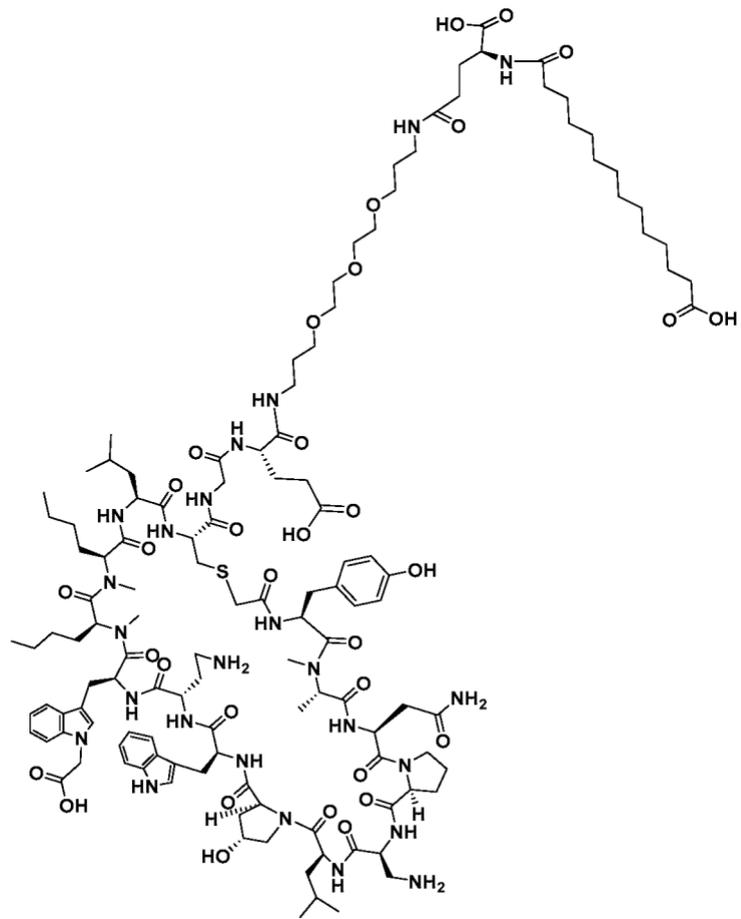


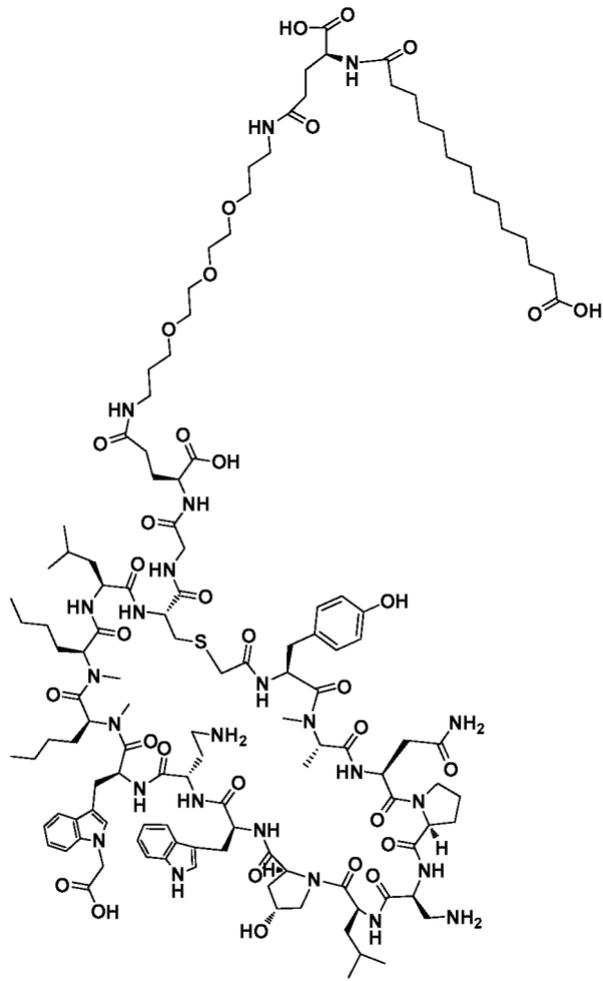




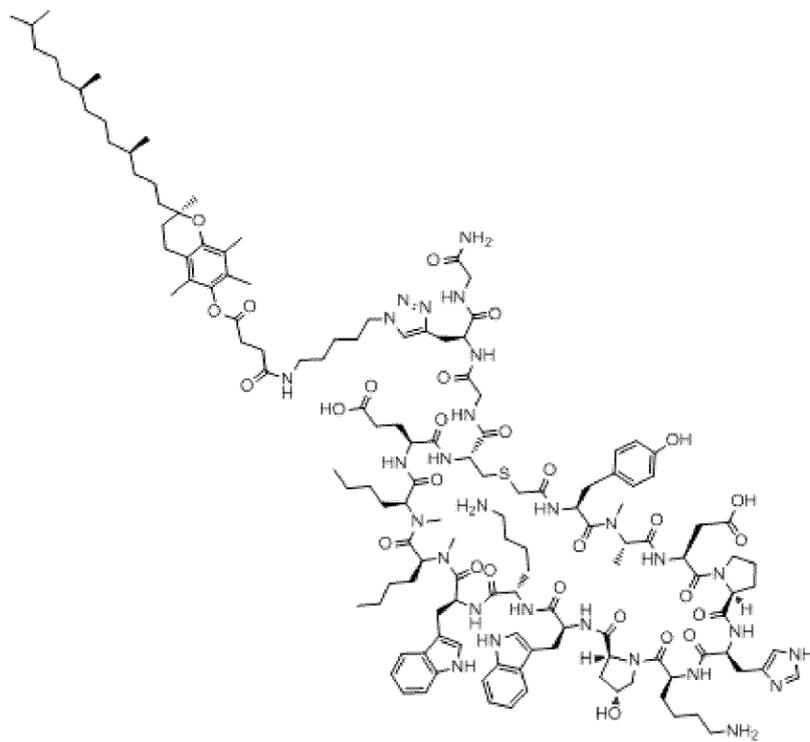
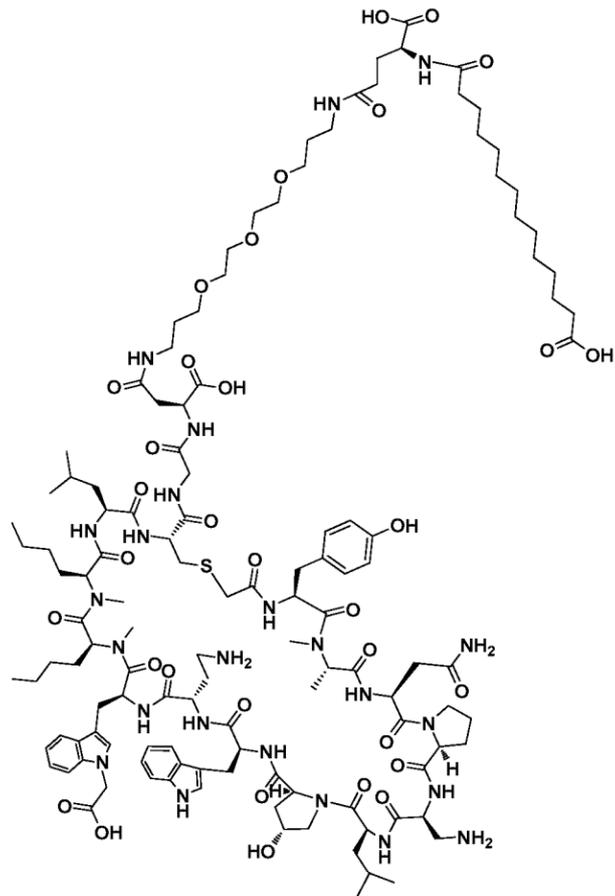


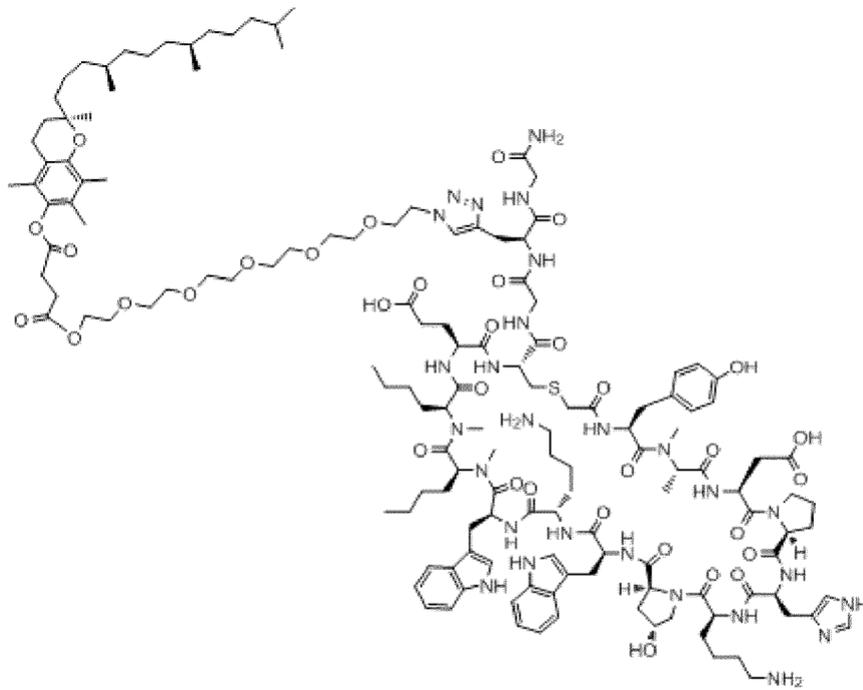
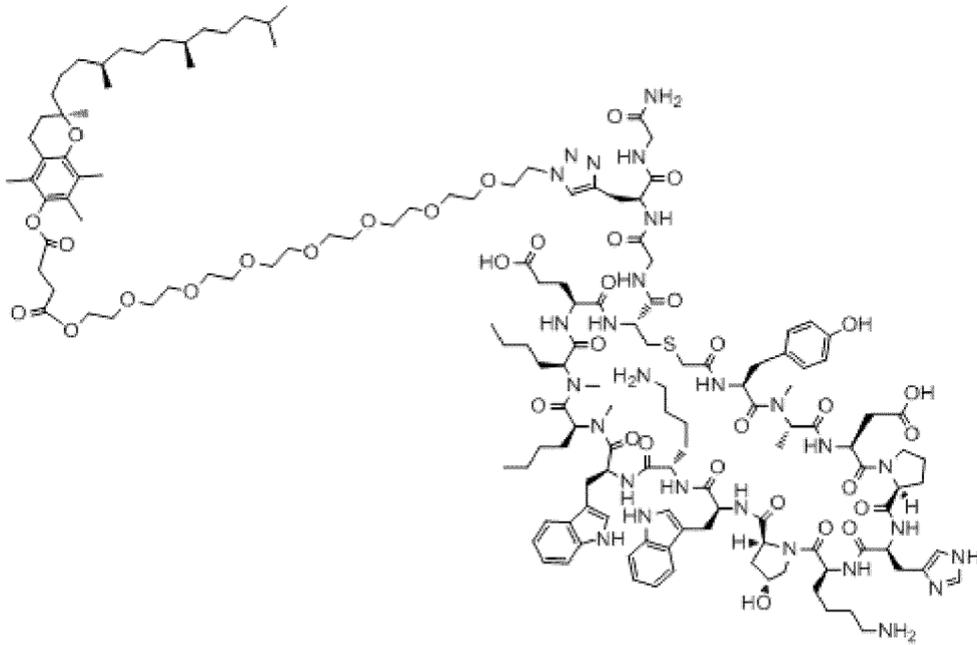


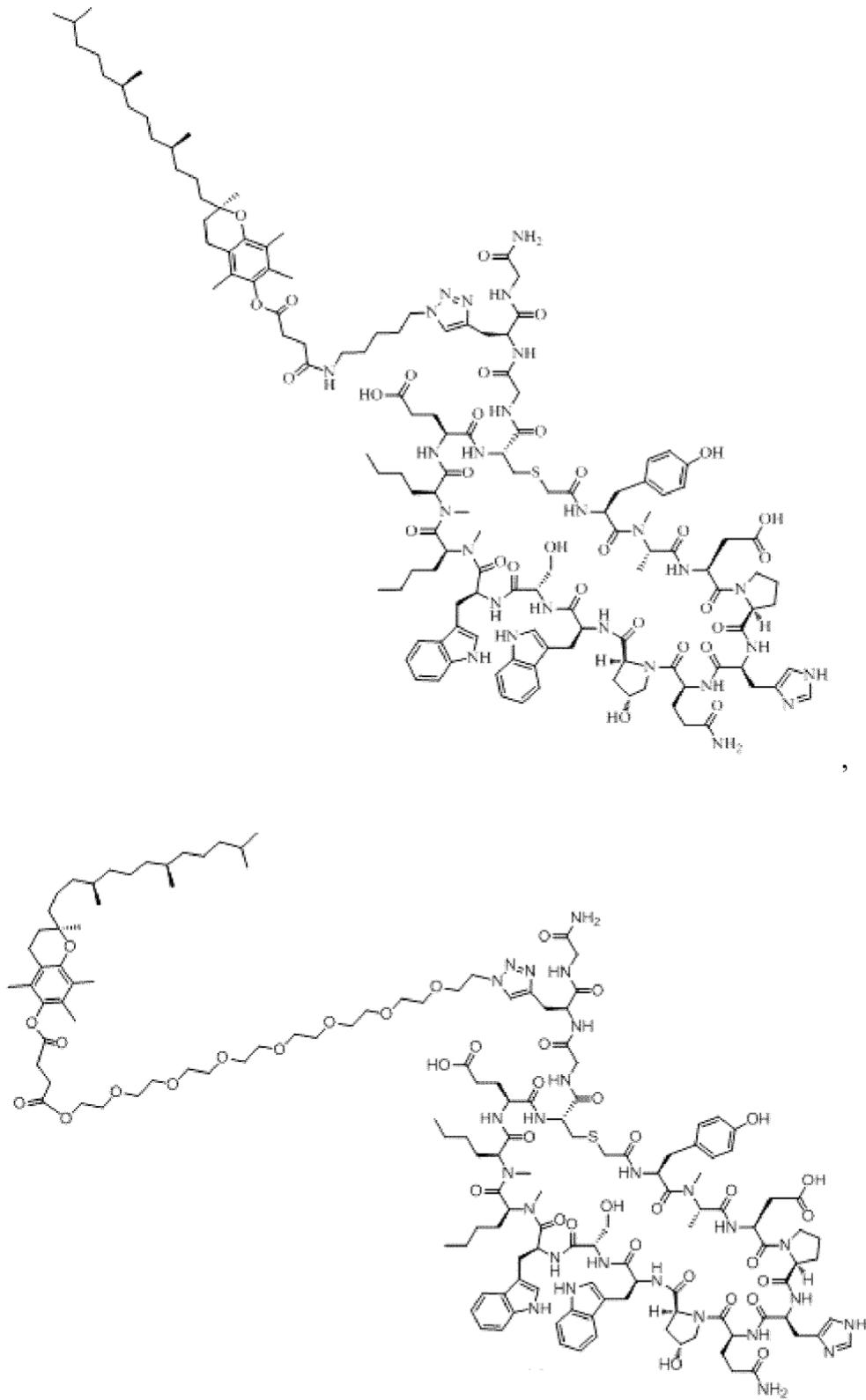


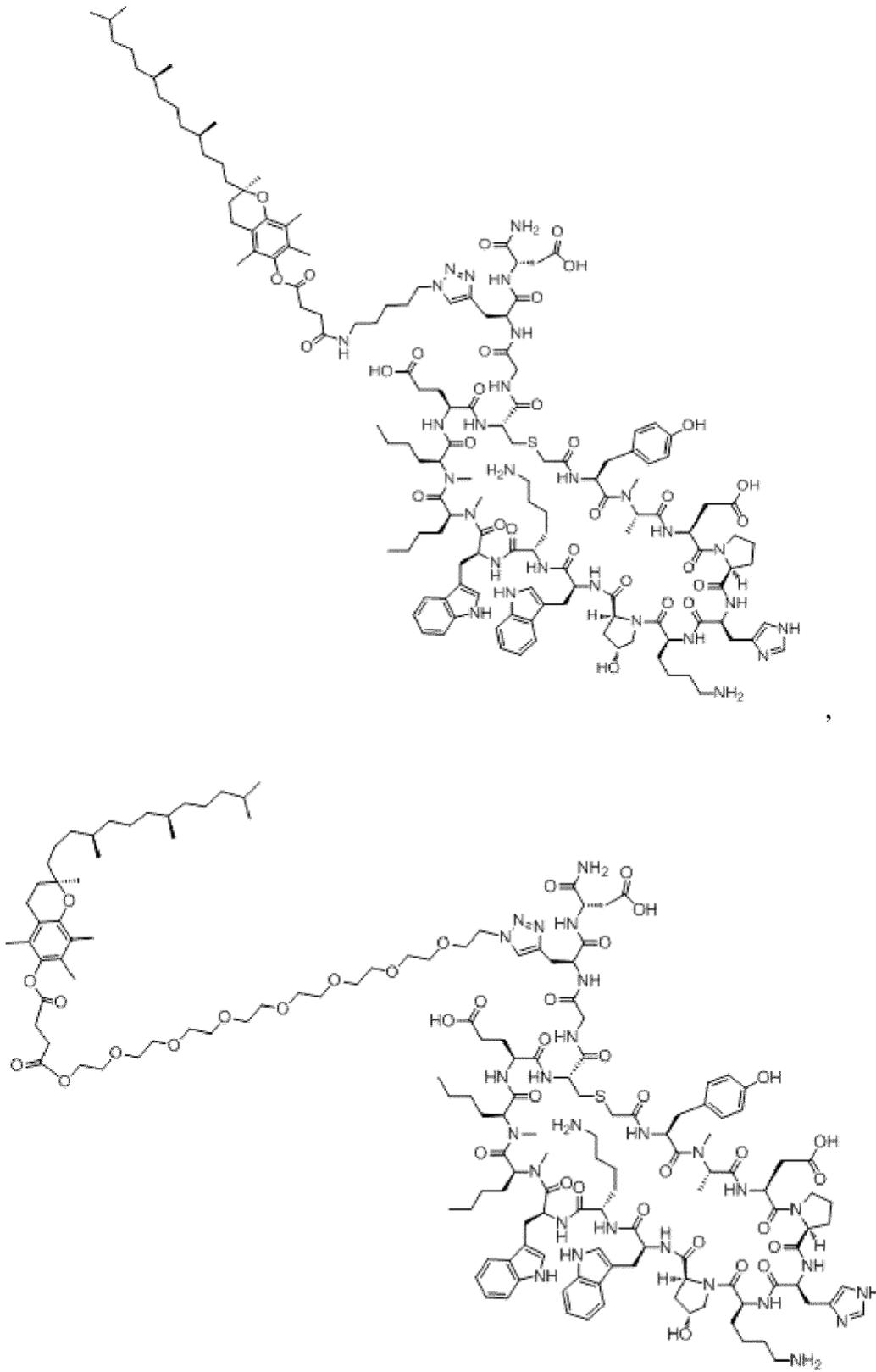


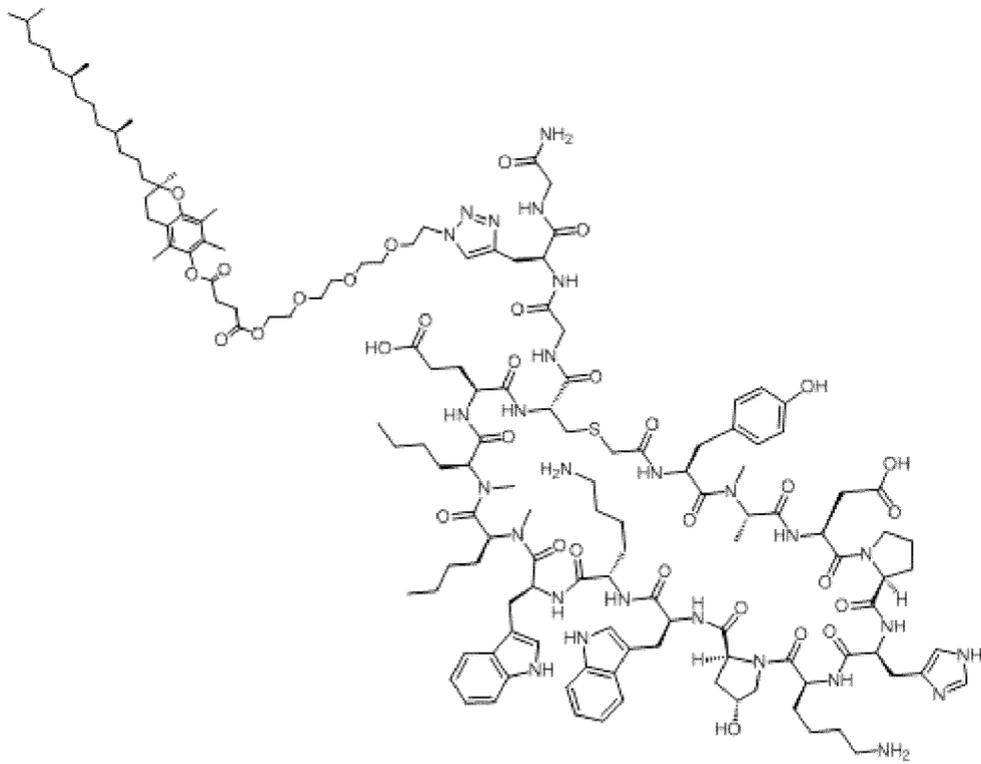
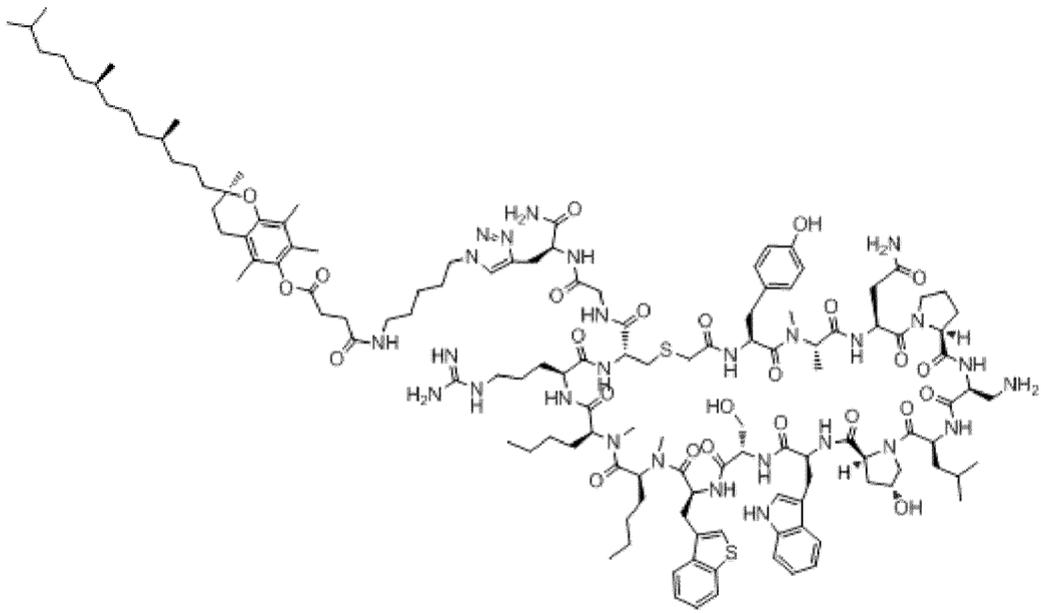
,

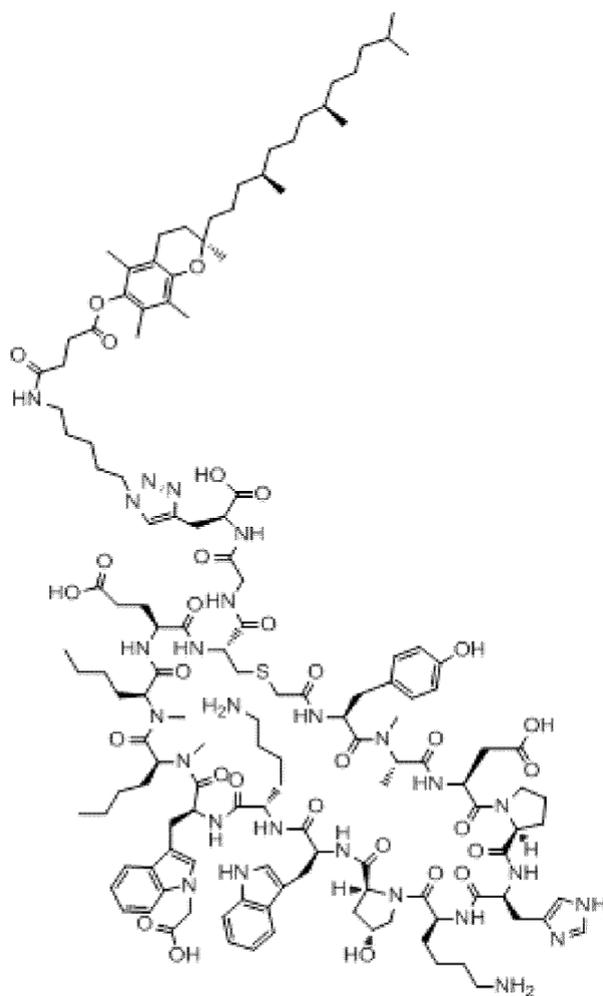


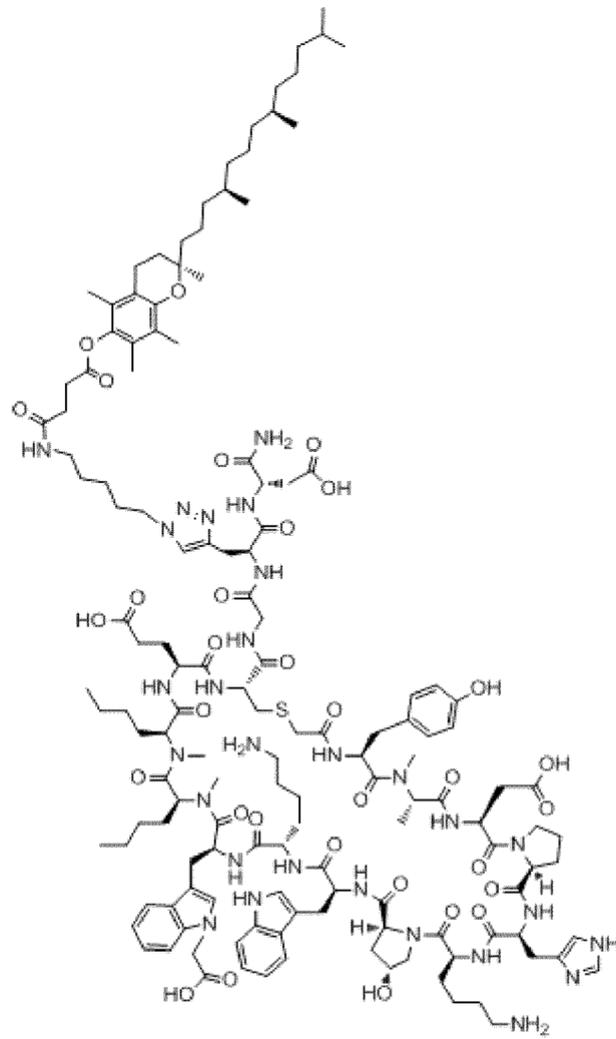


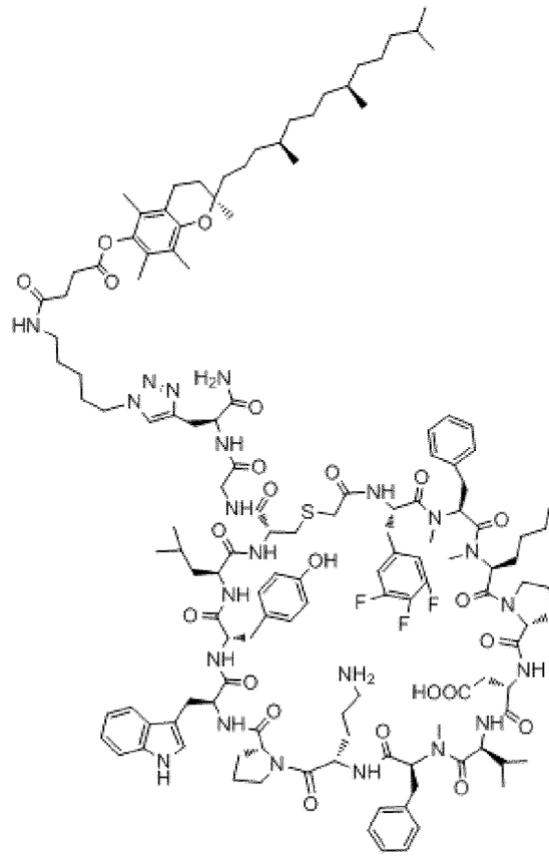


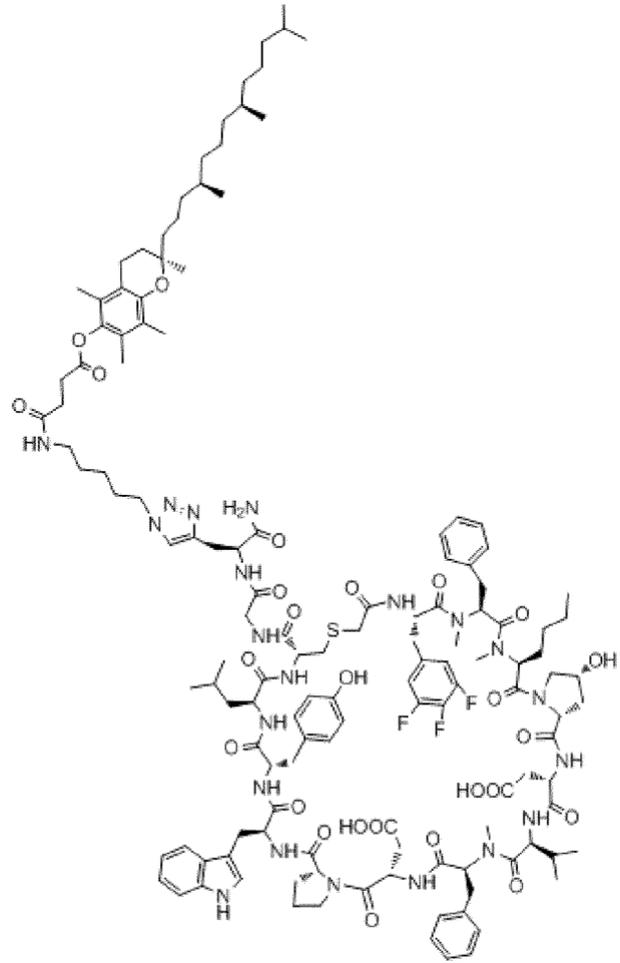


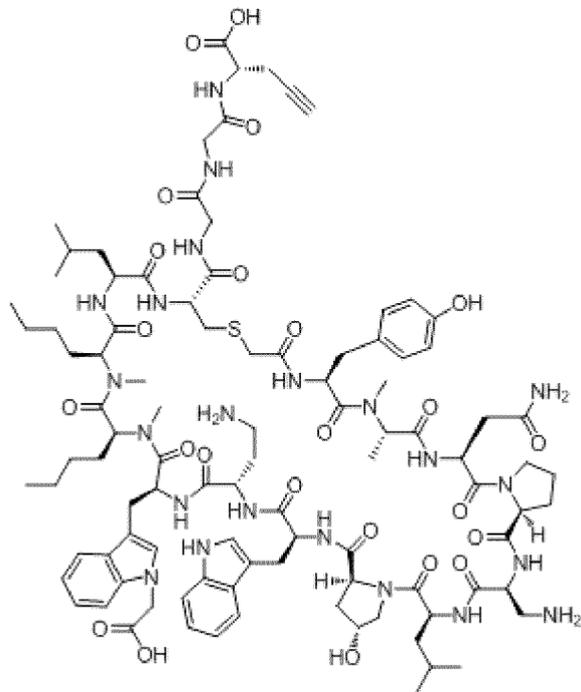
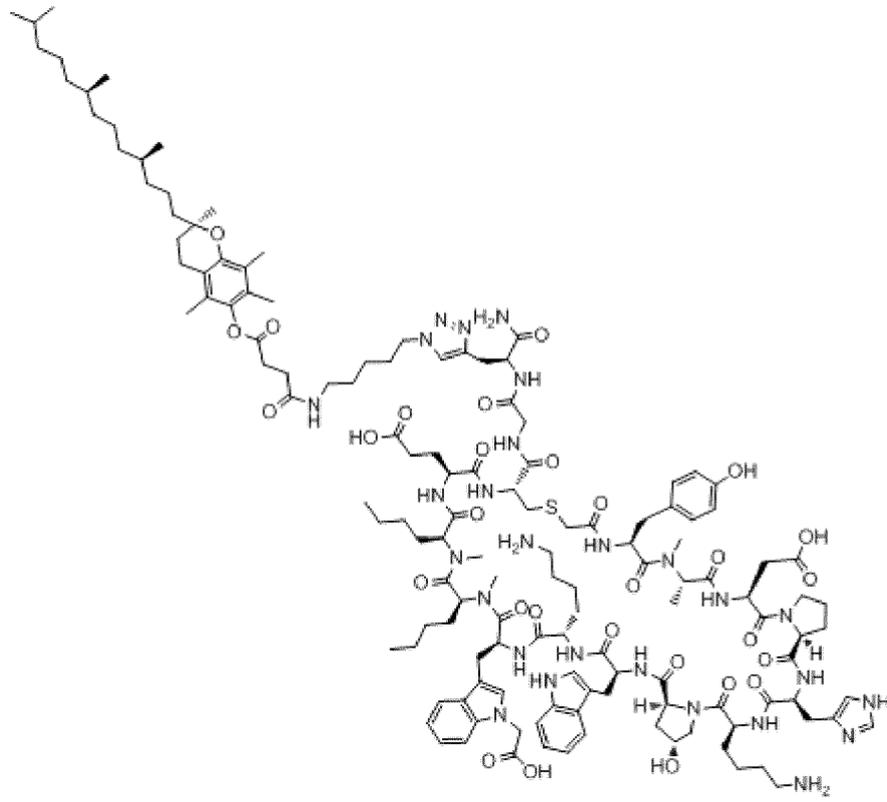


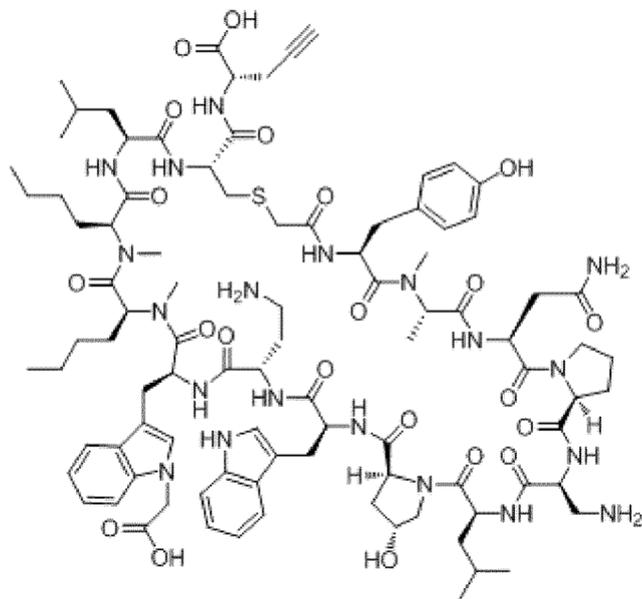
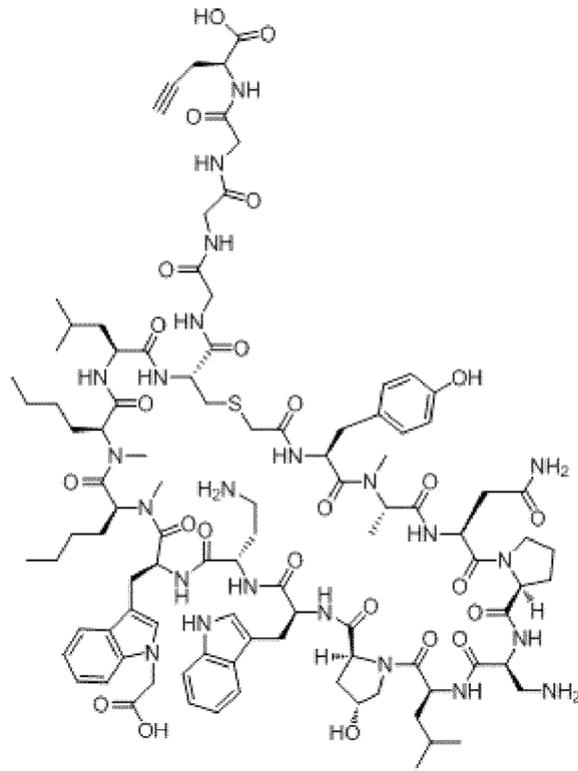


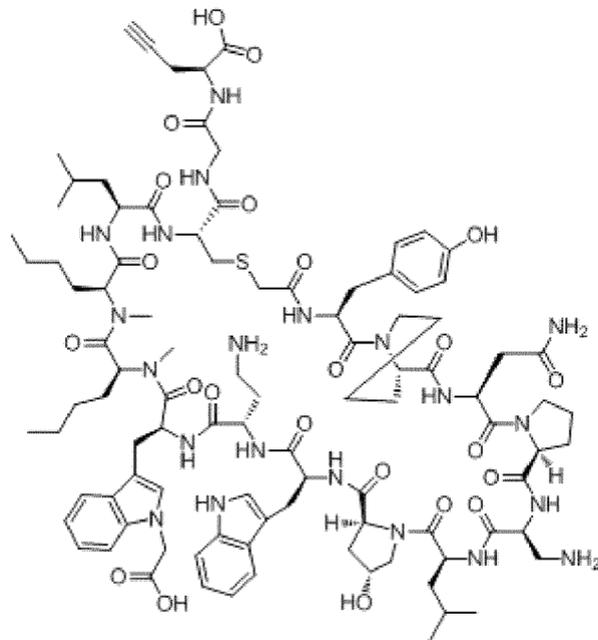
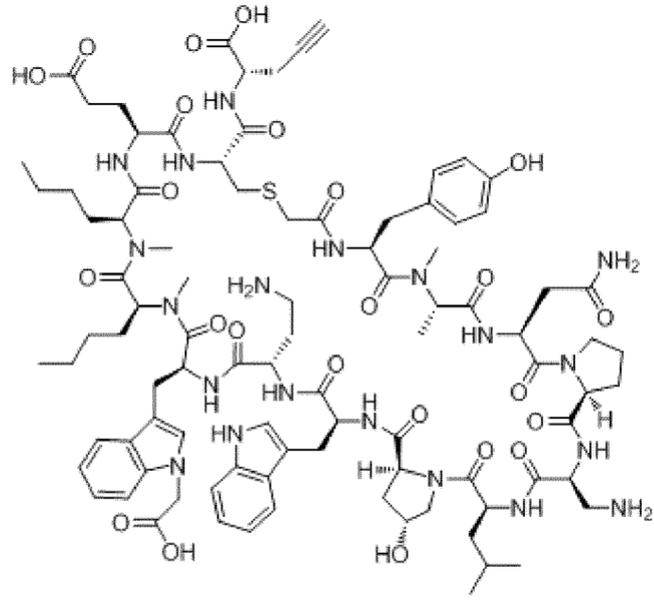


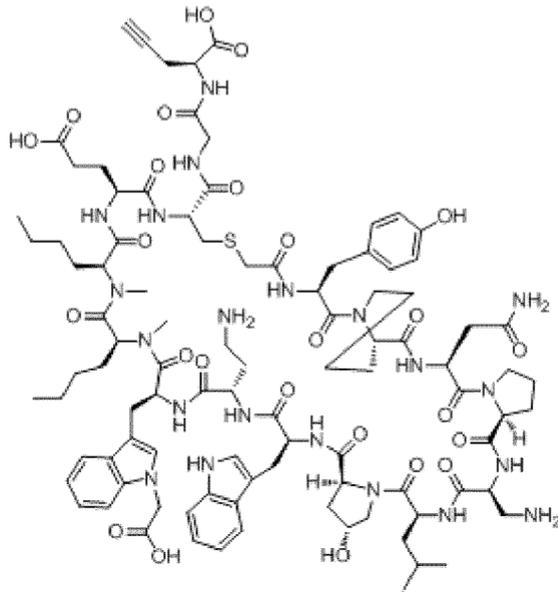
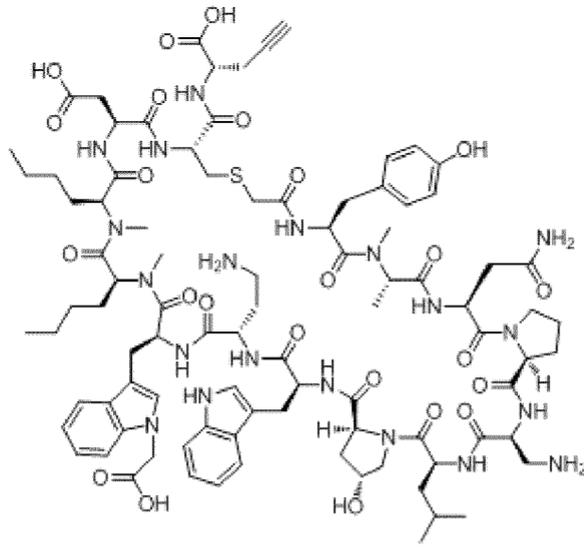


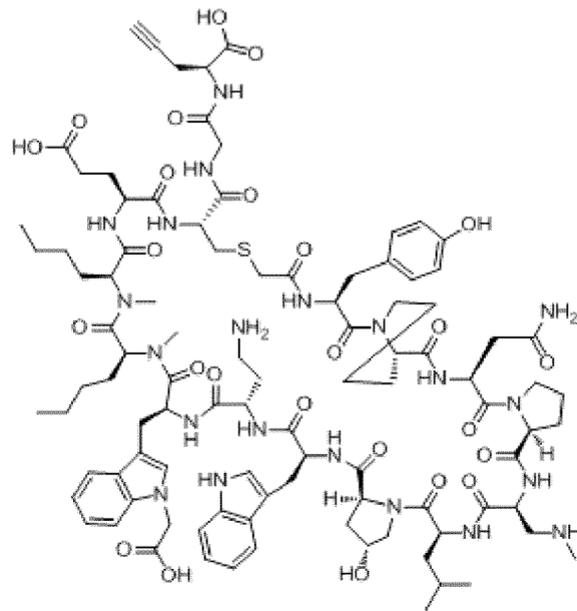
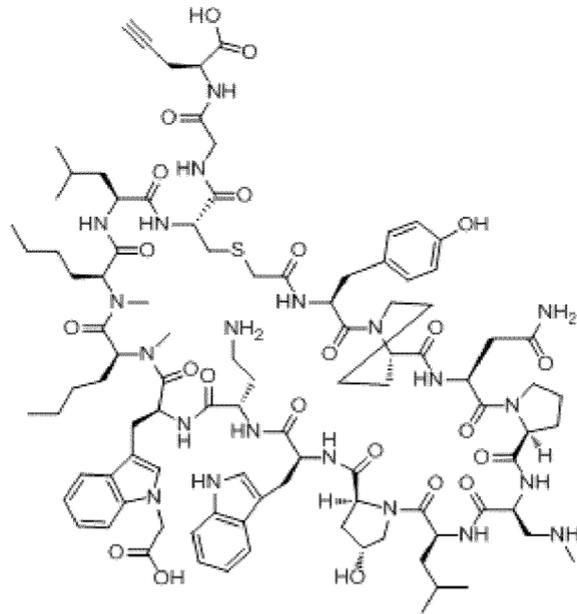


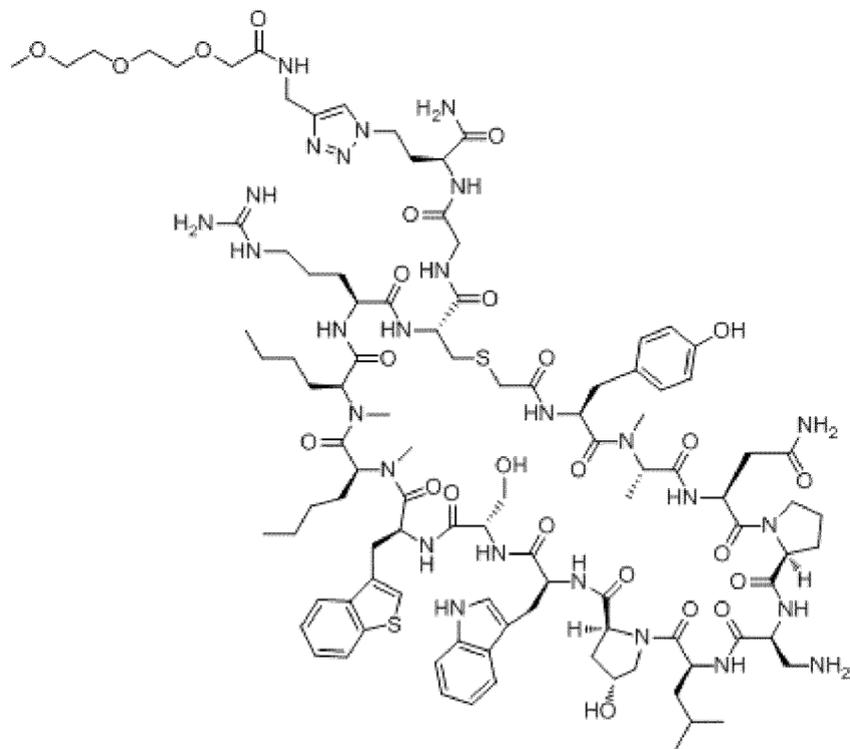
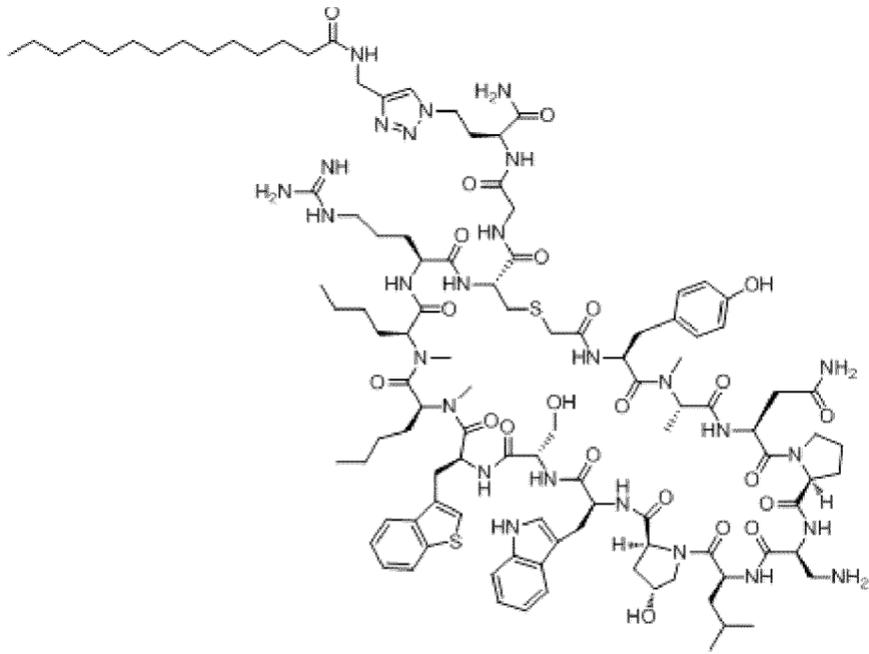


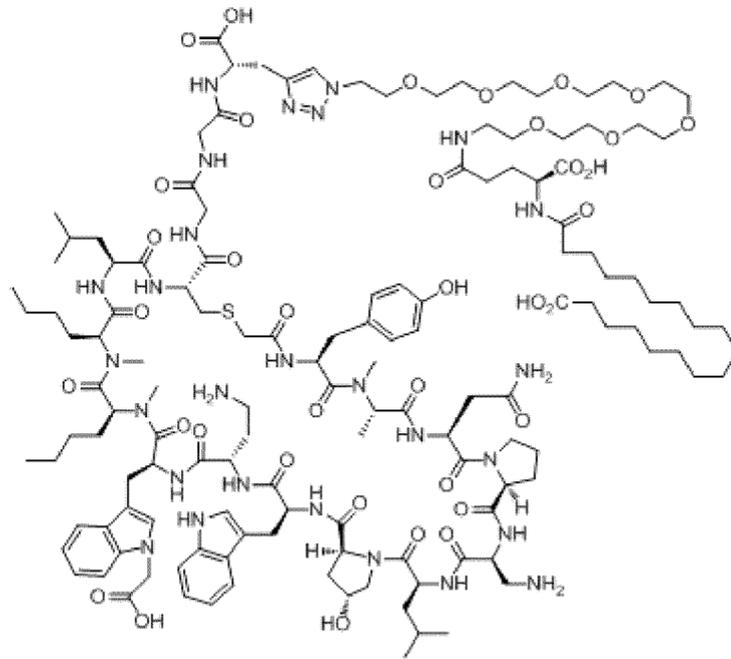
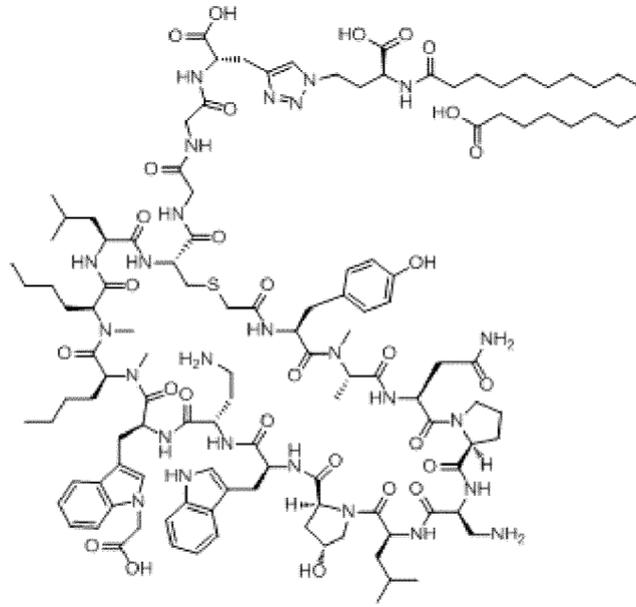


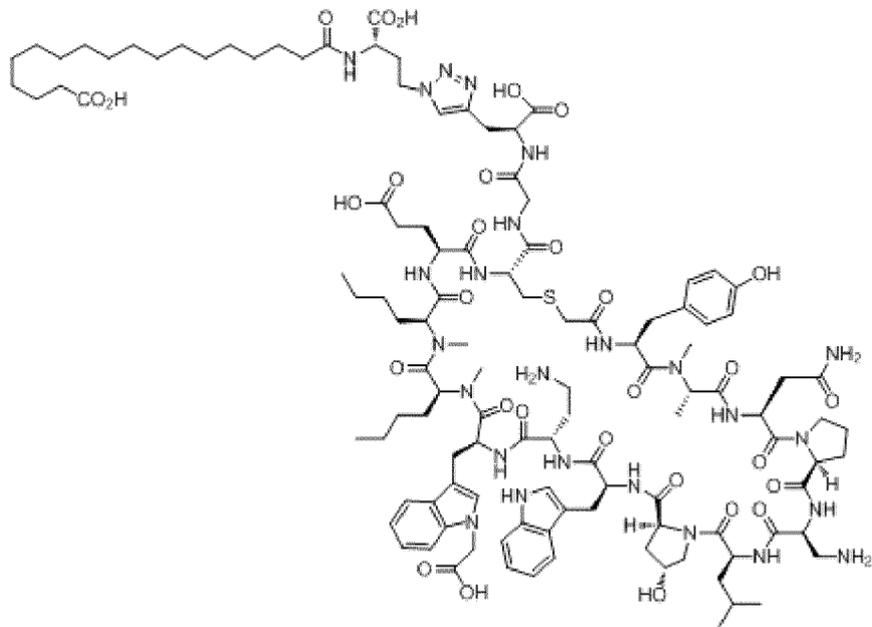
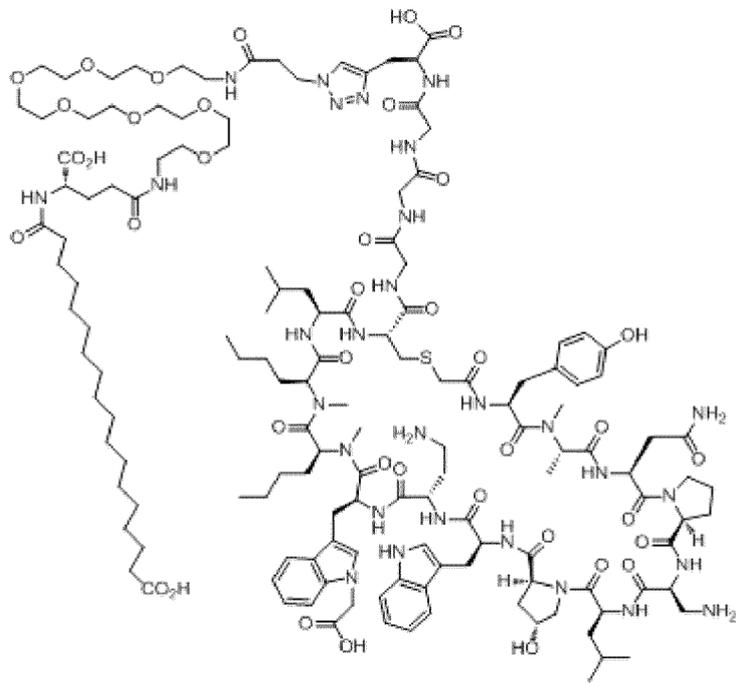


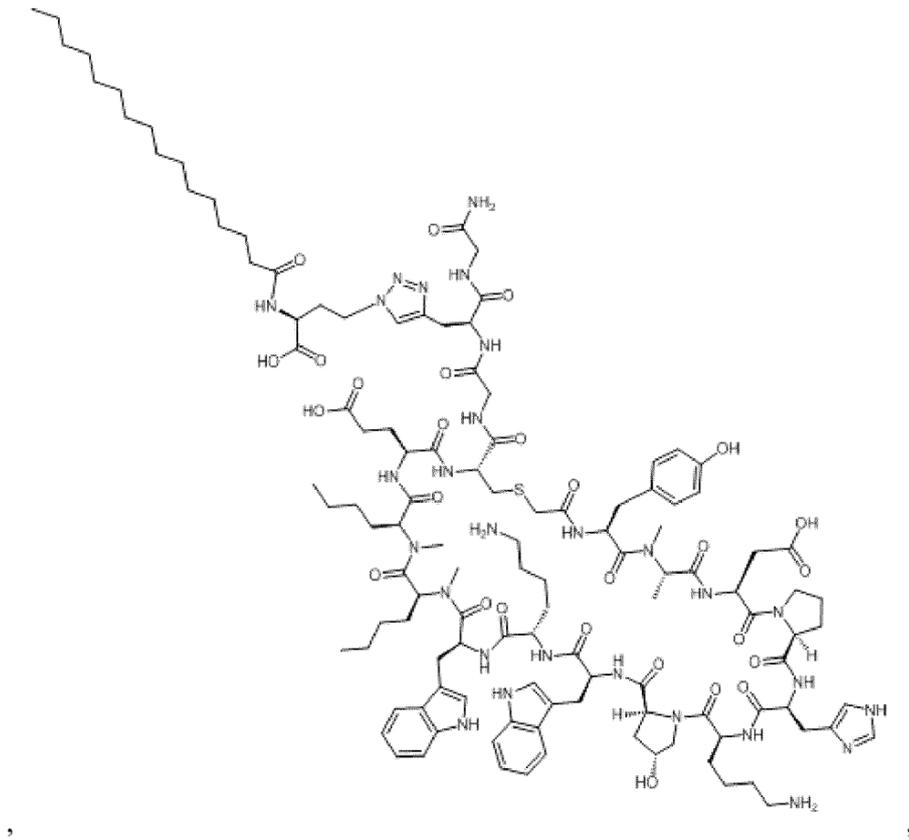




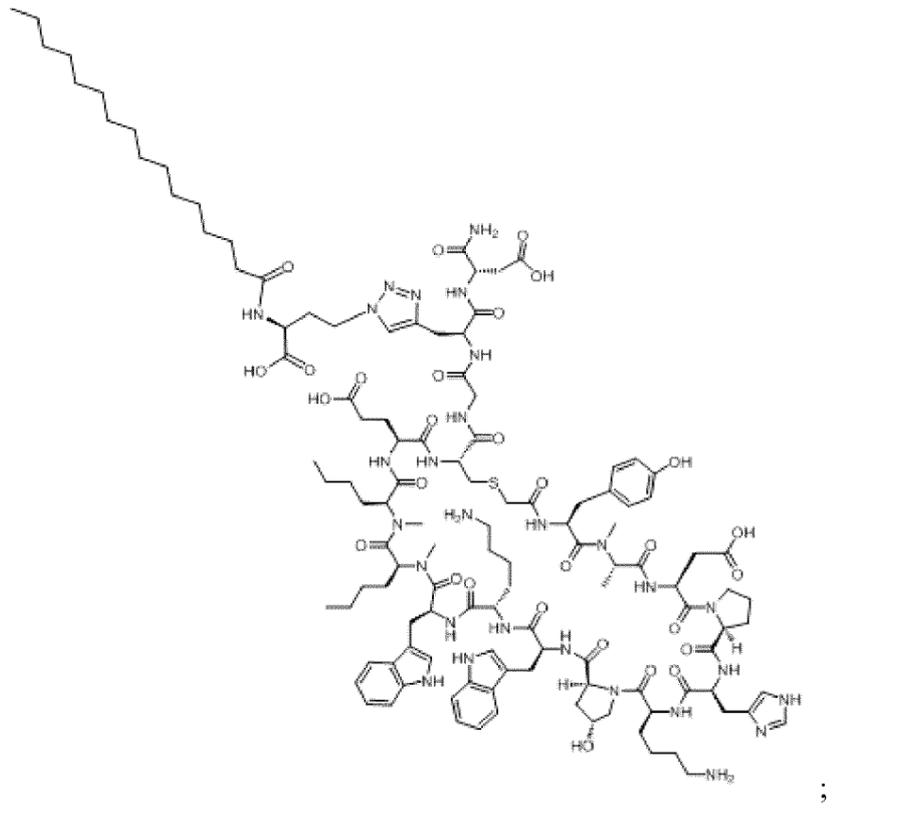








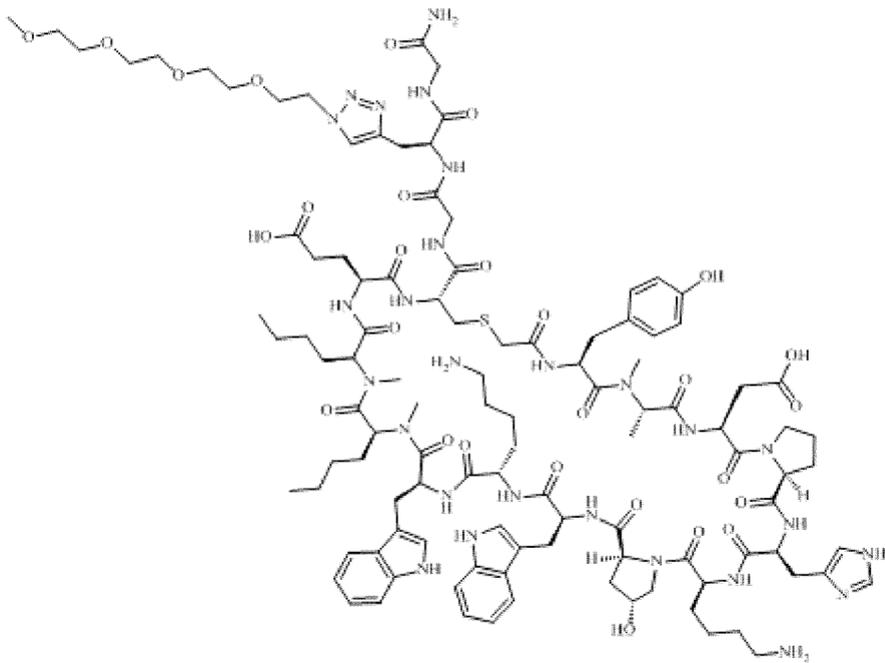
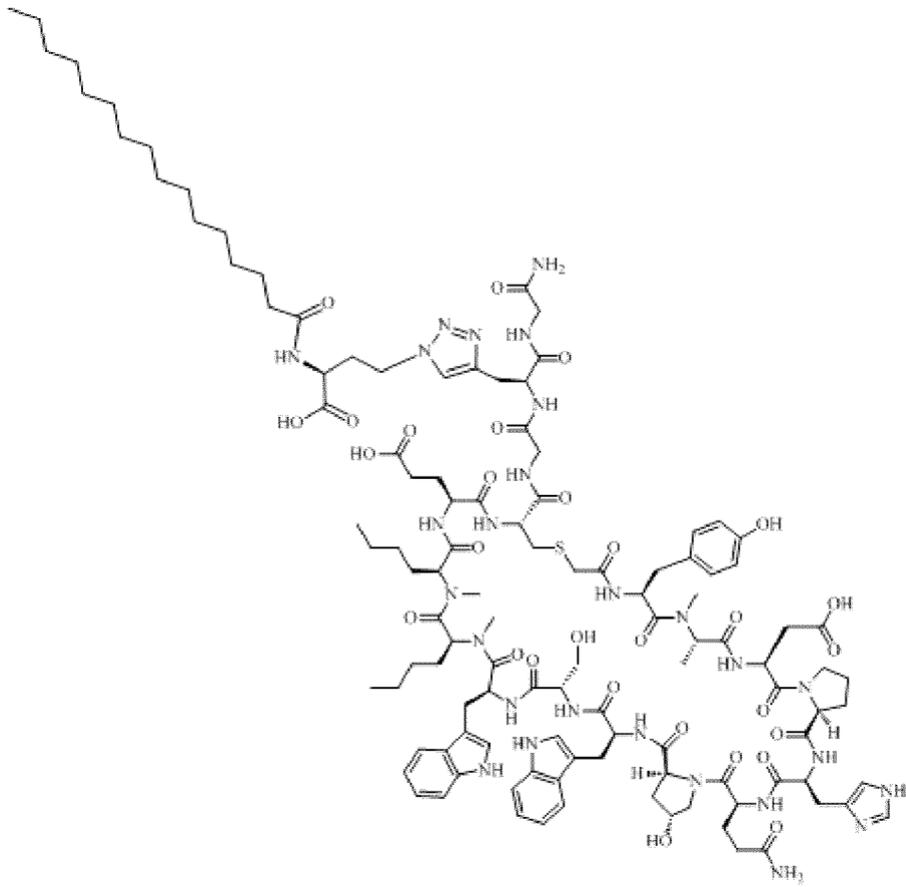
y

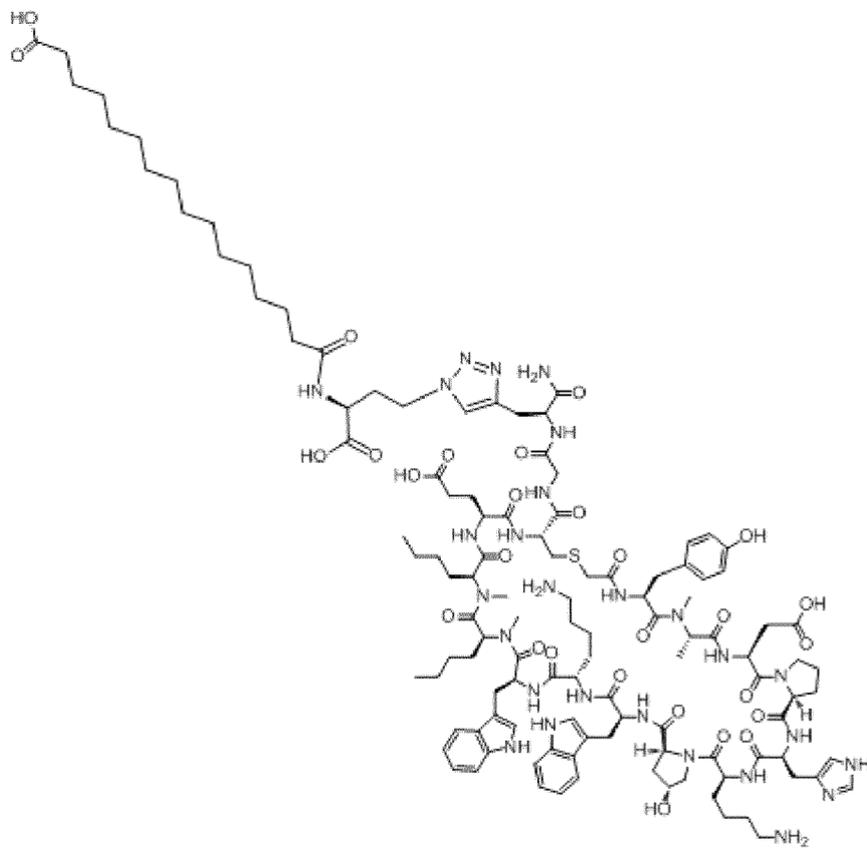
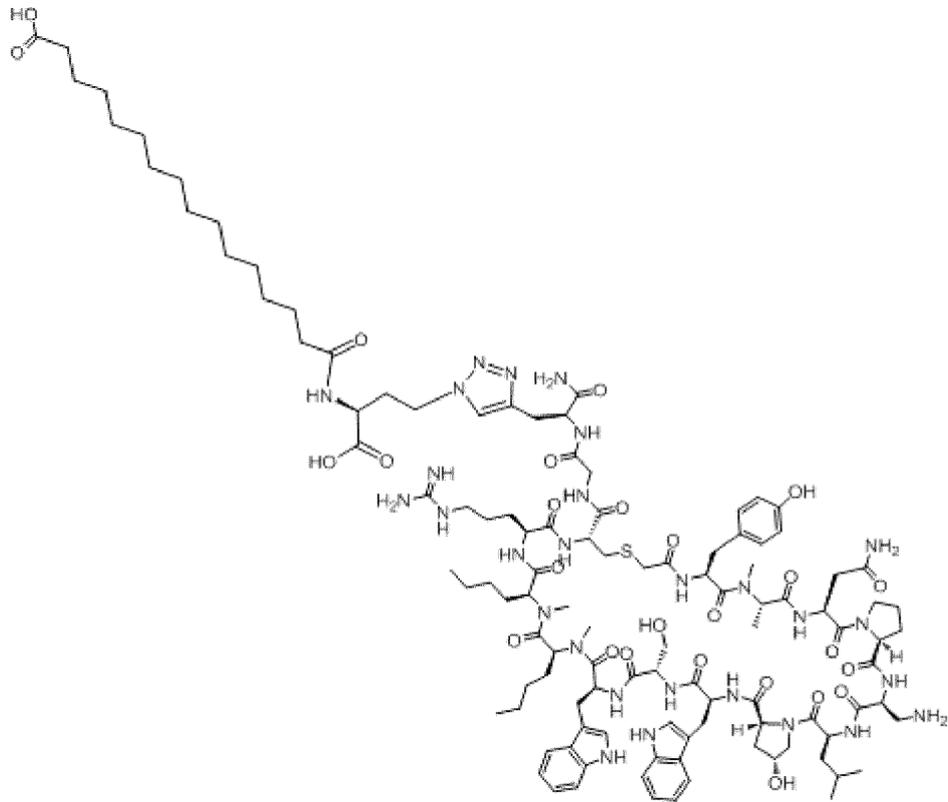


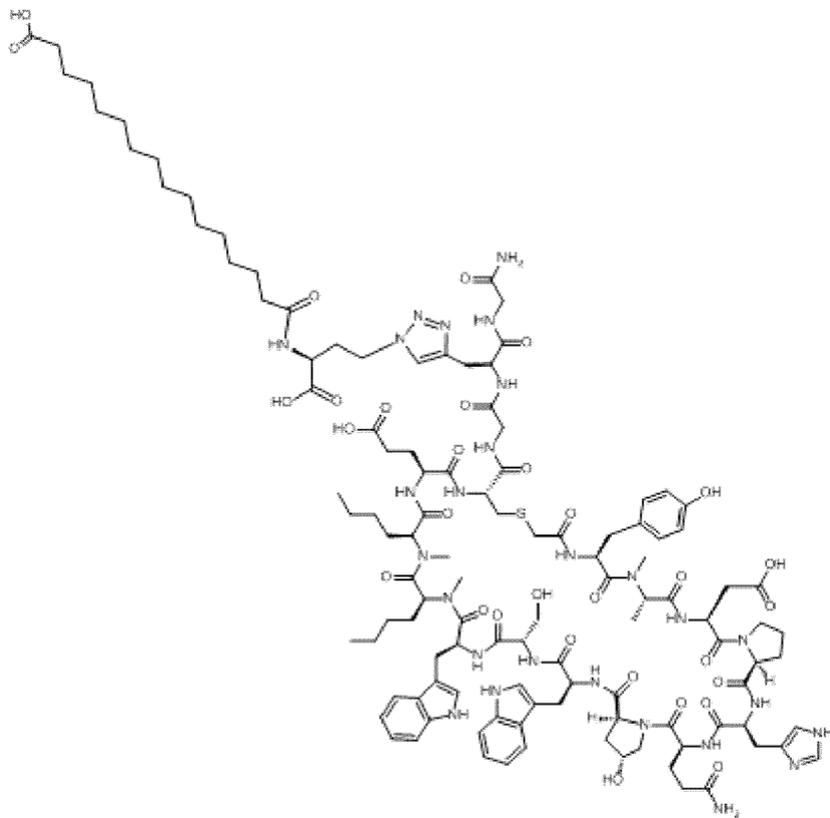
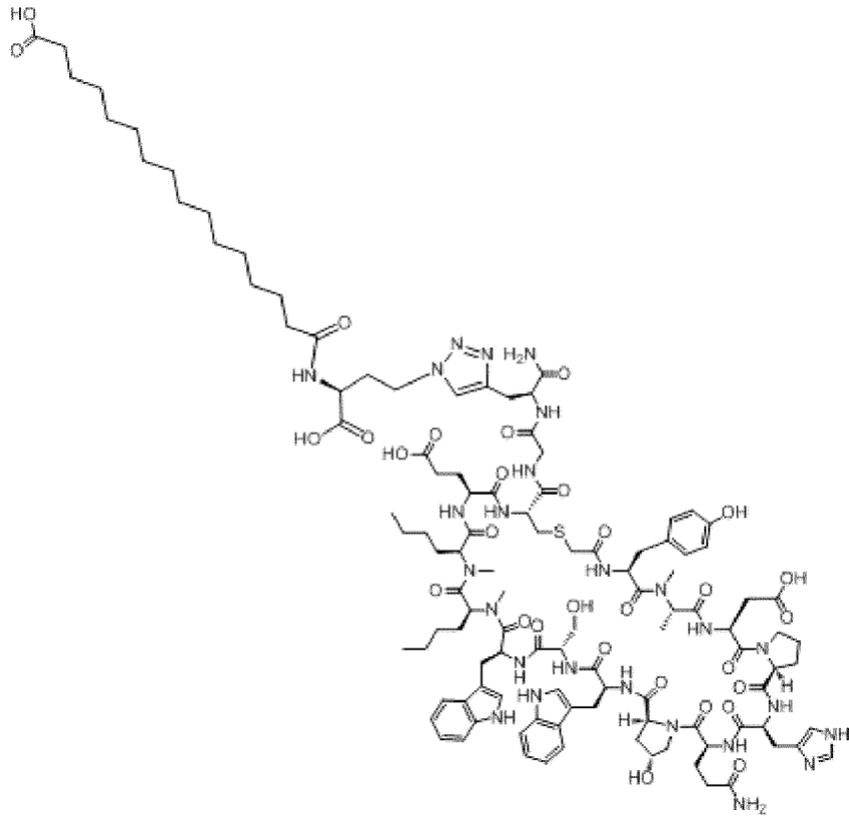
5

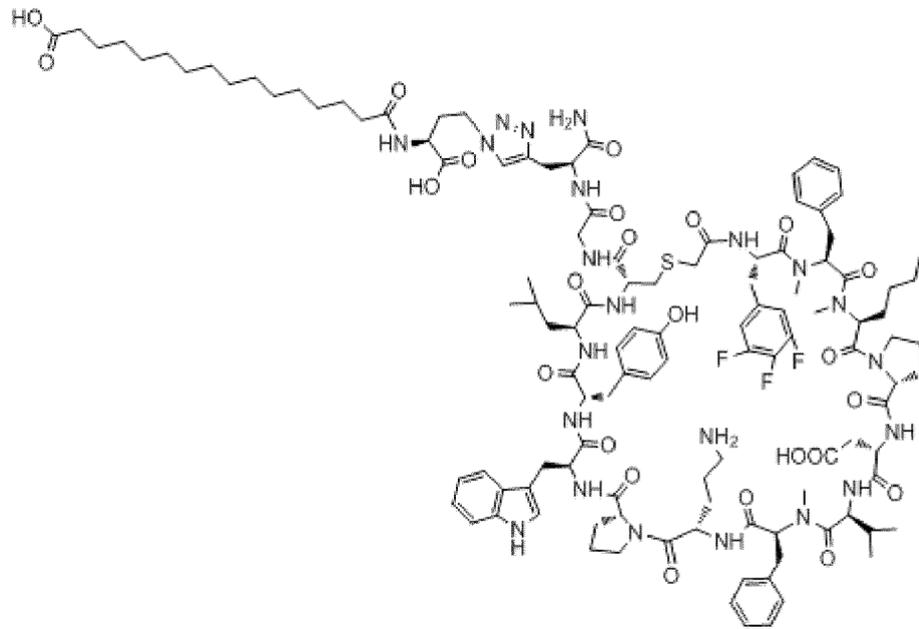
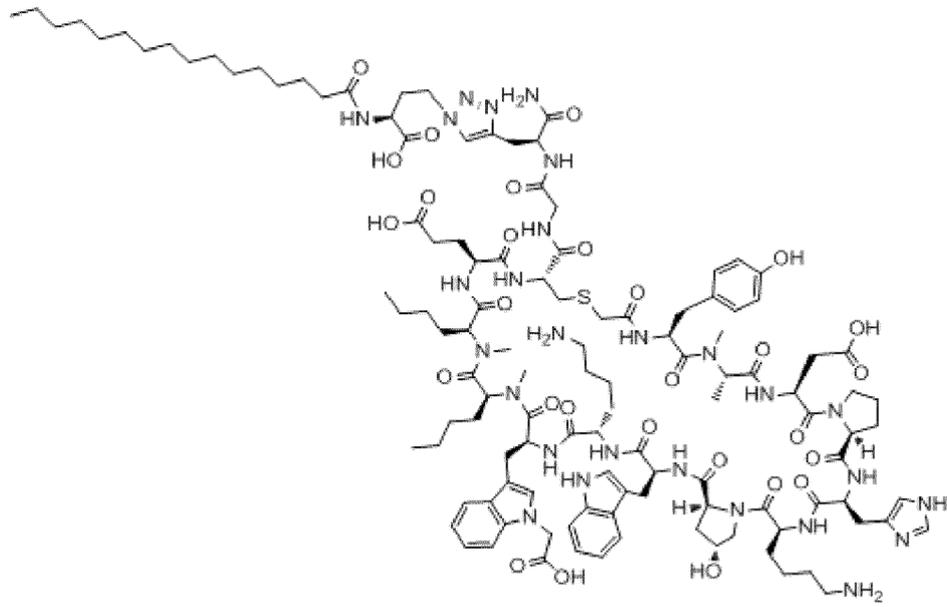
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

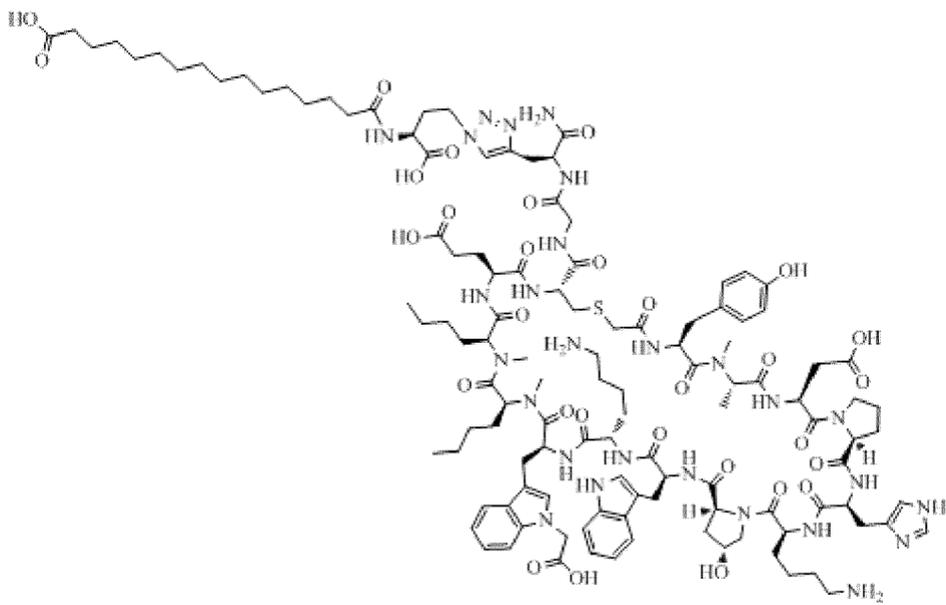
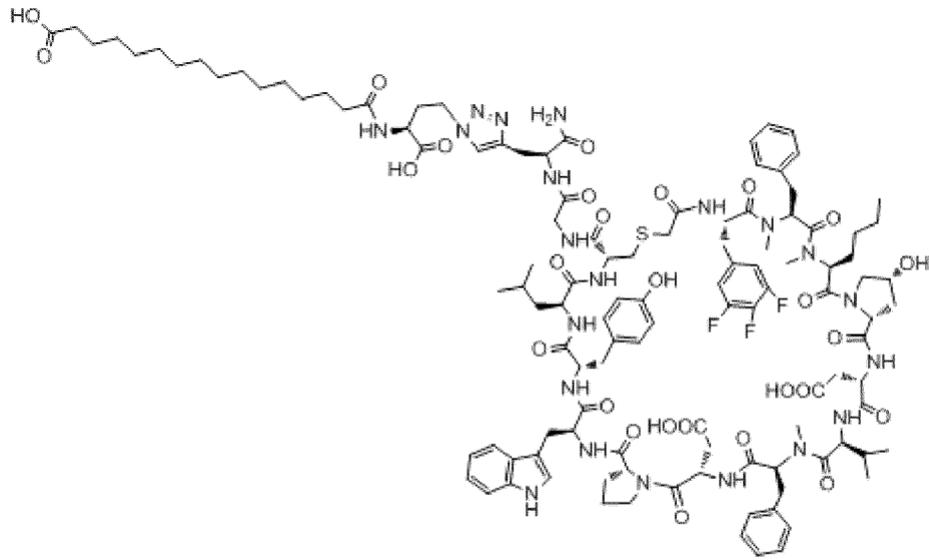
24. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:

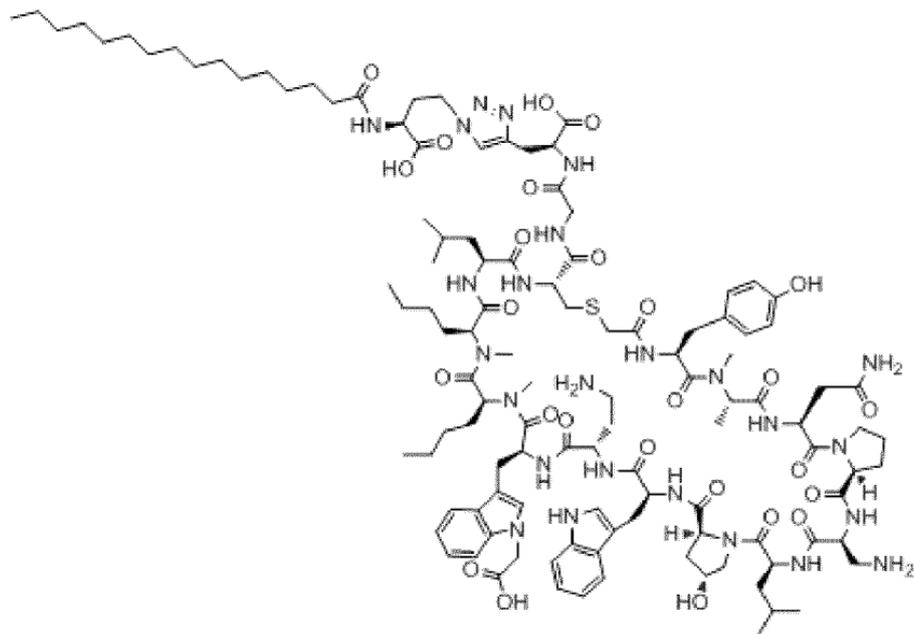
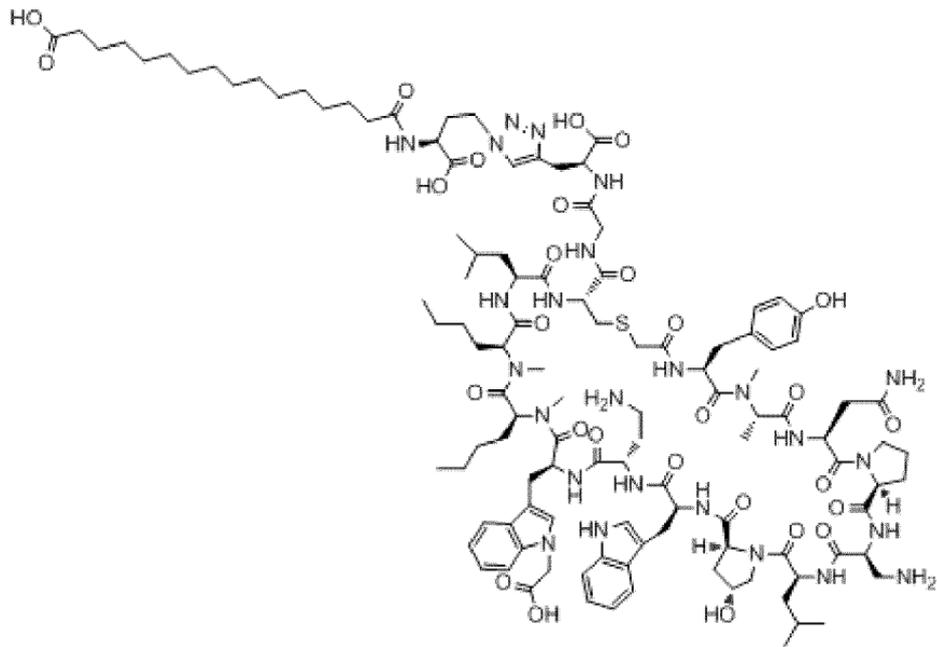


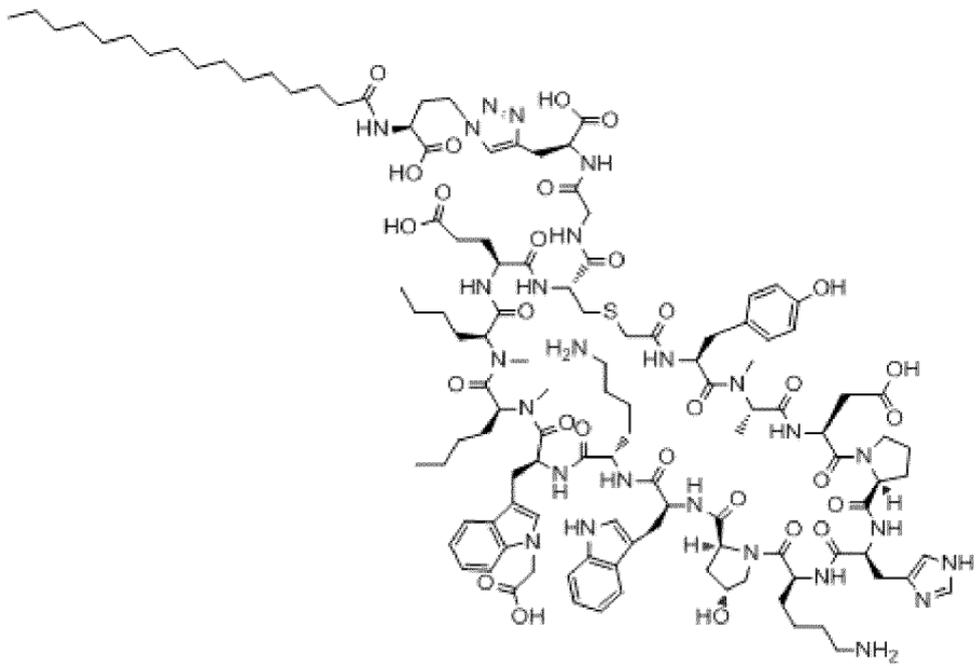
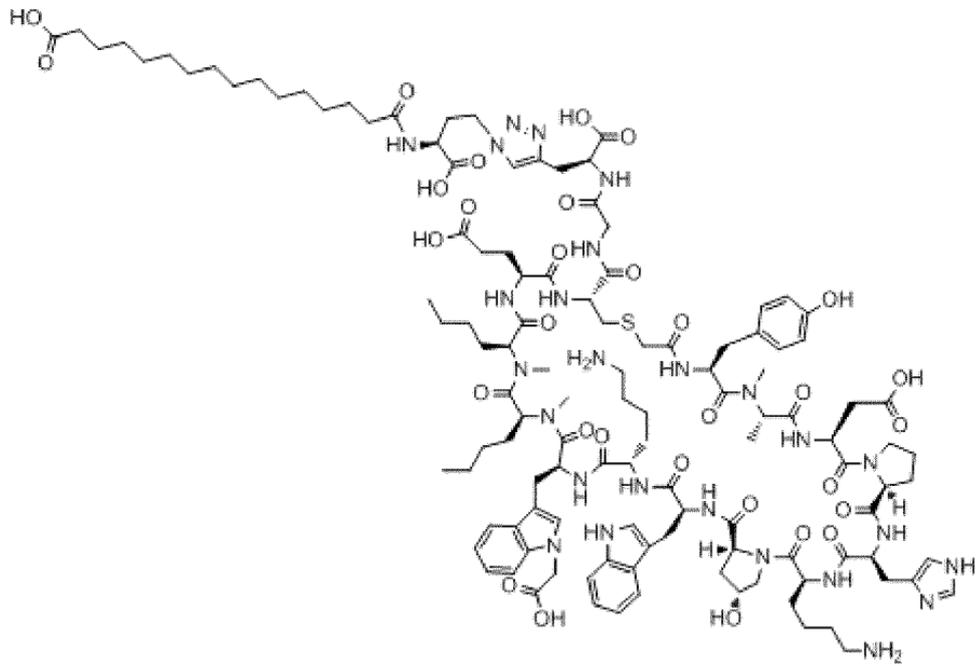


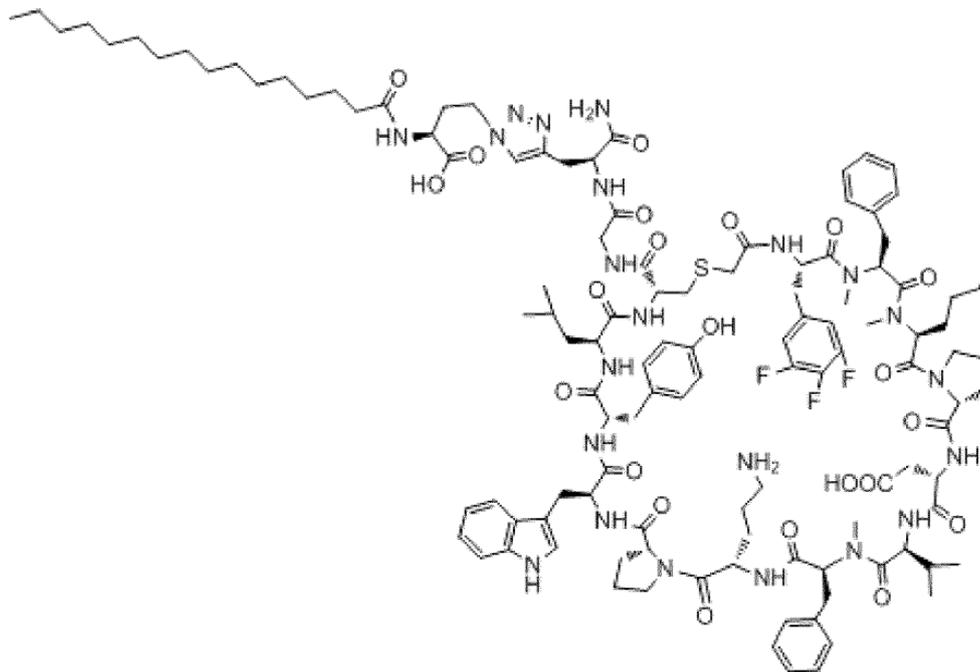
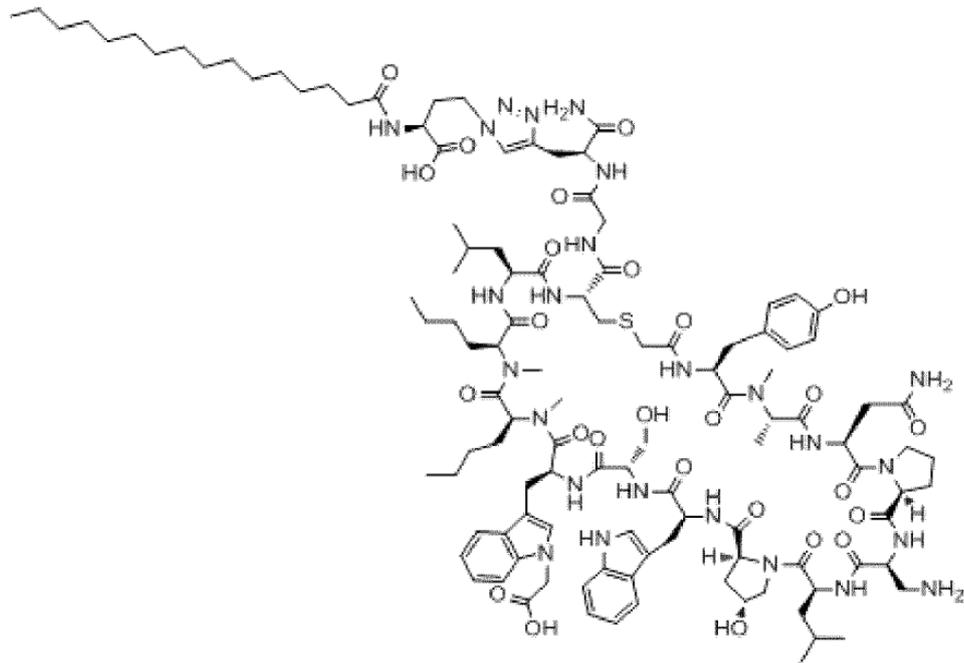


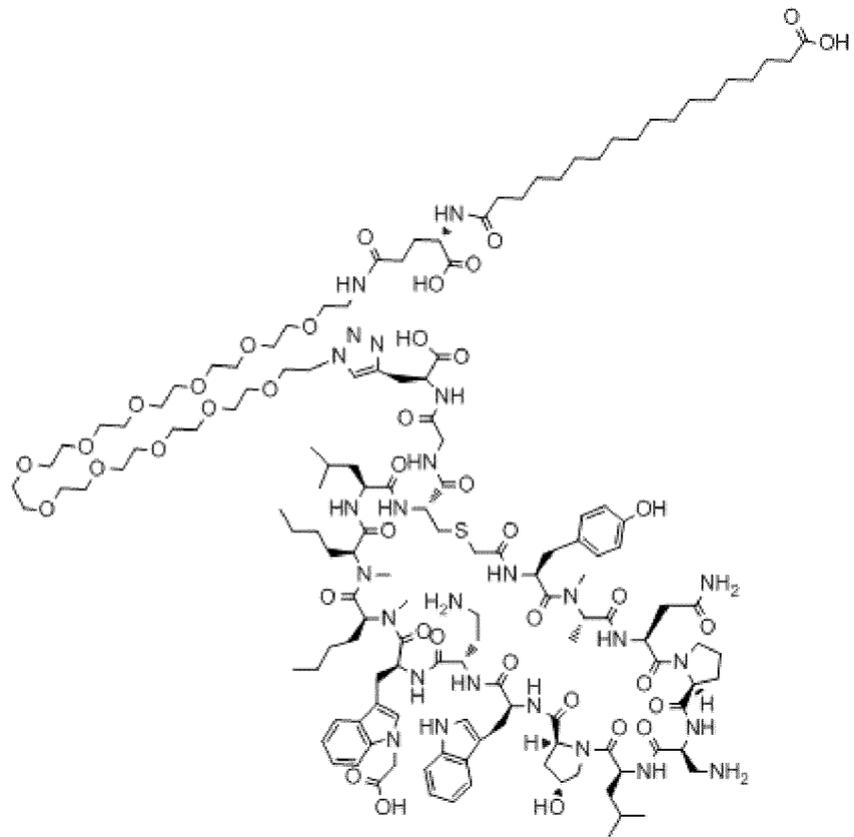
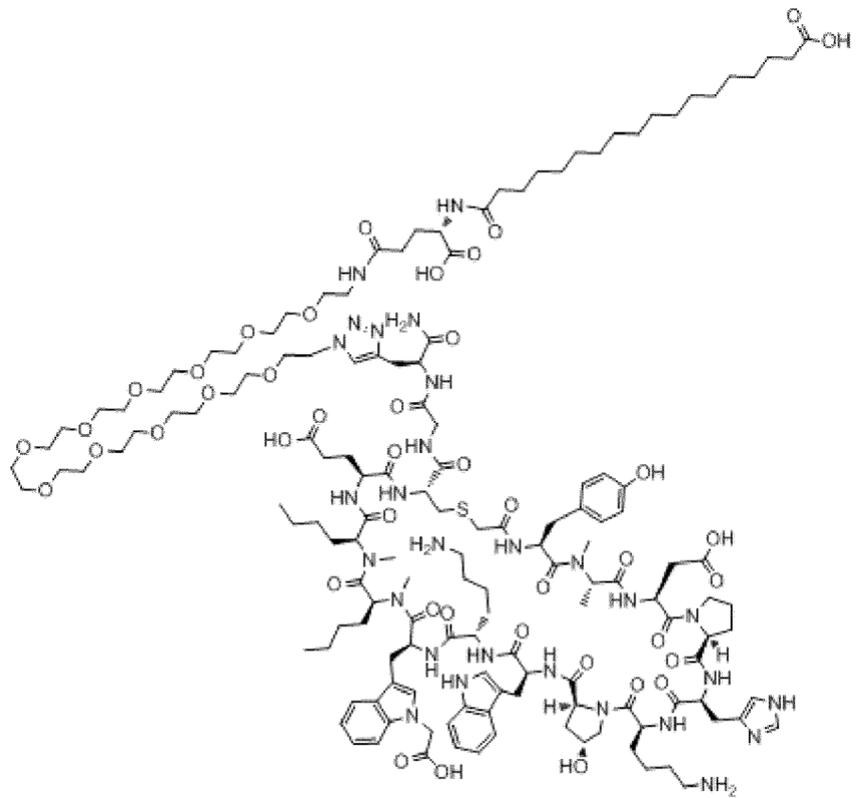


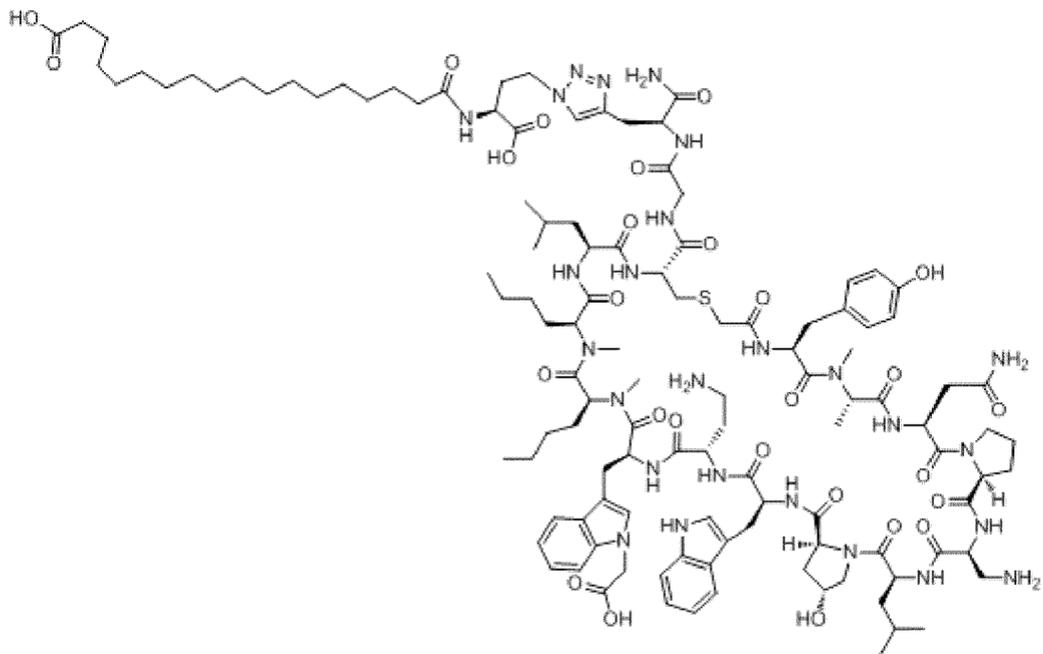
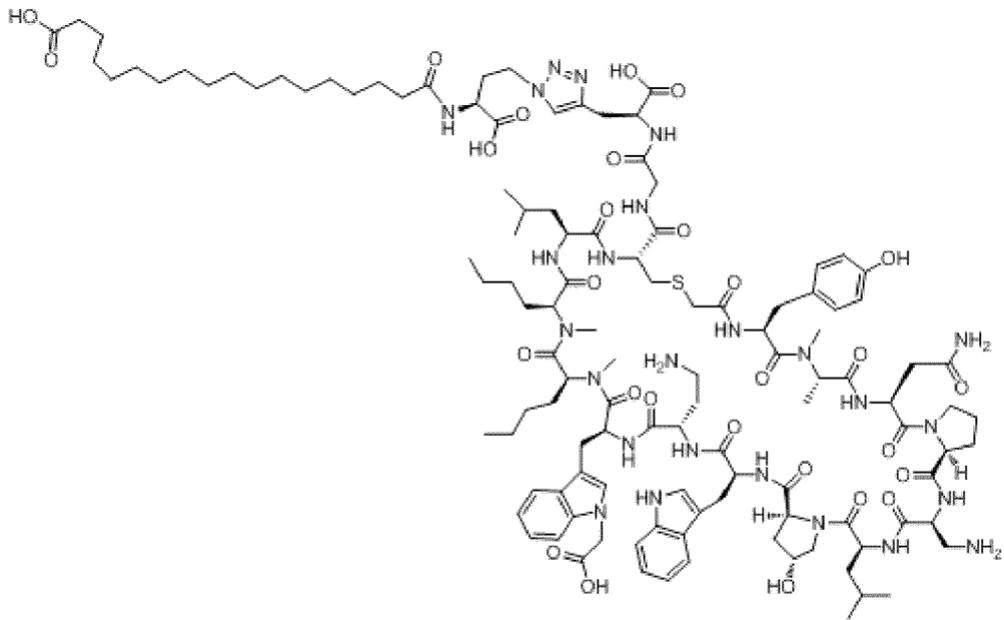


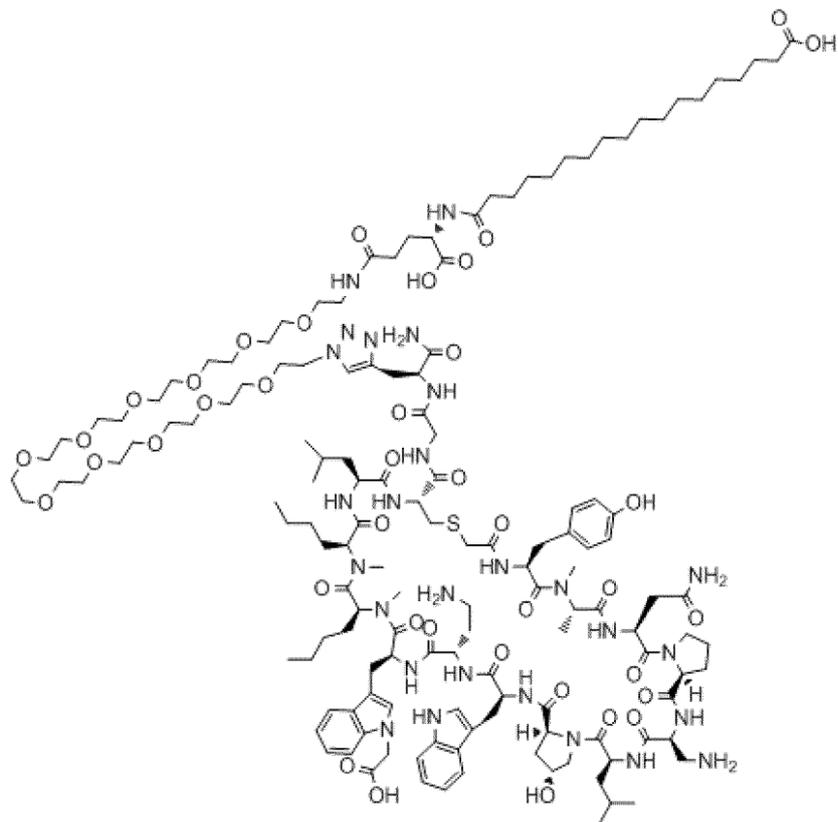
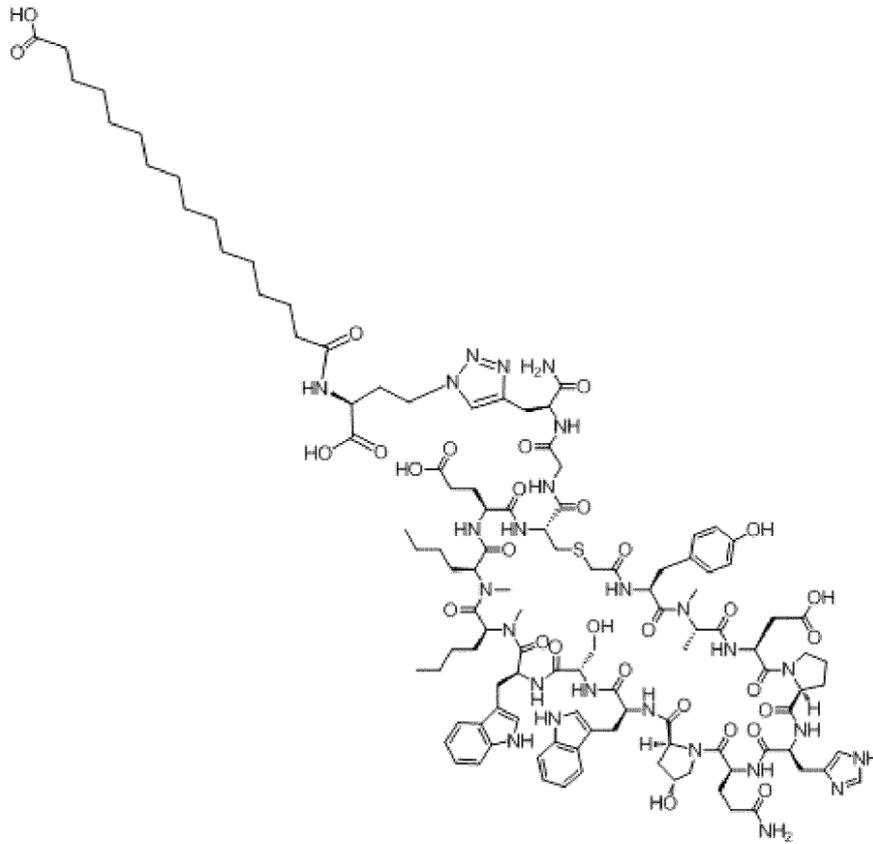


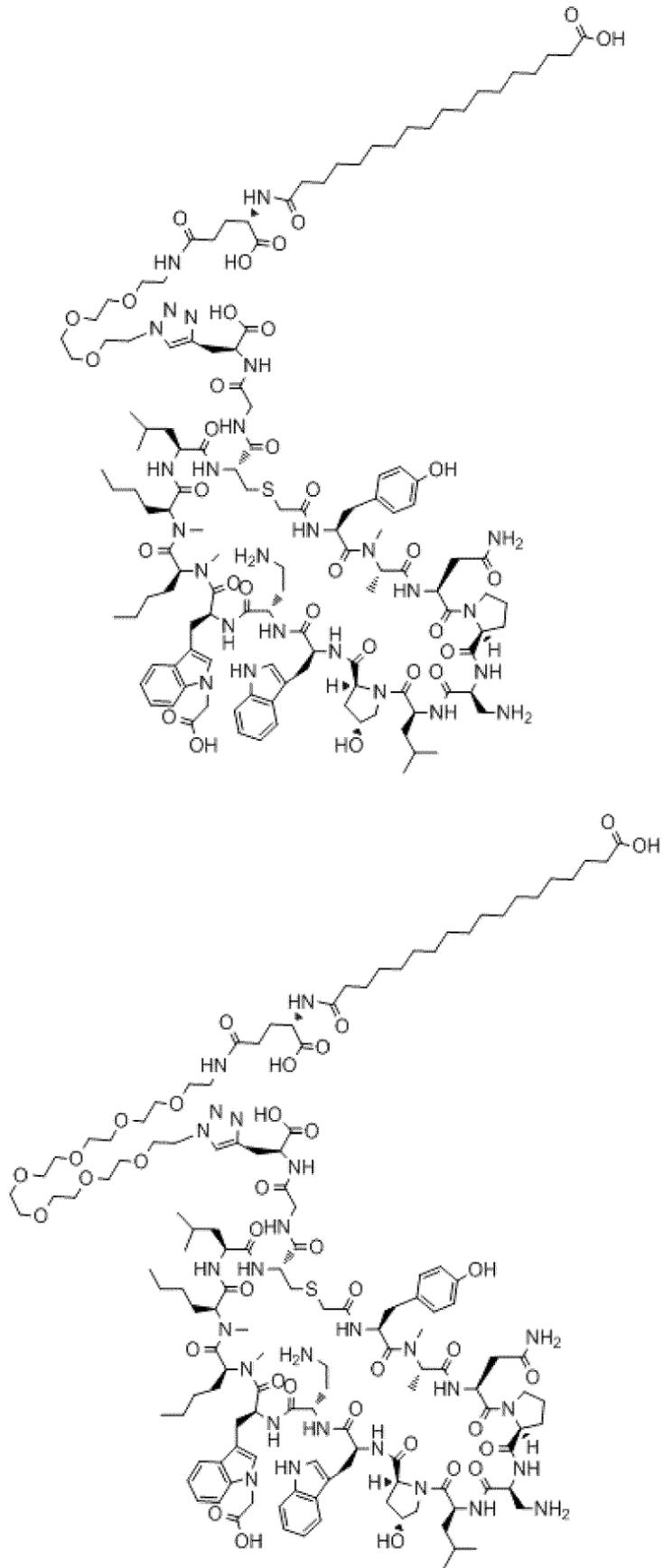


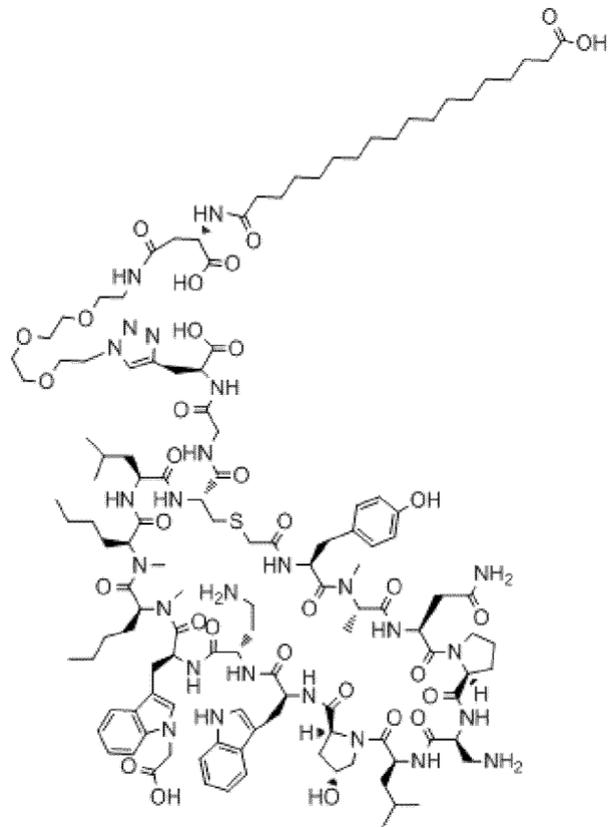
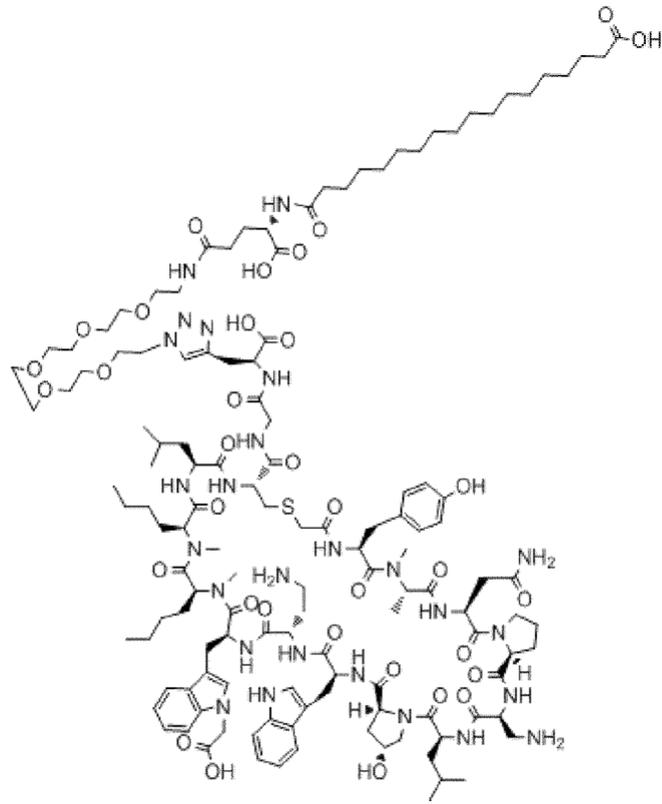


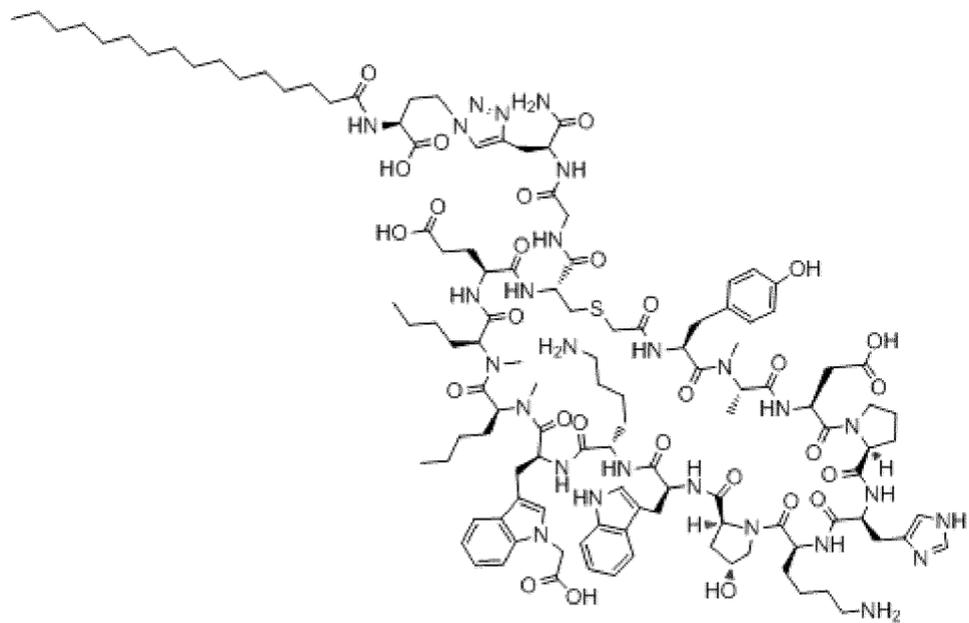
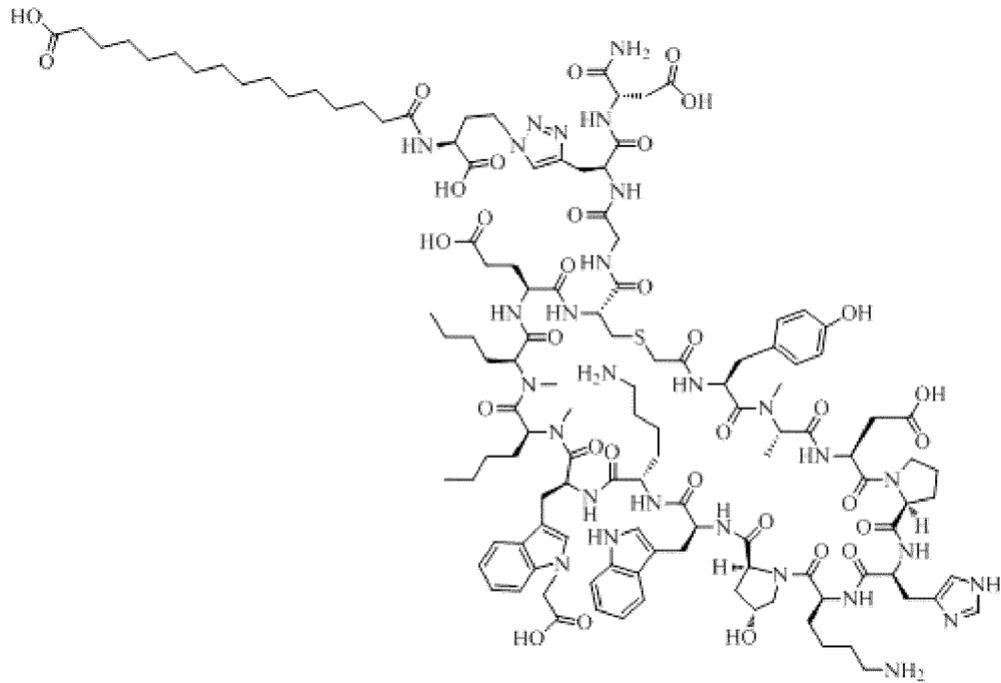


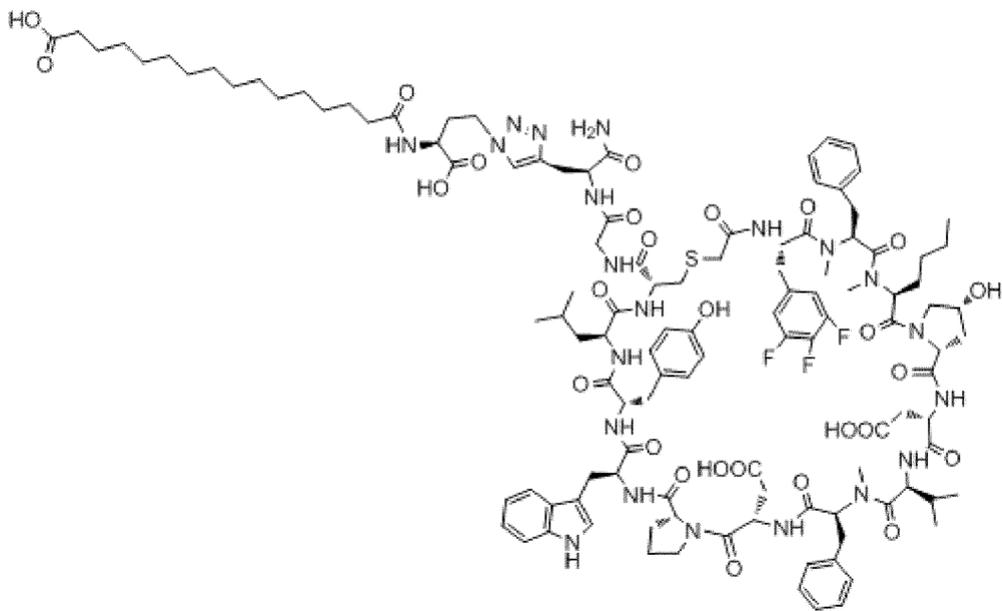
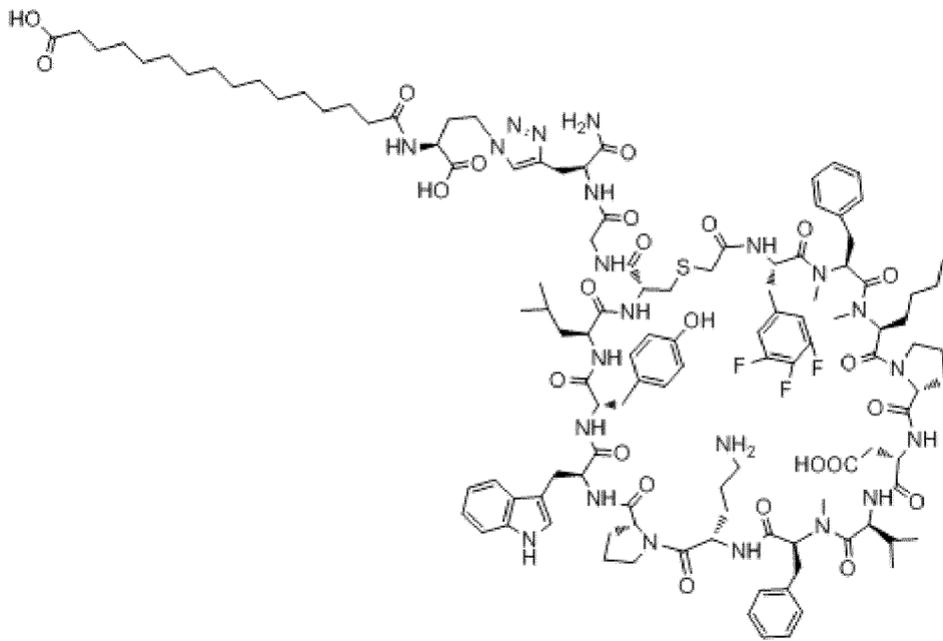


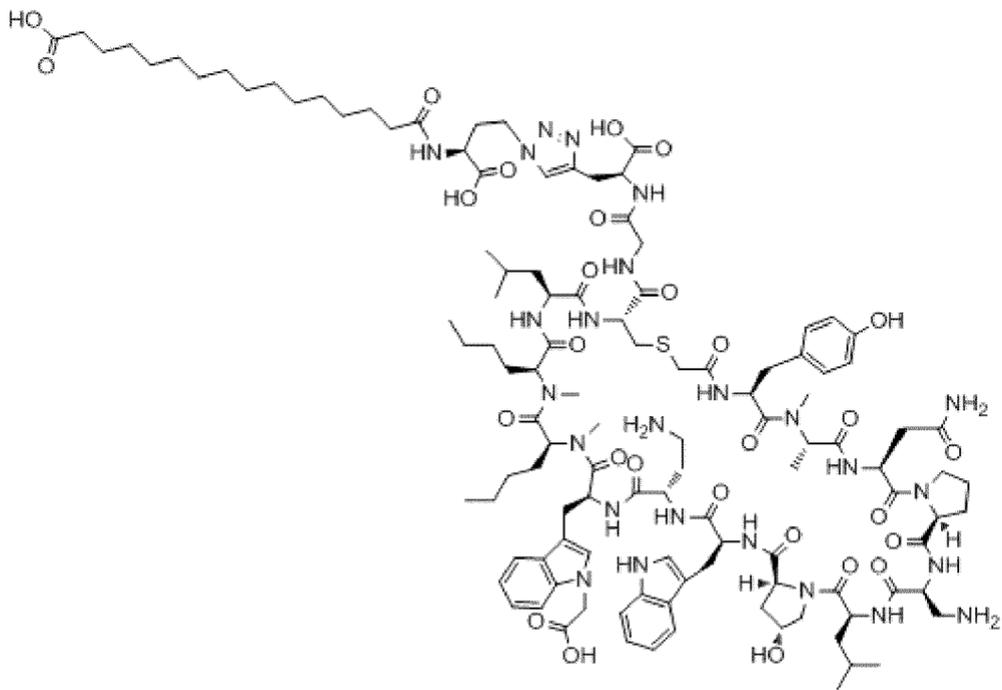
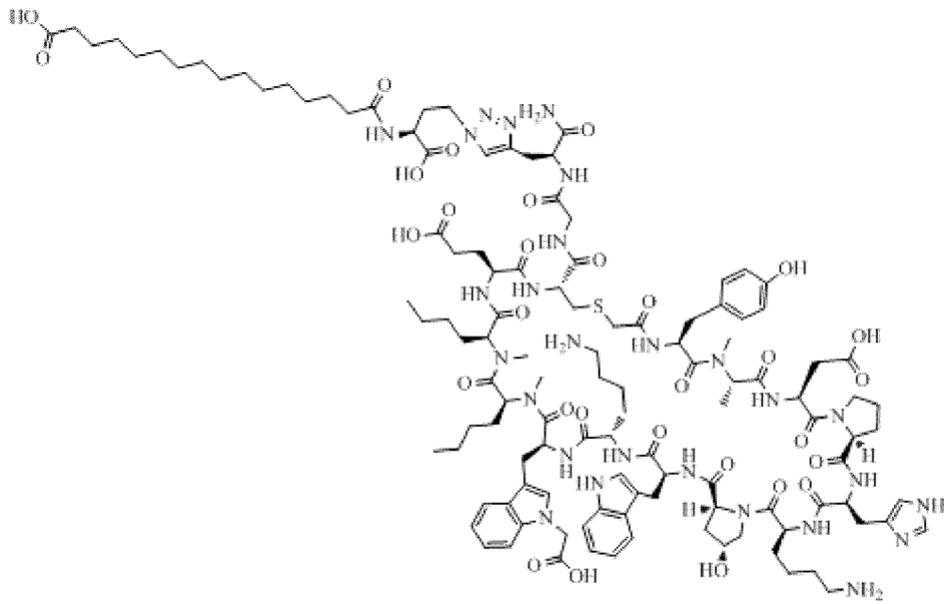


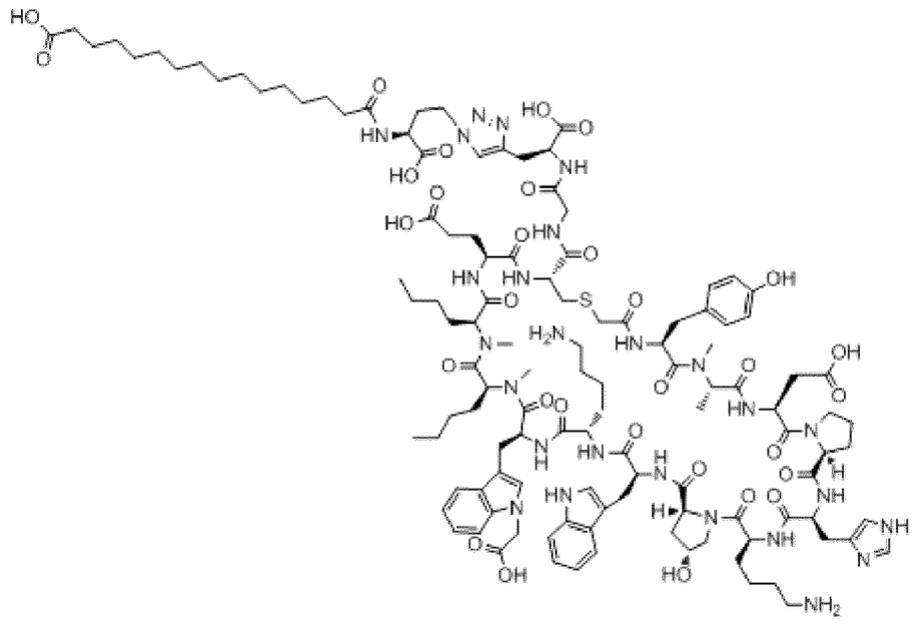
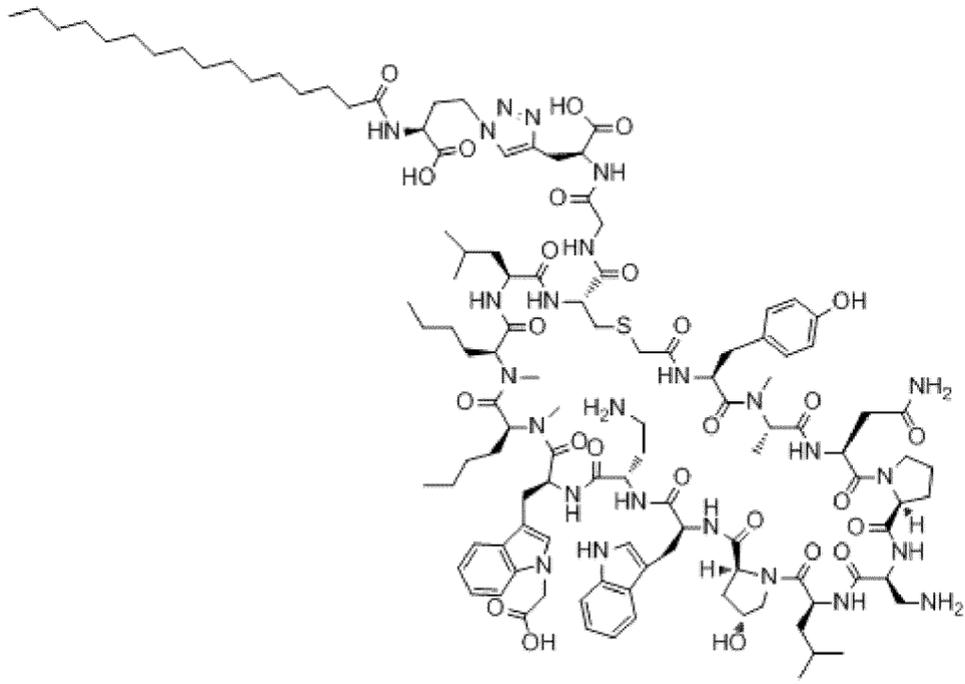


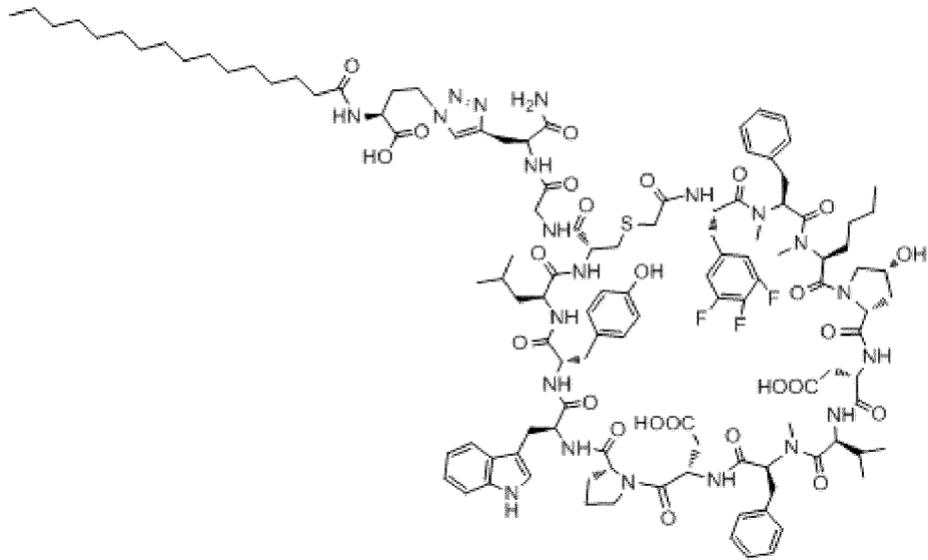




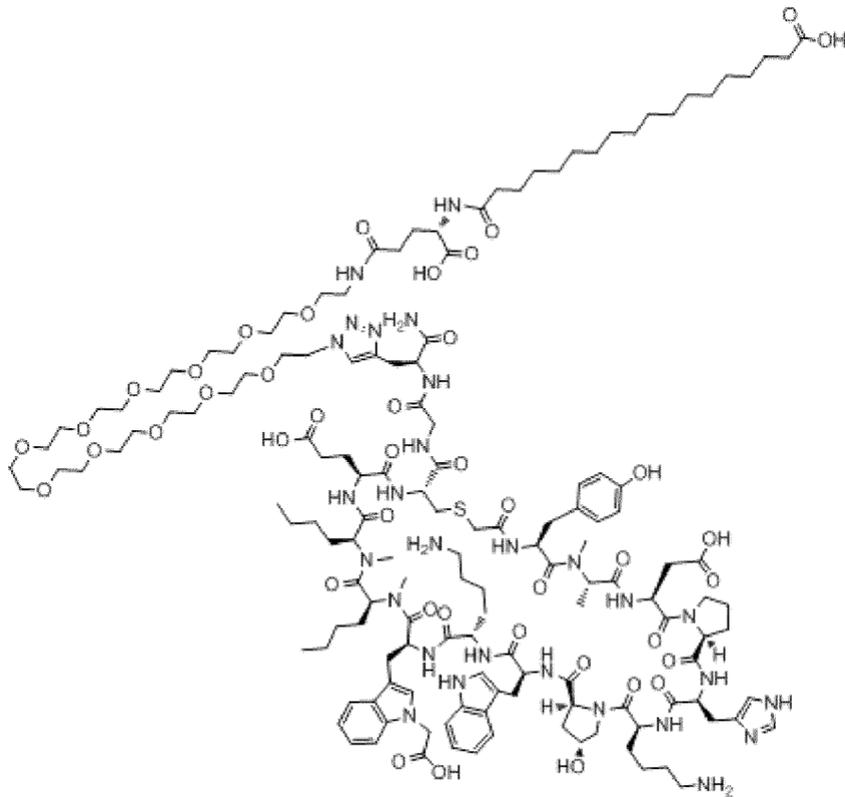








y

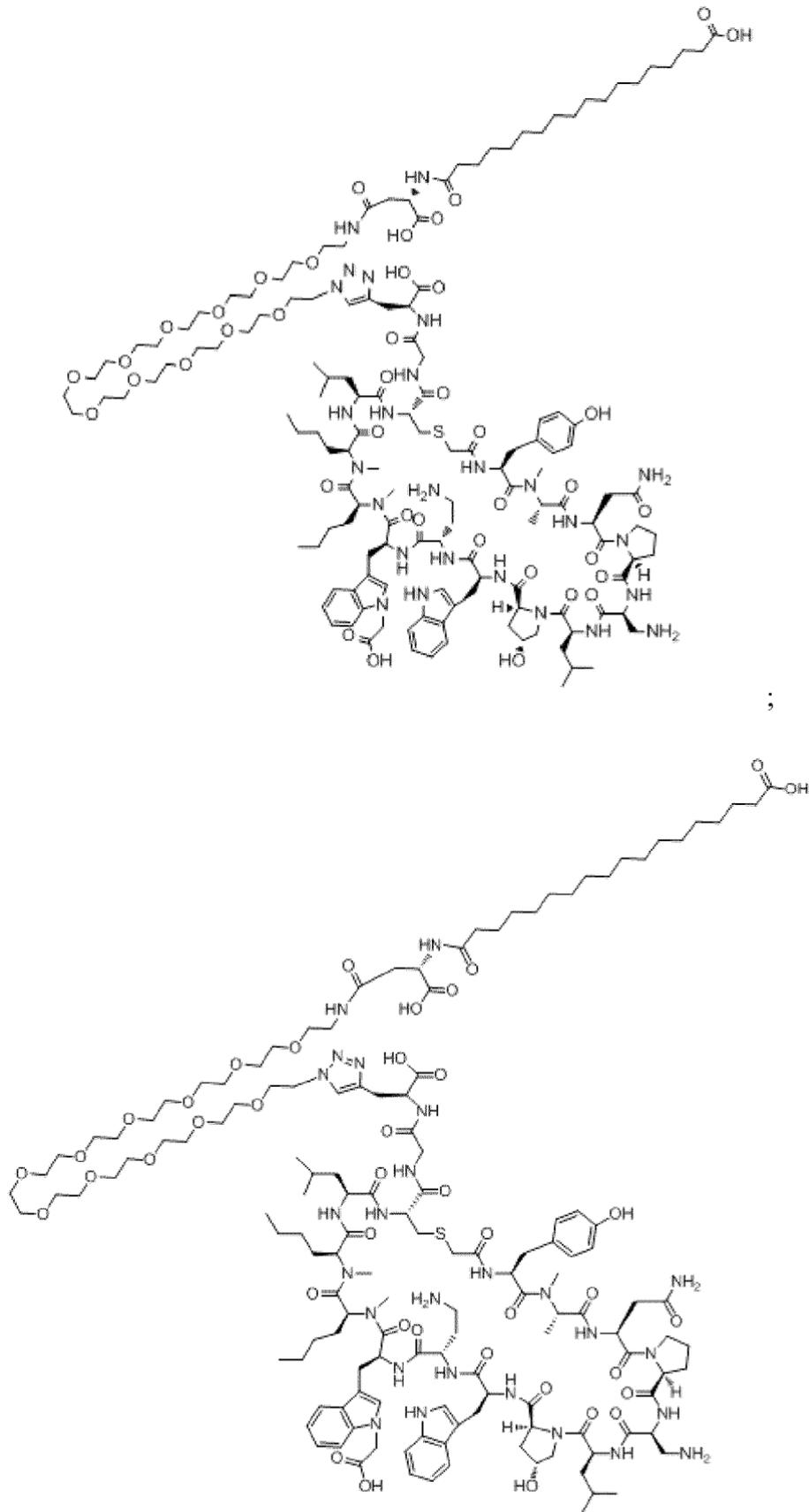


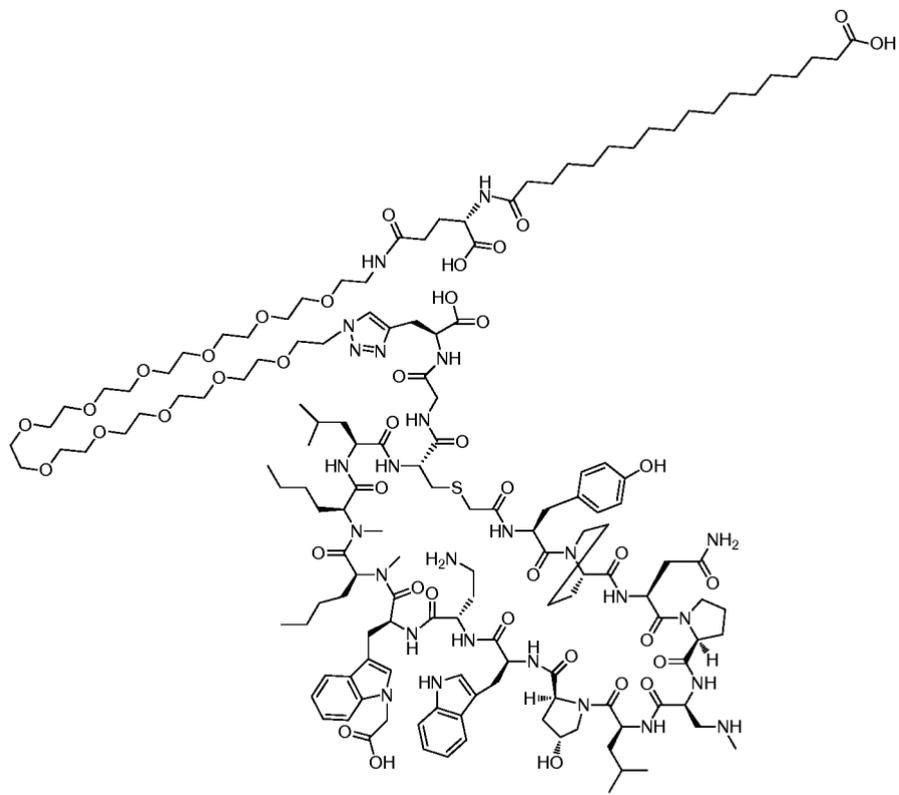
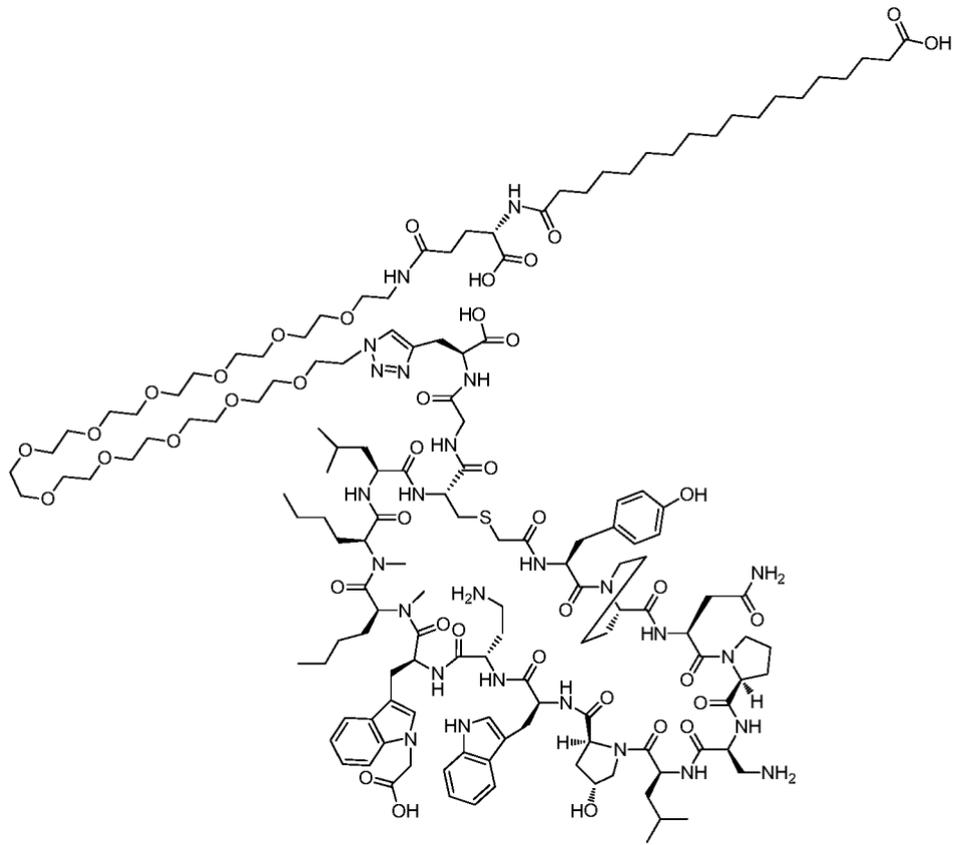
5

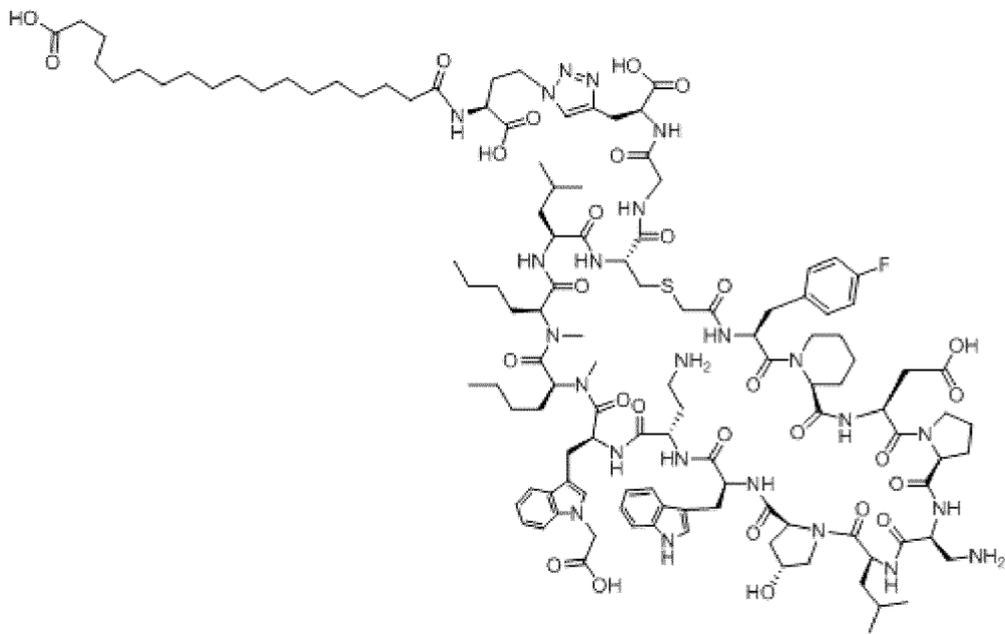
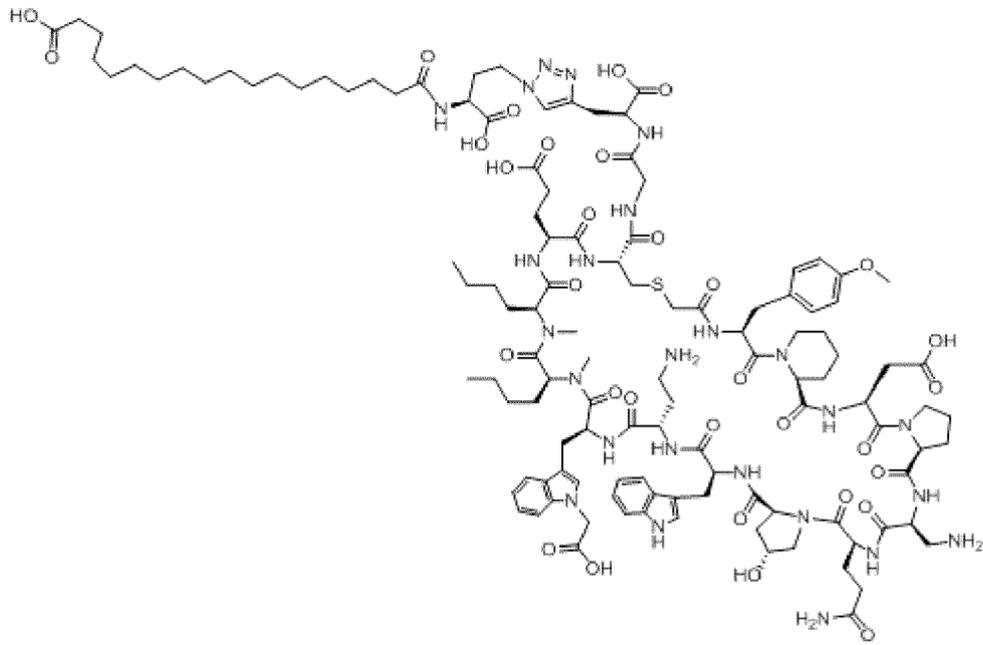
o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

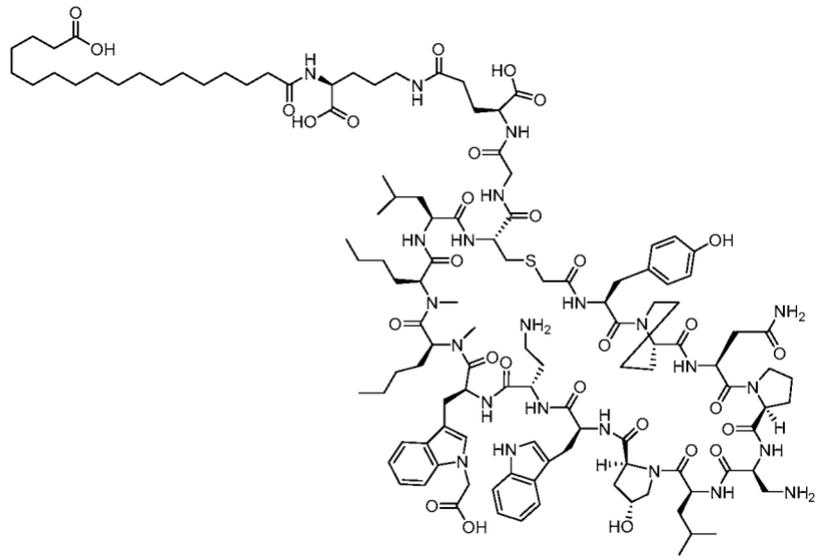
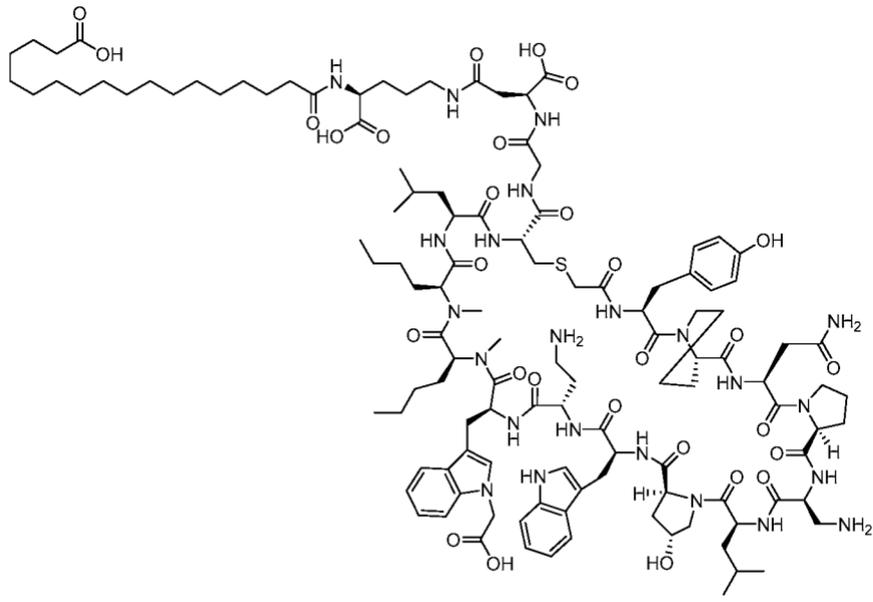
25. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado de:

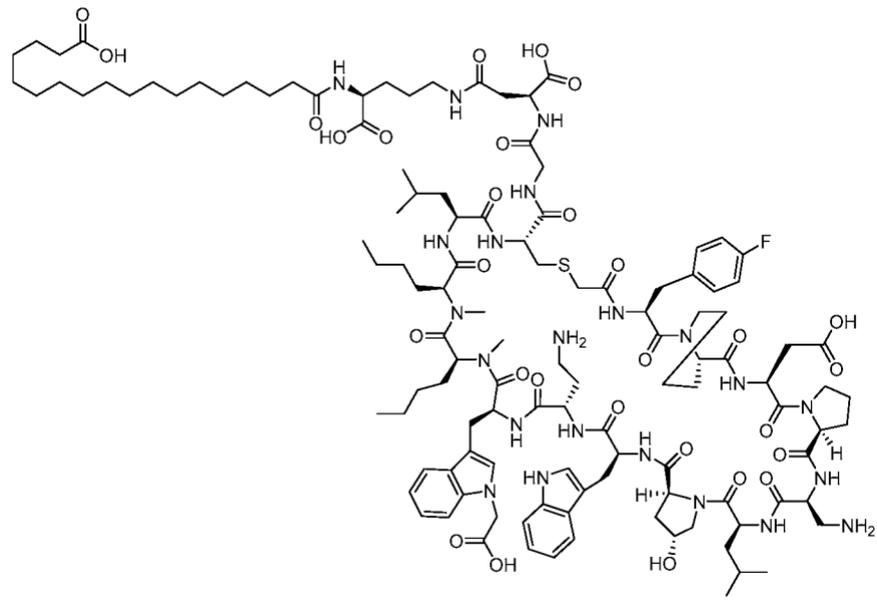
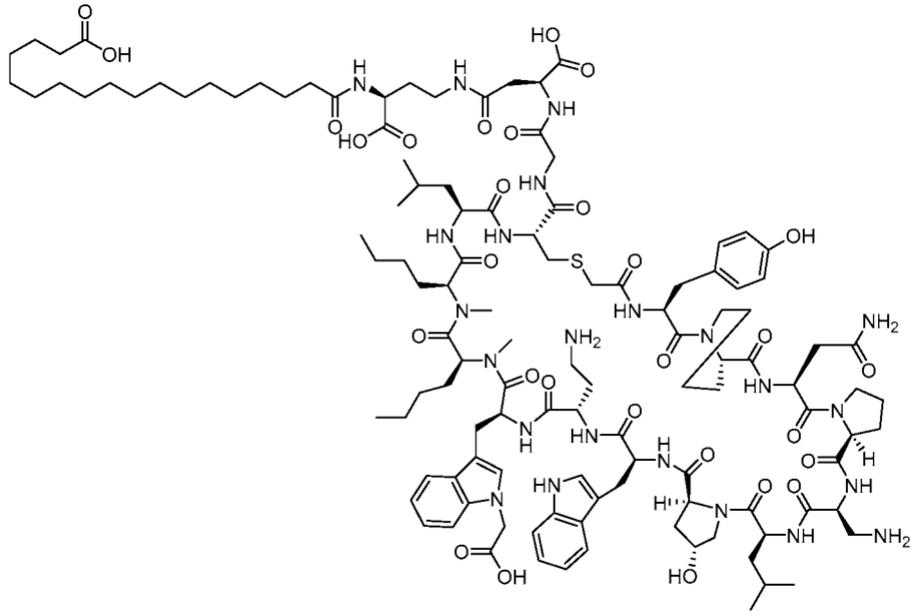
10

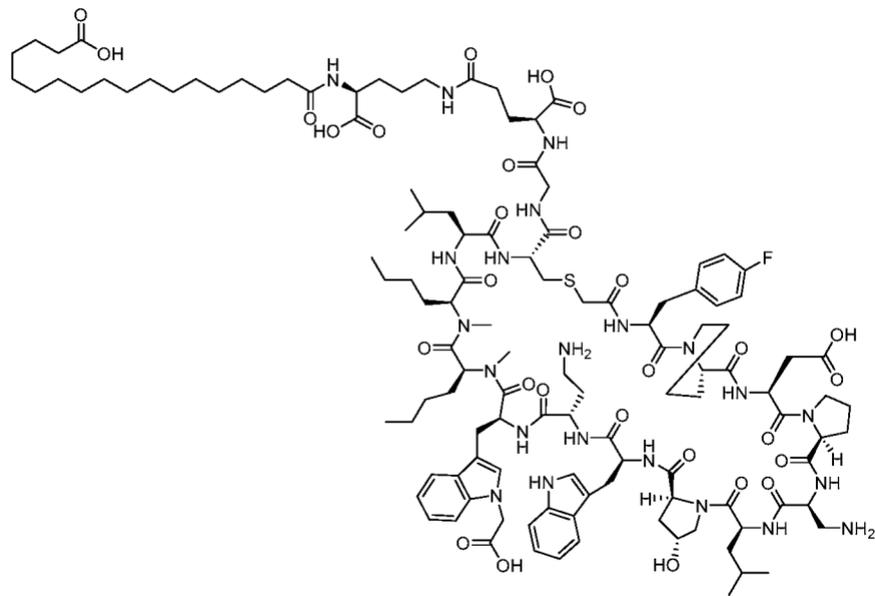
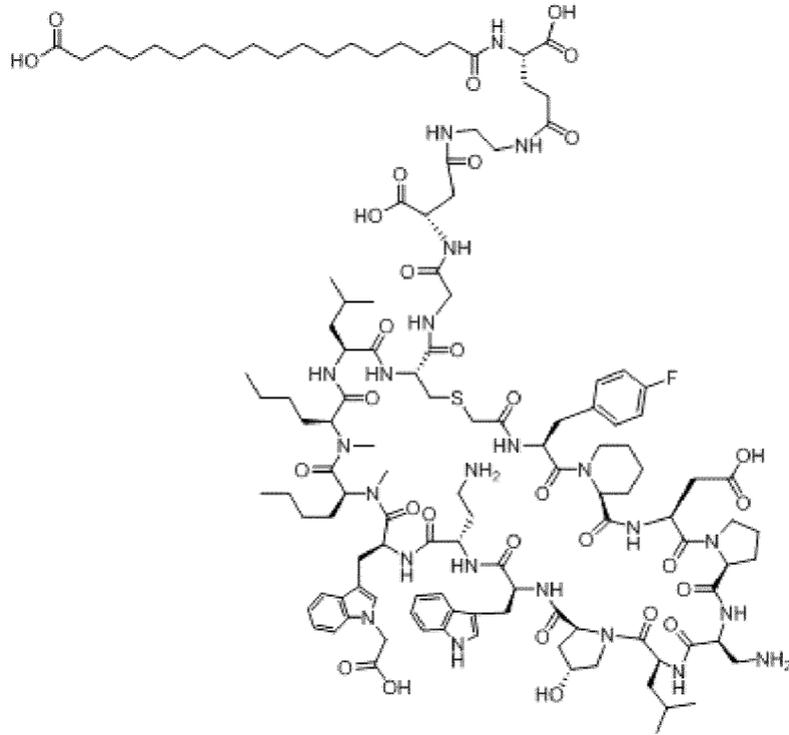


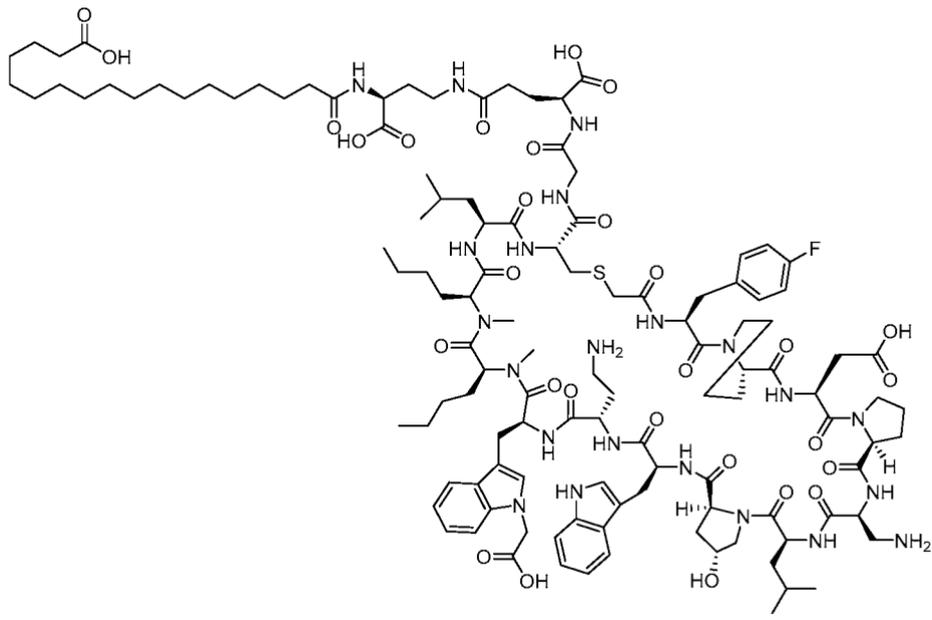
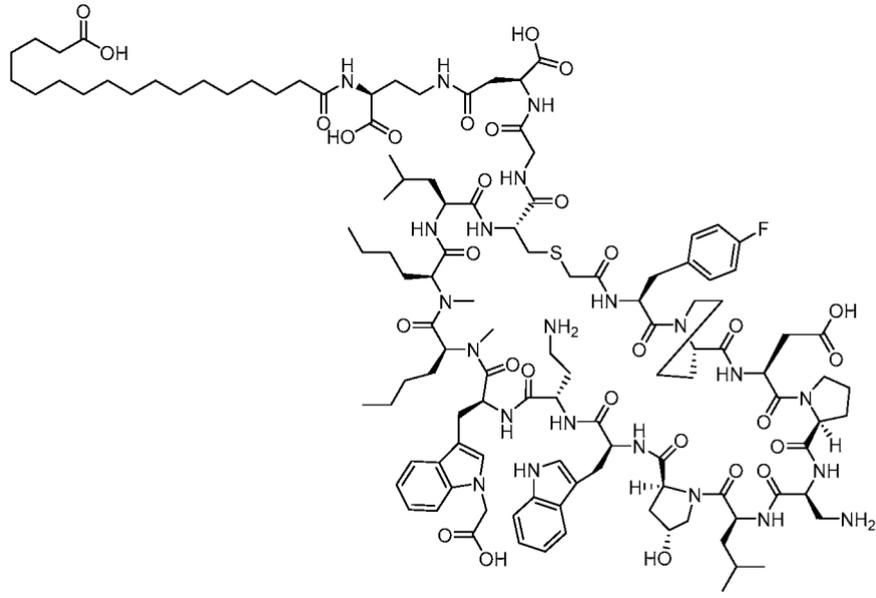


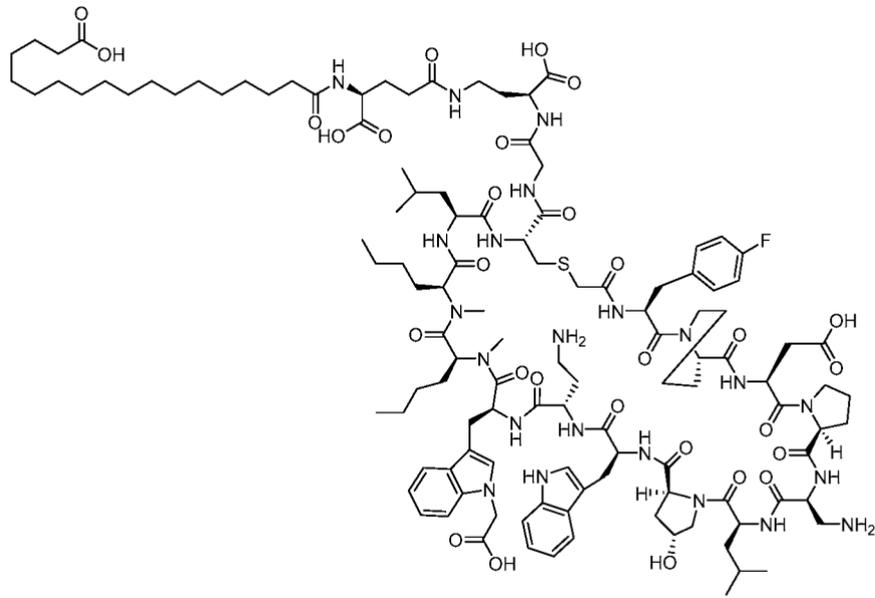
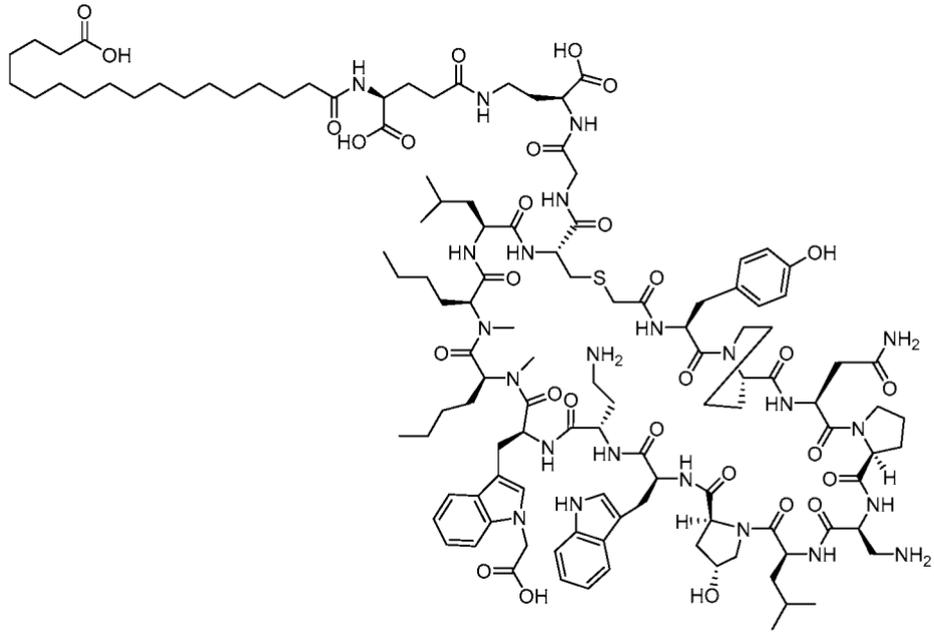


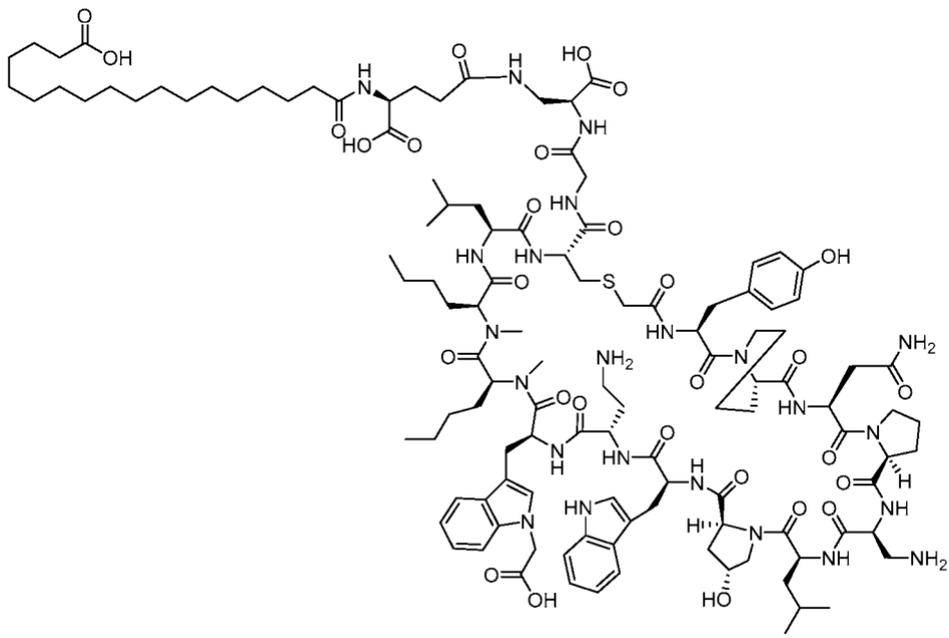
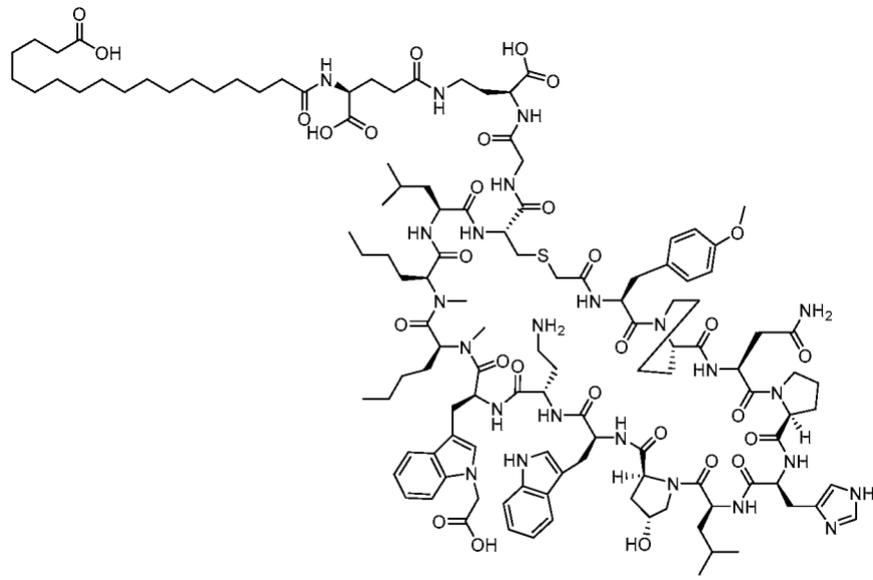


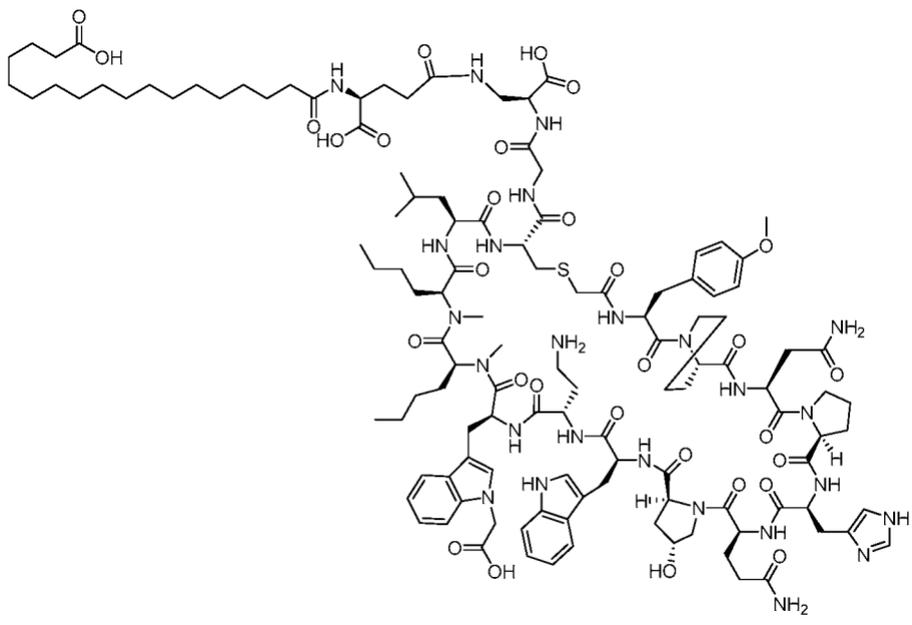
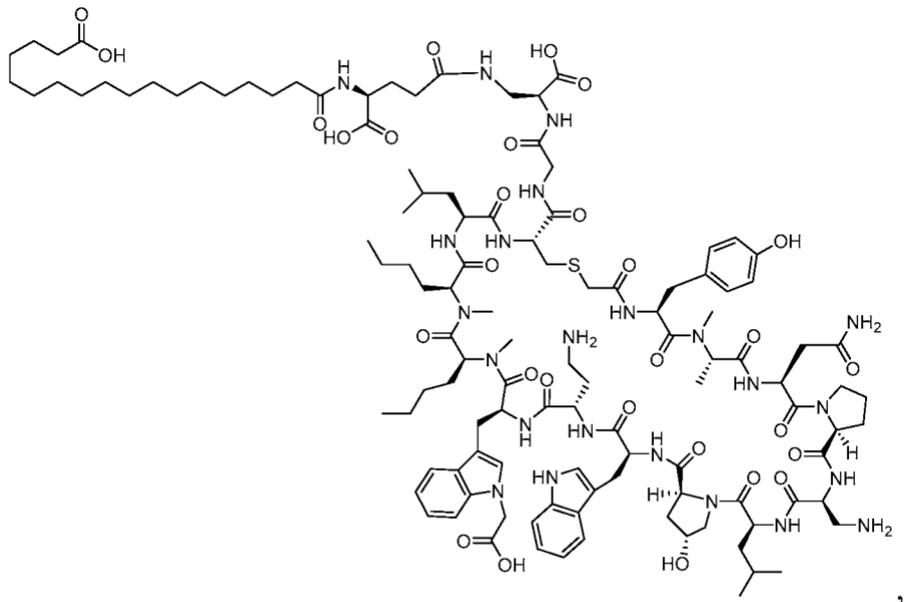


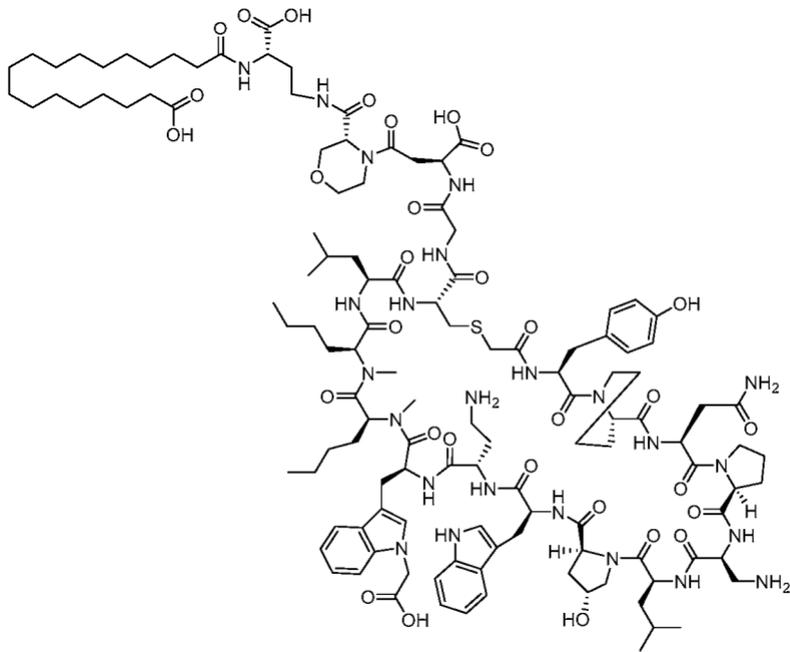
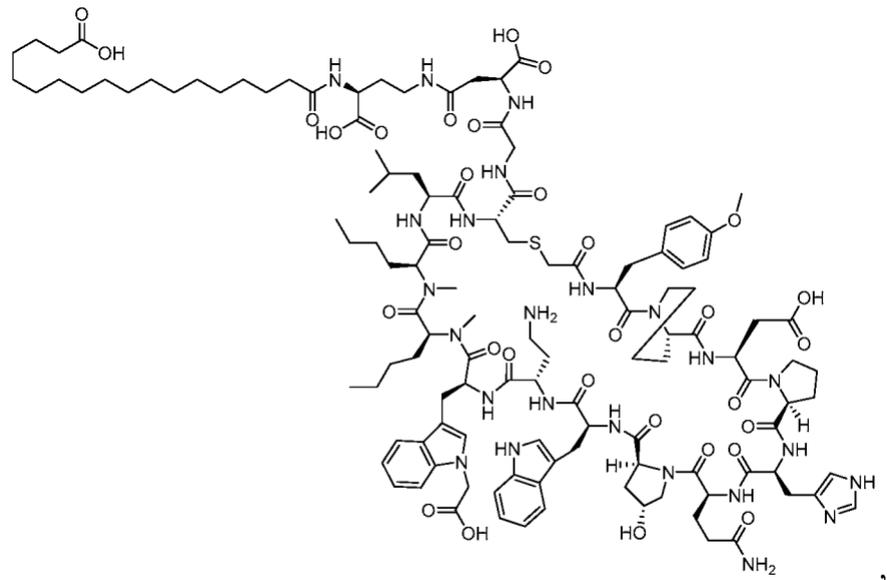


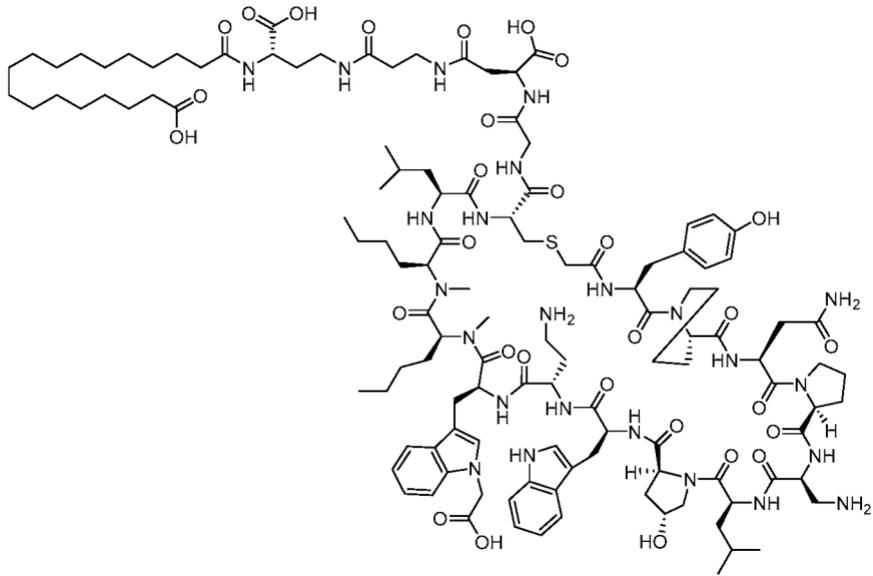
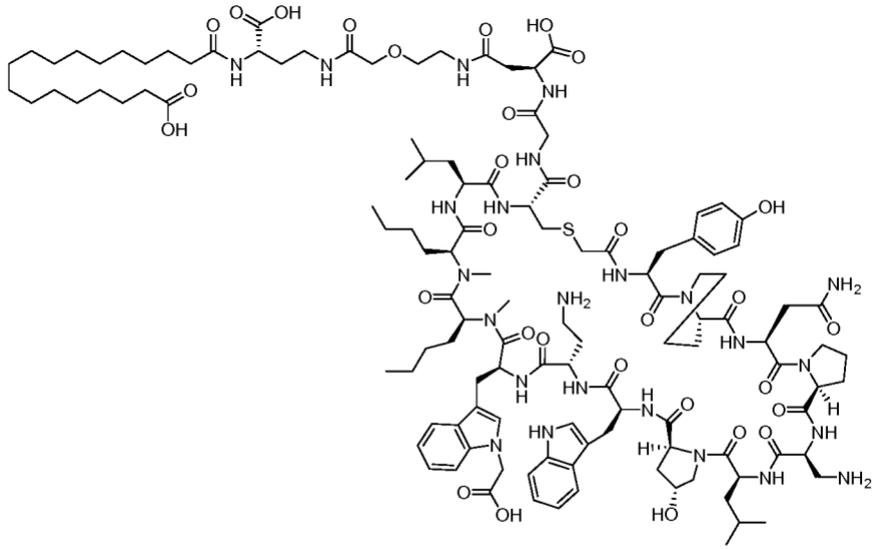


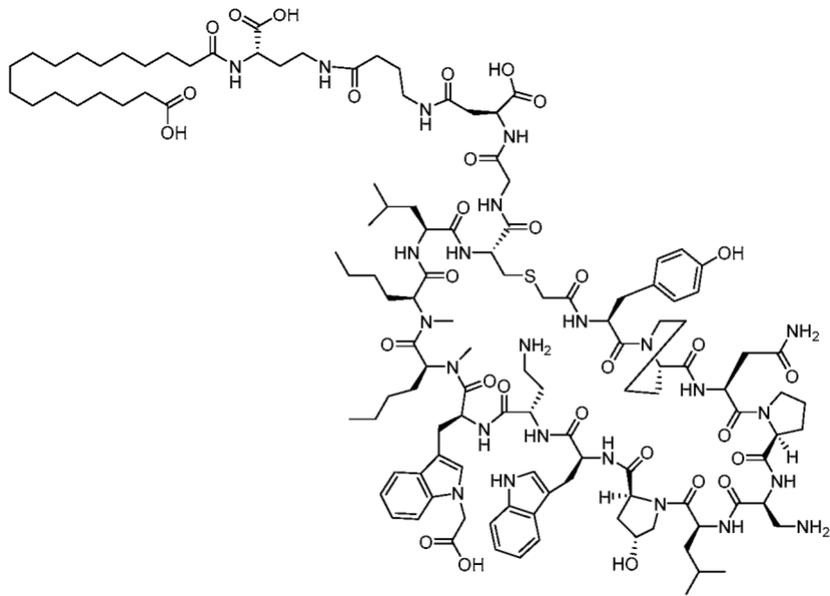
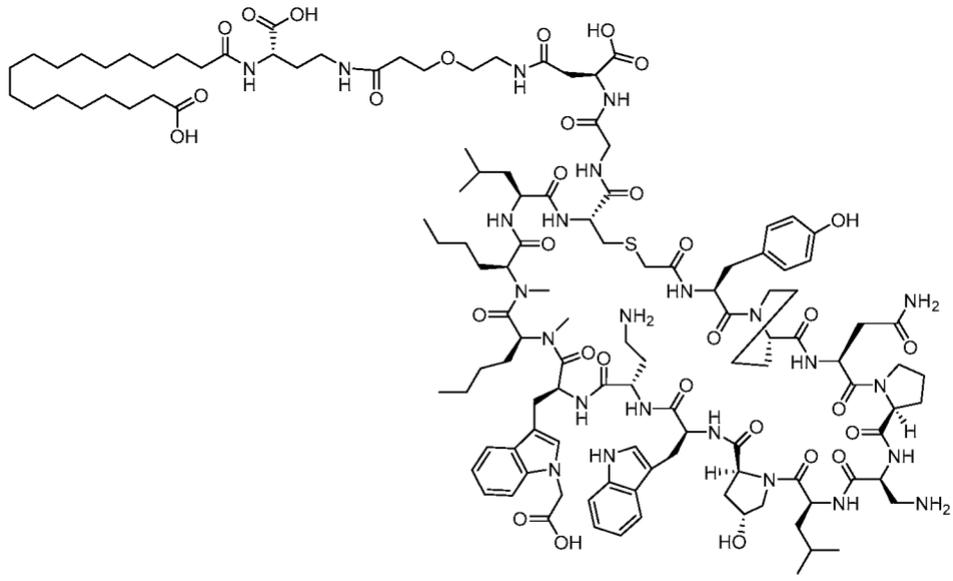


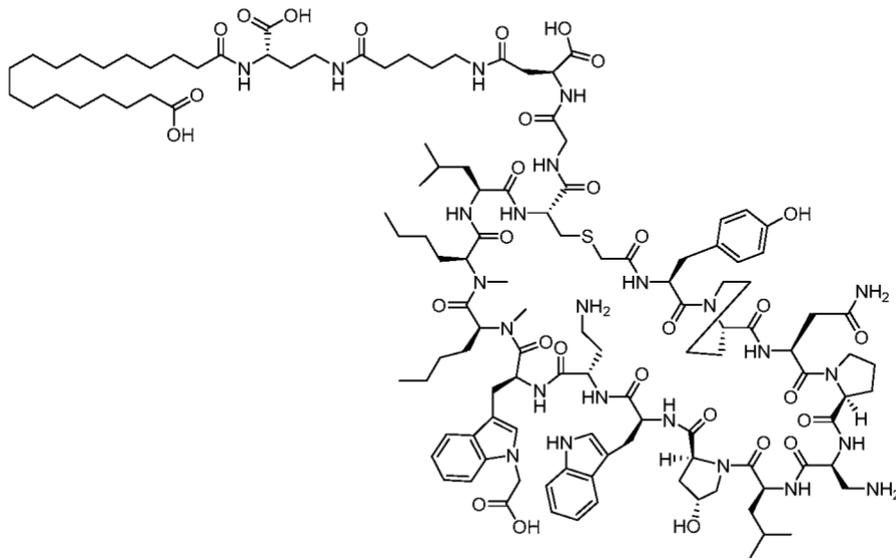
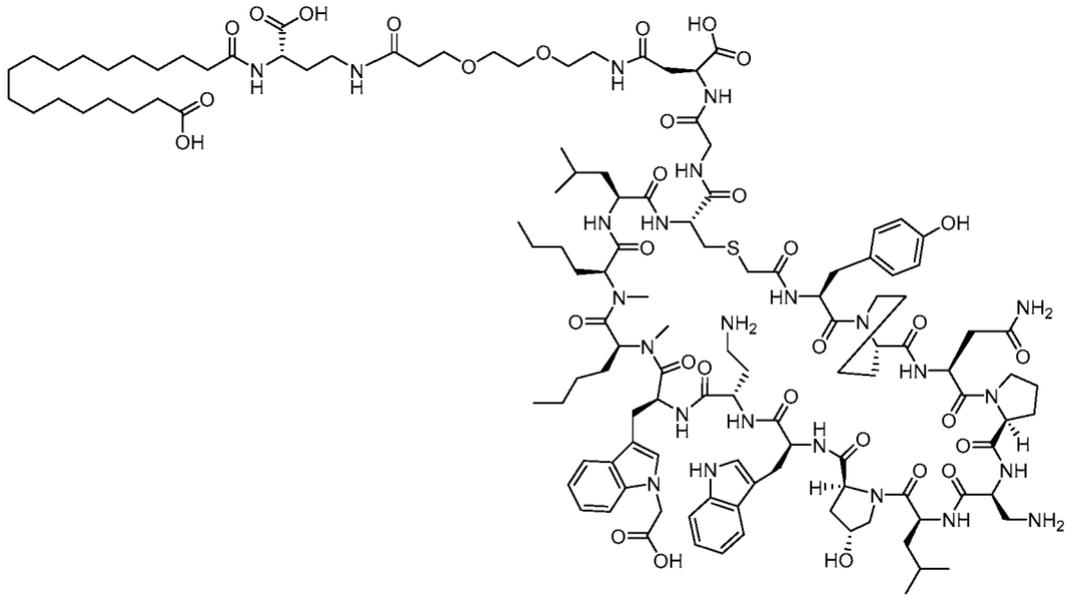


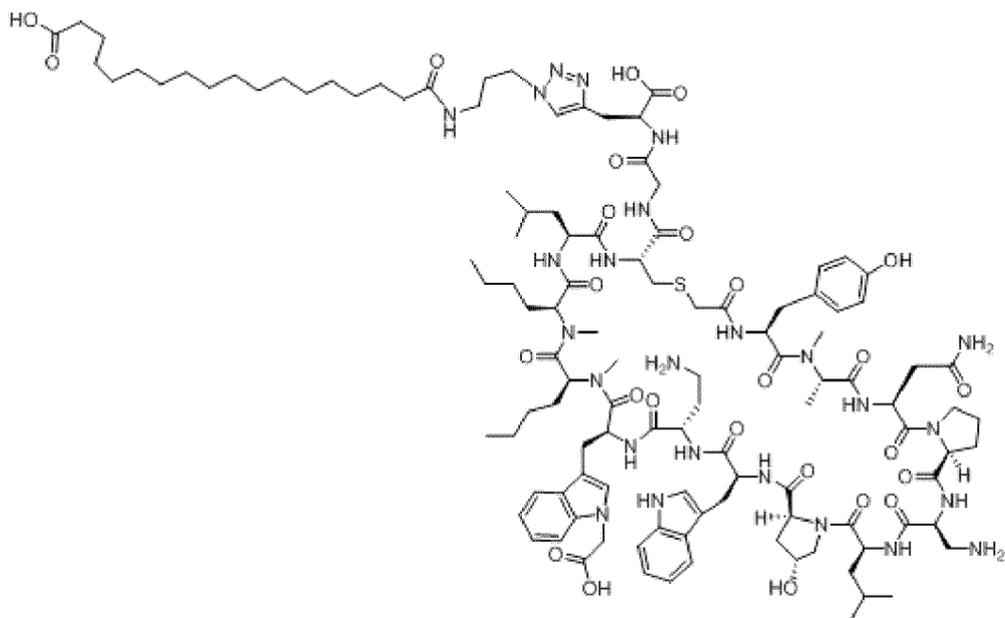
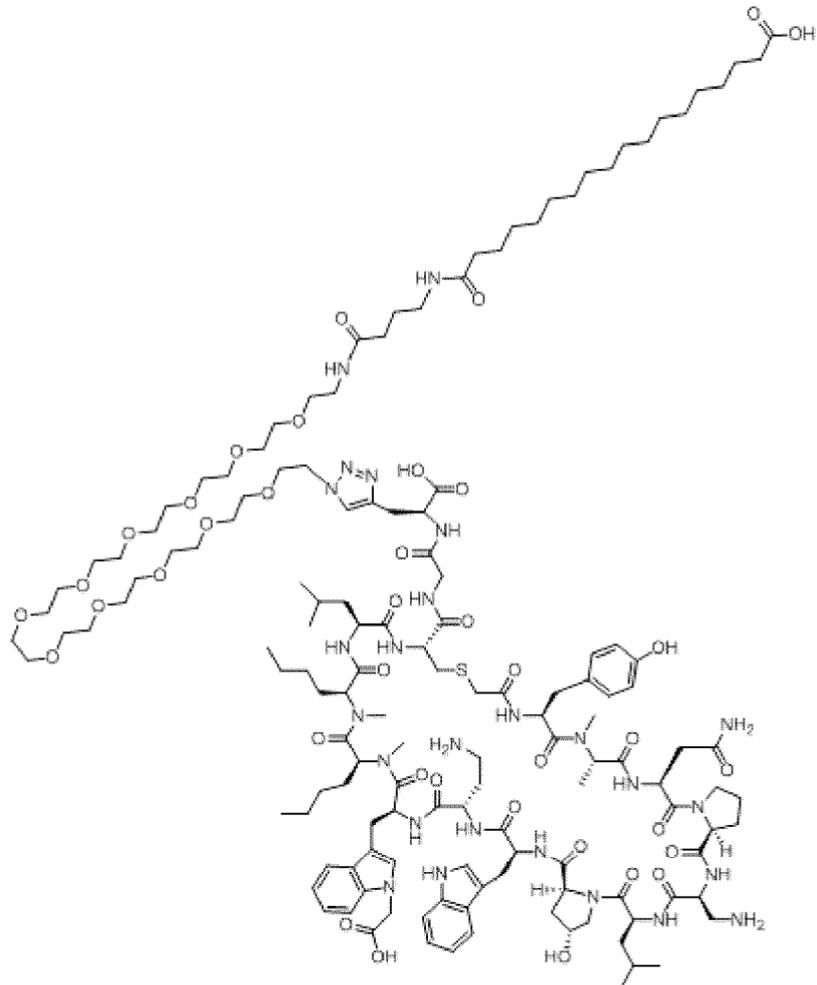


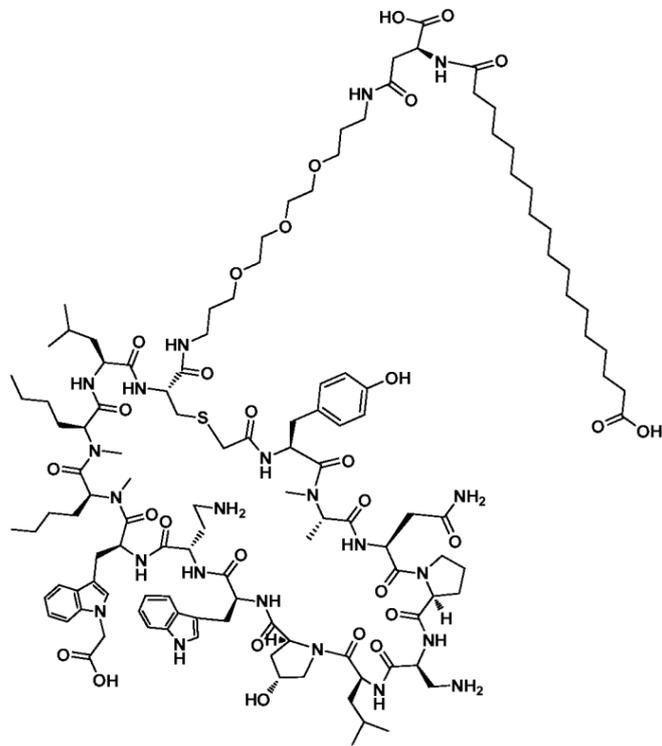
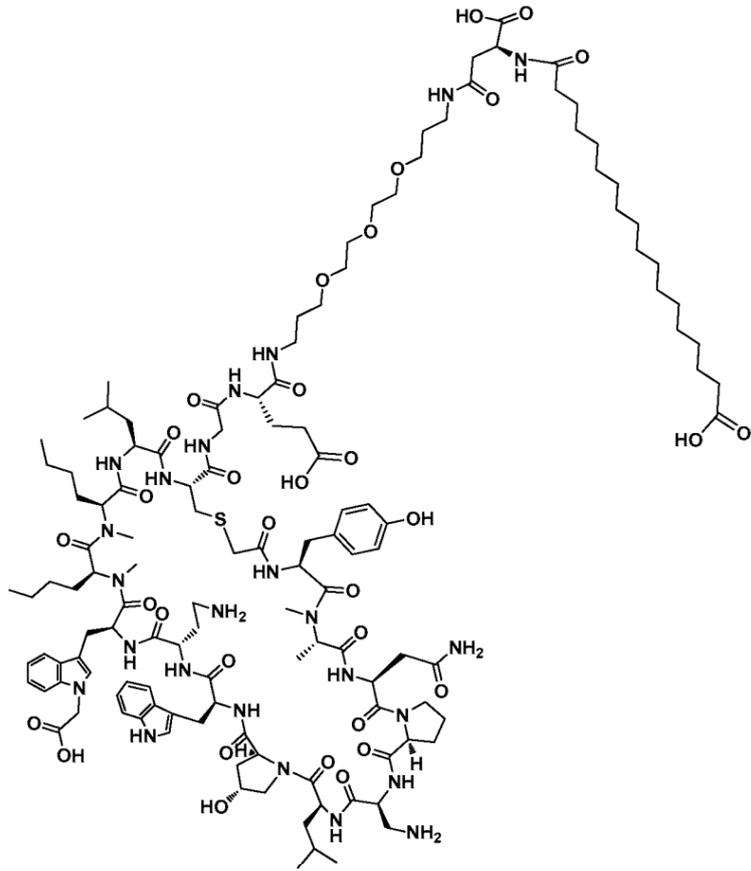


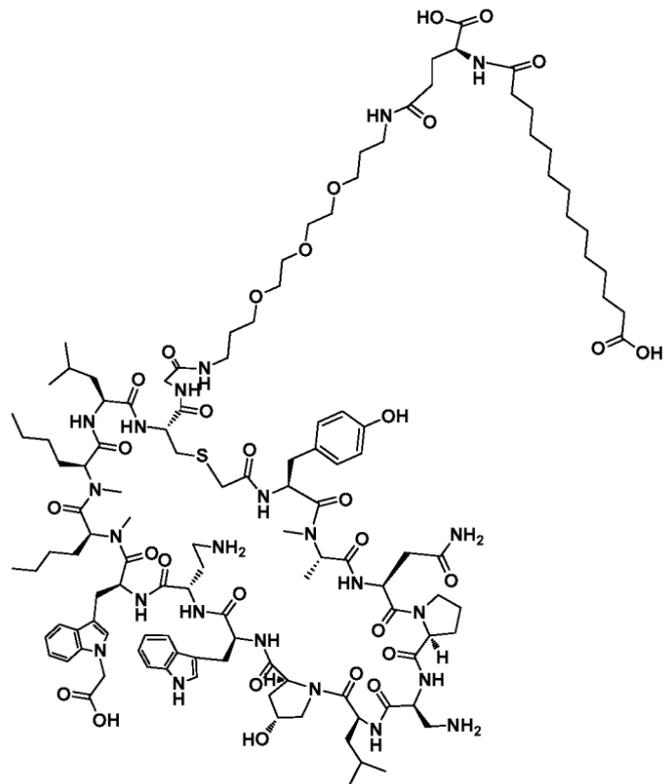
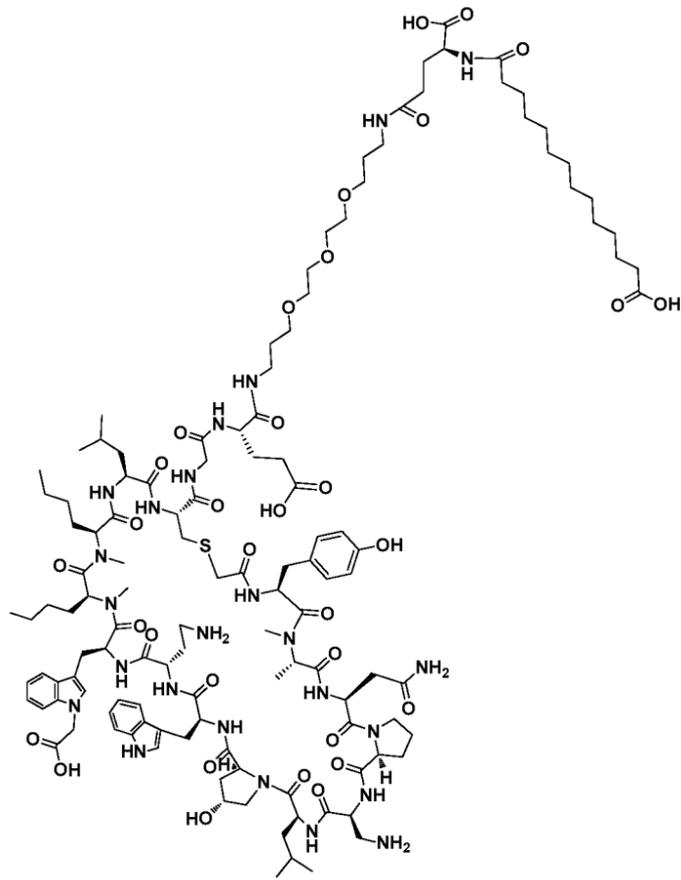


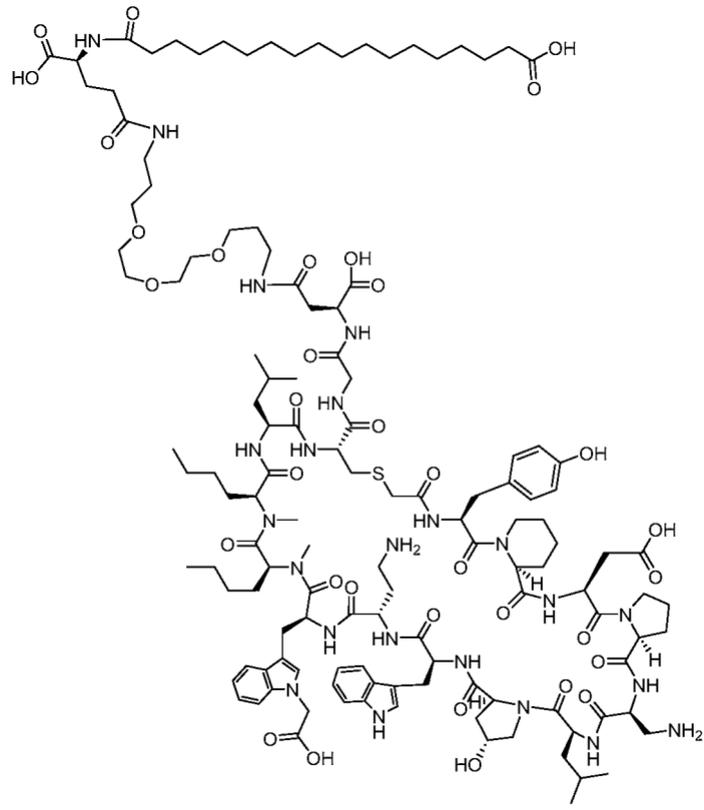


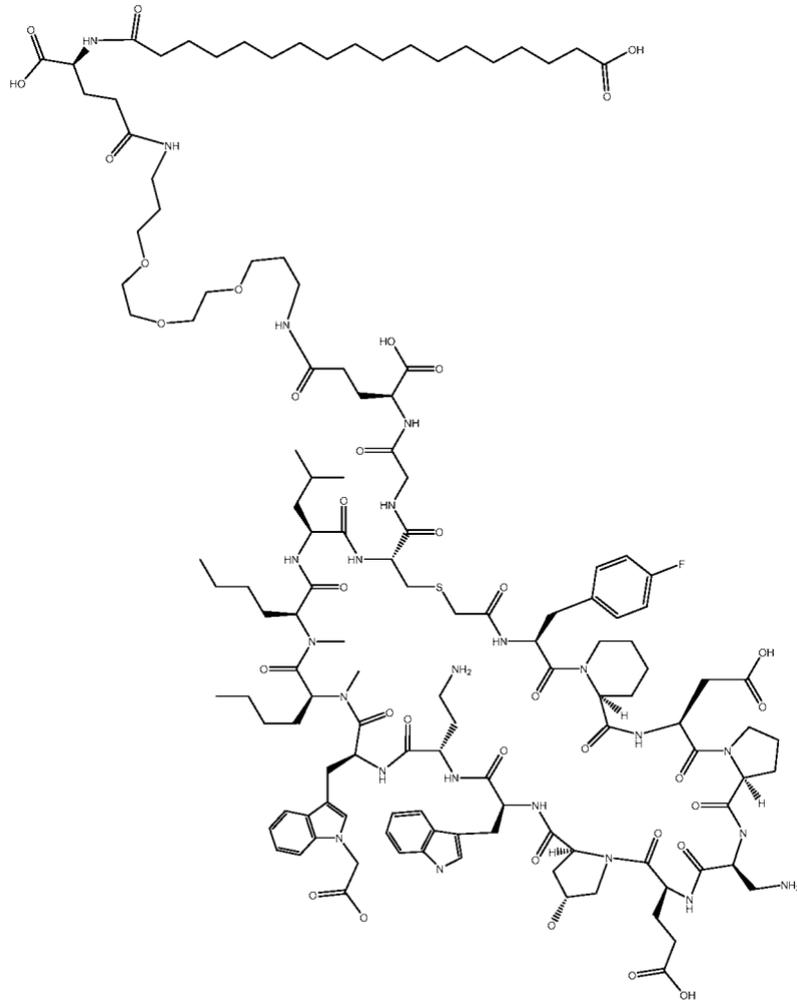


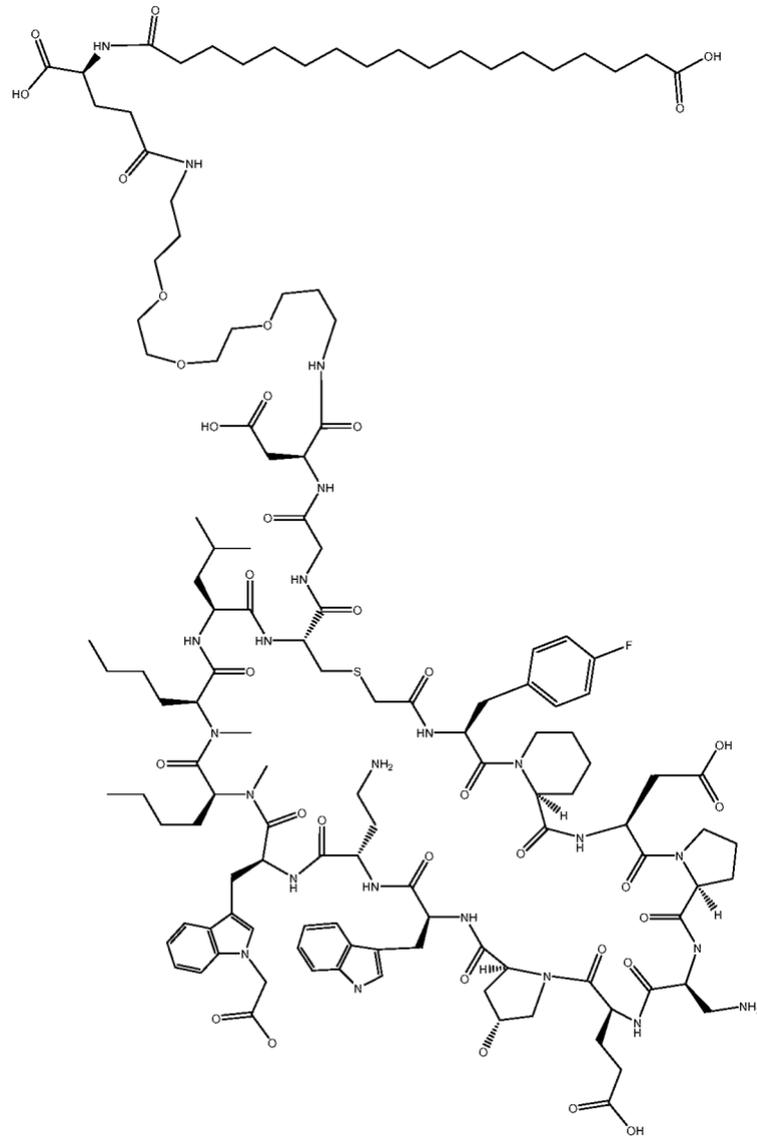


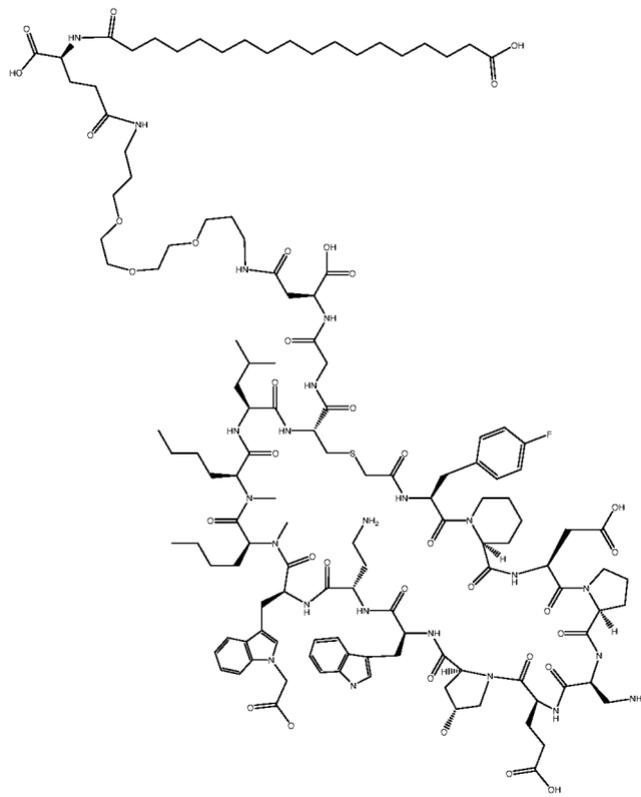
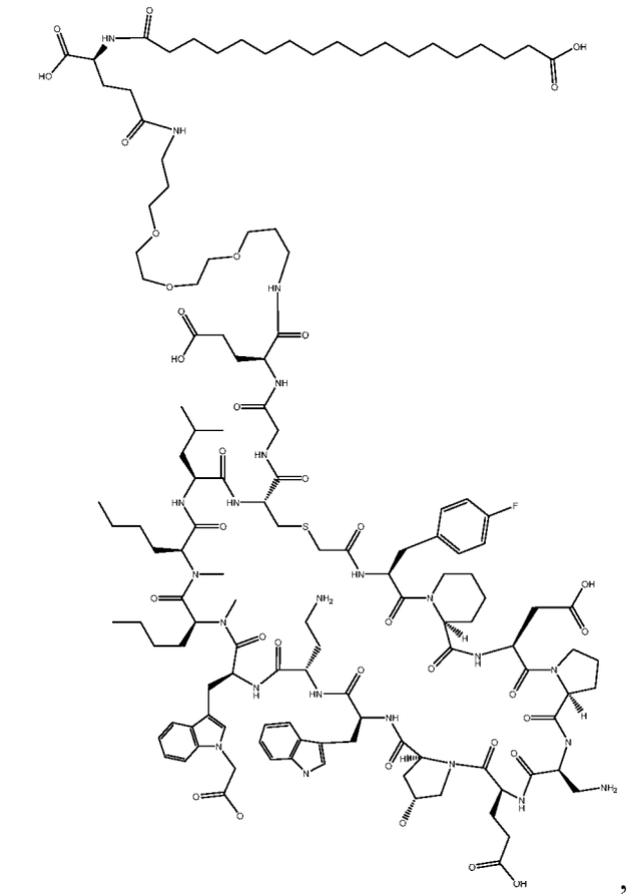


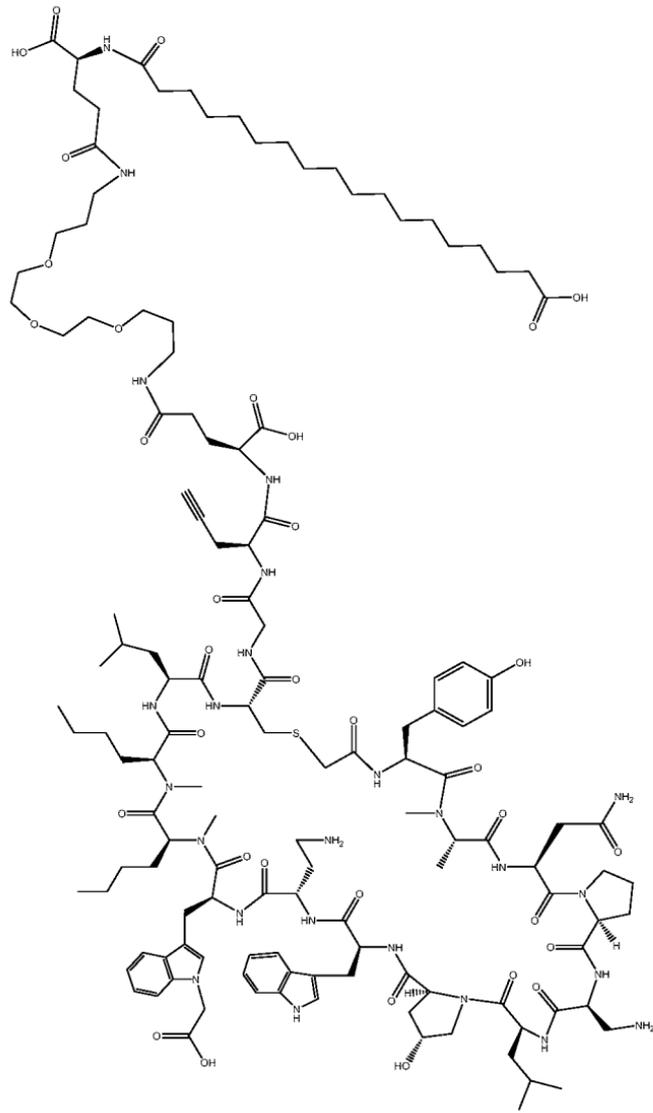




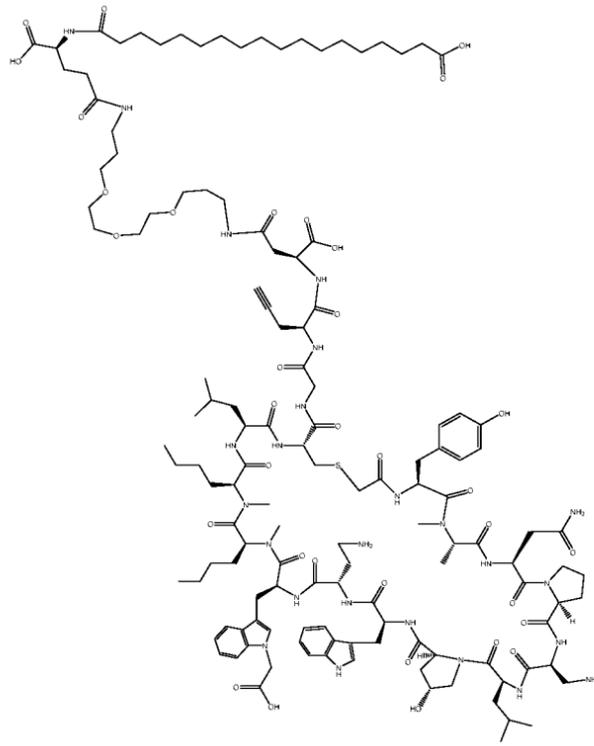
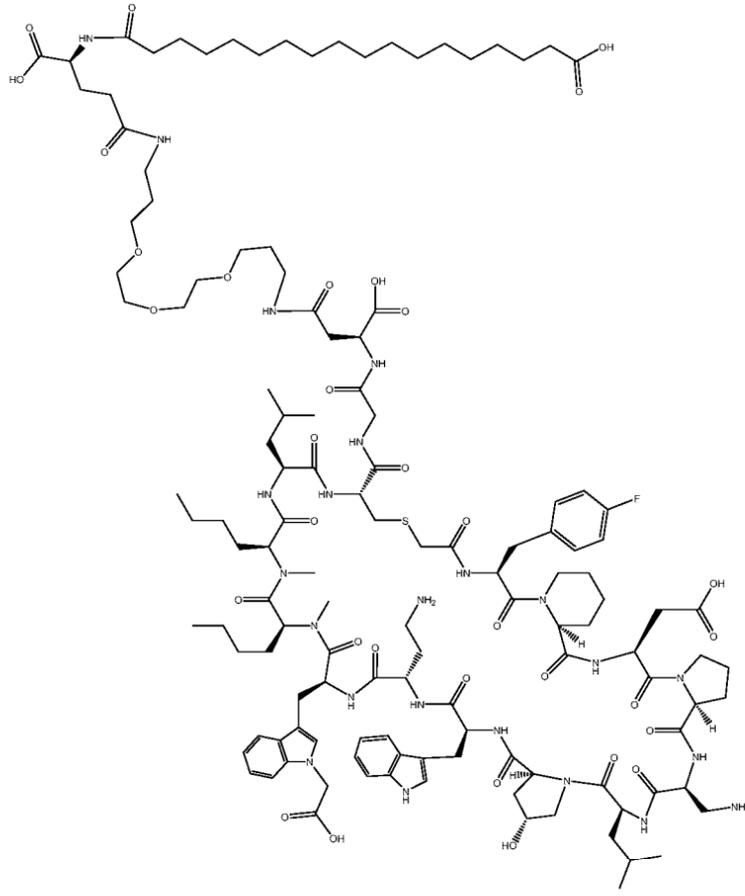




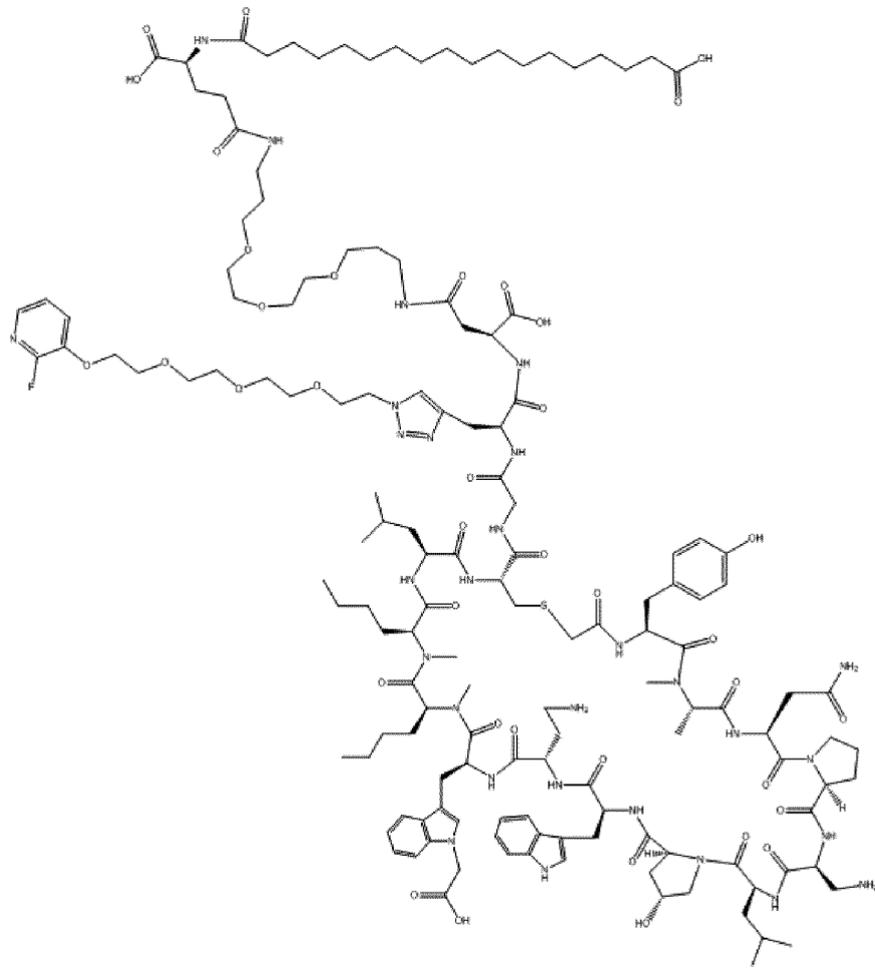




5



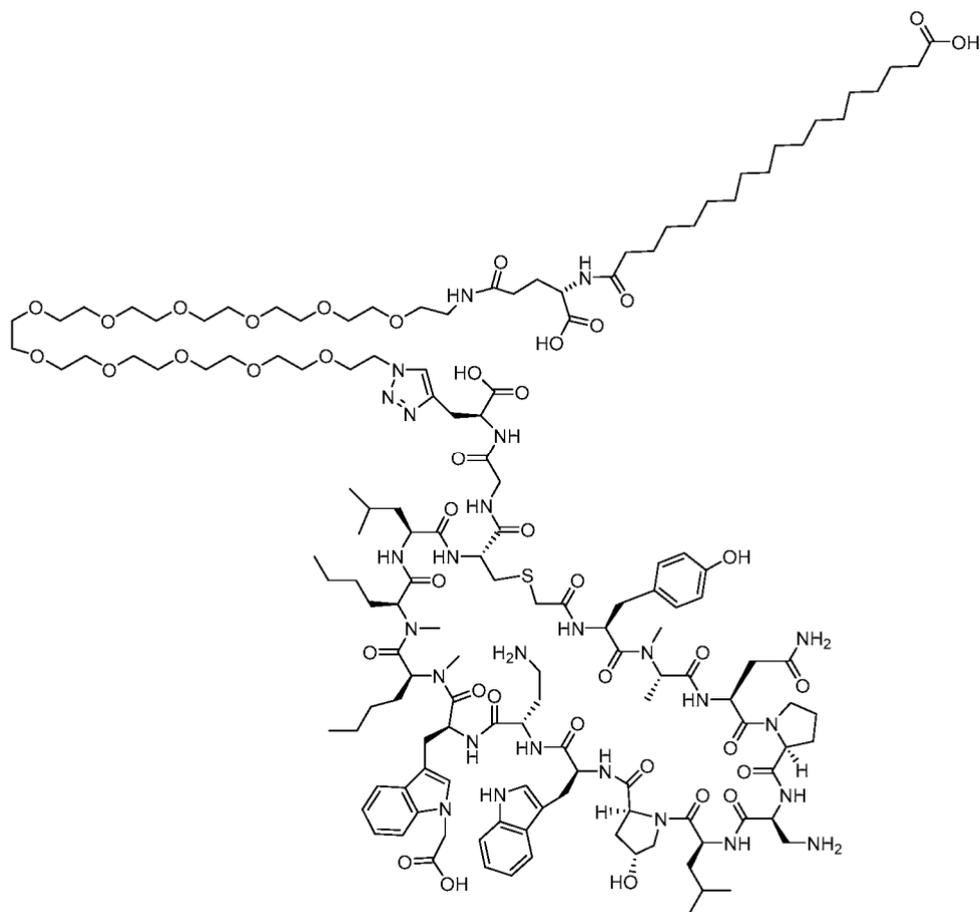
y



;

o una sal de aquel aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

5 26. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es



o una sal de este terapéuticamente aceptable.

- 5 27. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso en potenciar, estimular y/o aumentar la respuesta inmune en un sujeto que lo necesite.
28. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 27, que comprende además administrar un agente adicional antes, después o simultáneamente con el compuesto de la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable del mismo.
- 10 29. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el agente adicional es un agente antimicrobiano, un agente antivírico, un agente citotóxico y/o un modificador de la respuesta inmune.
- 15 30. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el agente adicional es un inhibidor de HDAC.
- 20 31. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el agente adicional es un agonista de TLR7 y/o TLR8.
32. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso en la inhibición del crecimiento, proliferación o metástasis de células cancerosas en un sujeto que lo necesite.
- 25 33. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso según la reivindicación 32, en el que el cáncer se selecciona entre melanoma, carcinoma de células renales, cáncer de pulmón de células no pequeñas escamosas (NSCLC), NSCLC no escamosas, cáncer colorrectal, cáncer de próstata resistente a la castración, cáncer de ovario, cáncer gástrico, carcinoma hepatocelular, carcinoma de páncreas, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinomas de esófago, tracto gastrointestinal y mama, y neoplasias hematológicas.
- 30 34. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una enfermedad infecciosa en un sujeto que lo necesite.

35. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 34, en donde la enfermedad infecciosa es causada por un virus.
- 5 36. El compuesto o sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 35, en donde el virus se selecciona de VIH, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, virus del herpes e influenza.
37. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal terapéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del choque séptico en un sujeto que lo necesite.