

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 948 846**

51 Int. Cl.:

C07K 5/02 (2006.01)
A61K 47/34 (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07K 5/027 (2006.01)
A61K 38/07 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2017** **PCT/JP2017/012797**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.10.2017** **WO17170637**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2017** **E 17775174 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2023** **EP 3438118**

54 Título: **Derivado peptídico y uso del mismo**

30 Prioridad:

29.03.2016 JP 2016065737

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.09.2023

73 Titular/es:

TORAY INDUSTRIES, INC. (100.0%)
1-1, Nihonbashi-Muromachi 2-chome Chuo-ku
Tokyo 103-8666, JP

72 Inventor/es:

NISHIO, YUKIHIRO y
YOKOSAKA, SHINYA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 2 948 846 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

Derivado peptídico y uso del mismo

5 CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a un derivado peptídico y al uso del mismo.

10 ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

De la *Dolabella auricularia* que habita en los océanos, se han aislado una pluralidad de tipos de derivados peptídicos citotóxicos. Se ha conocido la Dolastatina 10 como un compuesto que es un tipo de esos derivados peptídicos y tiene una citotoxicidad extremadamente alta, (Documento de Patente 1 y Documento No de Patente 1).

Se ha demostrado que la citotoxicidad de la Dolastatina 10 se ejerce por una acción inhibidora de la polimerización de tubulina y, hasta la fecha, se ha informado de las relaciones de la actividad de la estructura de la misma (Documentos de Patente 2 y 3, y Documento no de patente 2). Además, como otro derivado peptídico similar que tiene acción inhibidora de la polimerización de tubulina, está la monometil auristatina (Documentos de Patente 4 y 5). Se sabe que este compuesto se utiliza para un conjugado de anticuerpo-fármaco en el que el compuesto se une a un aminoácido específico de un anticuerpo a través de una estructura específica denominada conector.

Los productos farmacéuticos que están disponibles para el conjugado anticuerpo-fármaco deben tener un sustituyente específico (por ejemplo, un grupo amino, sulfhidrilo o hidroxilo) capaz de unirse al conector o al anticuerpo. Además, la eficacia médica del conjugado se ve afectada en gran medida por su forma de unión, y hasta la fecha se ha informado de los usos de una pluralidad de tipos de sustituyentes (Documentos no de Patente 3 a 5).

Como los derivados que tienen los grupos funcionales que están disponibles para los conjugados entre los inhibidores de tubulina, se ha informado hasta la fecha de la monometil auristatina anterior o PF-063801010 que tiene un grupo amino en el extremo N-terminal (Documento no de Patente 6), o los derivados de auristatina F que tienen un grupo amino, grupo hidroxilo, ácido carboxílico, hidroxilamina o alquino en el extremo C-terminal (Documento de Patente 6 y Documentos no de Patente 7 a 9).

Por otro lado, para los desarrollos del extremo C-terminal de la Dolastatina 10, se ha informado del derivado que tiene éster etílico, etil amida o tiazol amida (Documento no de Patente 10).

El Documento de Patente 7 divulga derivados tetrapeptídicos que tienen una actividad citostática superior a la dolastatina 10, por lo que son útiles como fármacos antitumorales.

40 DOCUMENTOS DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

[Documentos de Patente]

[Documento de Patente 1] JP02-167278A
[Documento de Patente 2] WO1993/003054
[Documento de Patente 3] WO1995/009864
[Documento de Patente 4] WO2002/088172
[Documento de Patente 5] WO2004/010957
[Documento de Patente 6] WO2012/171020
[Documento de Patente 7] EP 0 598 129 A1

[Documentos que no son de Patente]

[Documento no de Patente 1] Pettit et al., Journal of the American Chemical Society, (1987) 109; págs. 6883-6885.
[Documento no de Patente 2] Miyazaki et al., Chemical and Pharmaceutical Bulletin, (1995) 43; págs. 1706-1718.
[Documento no de Patente 3] Jain et al., Pharmaceutical Research, (2015) 32; págs. 3526-3540.
[Documento no de Patente 4] Trais et al., Antibodies, (2013) 2; págs. 113-129.
[Documento no de Patente 5] Kern et al., Journal of the American Chemical Society, (2016) 138; págs. 1430-1445.
[Documento no de Patente 6] Maerna et al., Journal of Medicinal Chemical Society, (2014) 57; págs. 10527-43.
[Documento no de Patente 7] Doronia et al., Bioconjugate Chemistry, (2008) 19; págs. 1960-1963.
[Documento no de Patente 8] Axup et al., Proceedings of the National Academy of Sciences, (2012) 109; págs. 16101-16106.
[Documento no de Patente 9] VanBrunt et al., Bioconjugate Chemistry, (2015) 26; págs. 2249-2260.

[Documento no de Patente 10] Miyazaki et al., Peptide Chemistry, (1993); págs. 85-88.

SUMARIO DE LA INVENCION

5 PROBLEMA A RESOLVER CON LA INVENCION

Sin embargo, no se han informado hasta la fecha de derivados de Dolastatina 10 que tienen un grupo funcional disponible para la formación del conjugado en el extremo C-terminal.

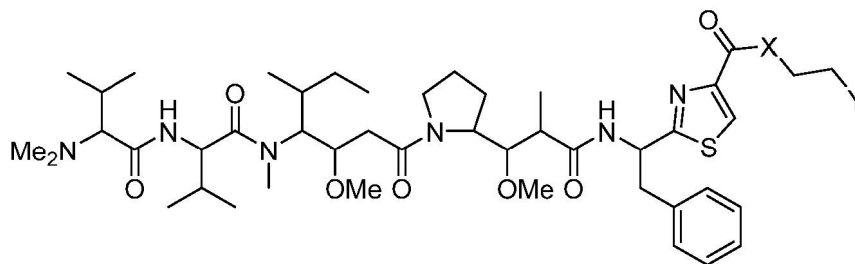
10 Además, se considera que los derivados que tienen la misma estructura básica pero que tienen diferentes tipos de sustituyentes son útiles para la creación de un nuevo conjugado y para verificar el efecto de la composición del conjugado sobre la citotoxicidad. Sin embargo, no se ha informado de tales derivados.

15 Un propósito de la presente invención es proporcionar un derivado de Dolastatina 10 que tenga un grupo o grupos funcionales disponibles para la formación de un conjugado en el extremo C-terminal.

MEDIOS PARA RESOLVER LOS PROBLEMAS

20 Los presentes inventores estudiaron intensamente para lograr el propósito descrito anteriormente y, en consecuencia, descubrieron que un nuevo derivado peptídico con un grupo funcional específico en el extremo C-terminal o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tiene una alta citotoxicidad sobre una pluralidad de células cancerosas y, por lo tanto, completaron el presente invención.

25 Es decir, la presente invención proporciona un derivado peptídico representado por la Fórmula (I) siguiente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

40 en donde X representa un átomo de oxígeno o NR, Y representa NH₂, N(Me)H, SH, OH o fenilo en el que cualquiera de los átomos de hidrógeno se reemplaza por NH₂ u OH, y R representa un átomo de hidrógeno o alquilo C₁-C₃, siempre que se excluyan el derivado en donde X es NH, e Y es NH₂, y el derivado en donde X es NH e Y es N(Me)H, y el derivado peptídico se selecciona del grupo consistente en compuestos como se definen en la reivindicación 1.

45 En este caso, puede esperarse una alta citotoxicidad.

En el derivado peptídico representado por la Fórmula (I) anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, X es NR como se define en la reivindicación 1.

50 En este caso, cabe esperar una citotoxicidad más alta.

En el derivado peptídico representado por la Fórmula (I) anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, X es NR y R puede ser metilo.

55 En este caso, puede esperarse una citotoxicidad todavía más alta.

Además, la presente invención proporciona un conjugado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que incluye el derivado peptídico representado por la Fórmula (I) anterior y un ligando de direccionamiento o un polímero.

60 Además, la presente invención proporciona el derivado peptídico representado por la Fórmula (I) anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o el conjugado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo para su uso como un agente citotóxico.

65

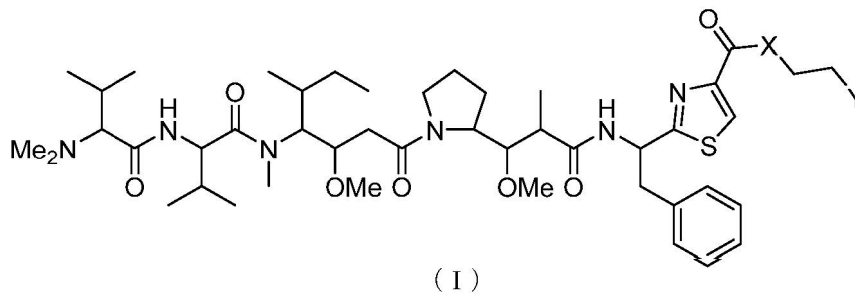
EFECTO DE LA INVENCION

Los derivados peptídicos de la presente invención o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos tienen una alta citotoxicidad y, por lo tanto, pueden usarse como agentes citotóxicos.

Además, los derivados peptídicos de la presente invención tienen varios grupos funcionales en el extremo C-terminal. Por lo tanto, pueden conjugarse el derivado peptídico o un profármaco del mismo y un ligando de direccionamiento o un polímero. Los conjugados resultantes o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden usarse como agentes citotóxicos.

MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

Un derivado peptídico de acuerdo con la presente invención está representado por la Fórmula (I) siguiente:



en donde X representa un átomo de oxígeno o NR, Y representa NH₂, N(Me)H, SH, OH o fenilo en el que cualquiera de los átomos de hidrógeno se reemplaza por NH₂ u OH, y R representa un átomo de hidrógeno o alquilo C₁-C₃, siempre que se excluyan el derivado en el que X es NH e Y es NH₂, y el derivado en el que X es NH e Y es N(Me)H, y el derivado peptídico se seleccione del grupo formado por compuestos de acuerdo con los Ejemplos 1, 3, 9 y 11, que se muestran a continuación.

A menos que se especifique lo contrario, se definen a continuación los siguientes términos usados en la presente.

El término "fenilo en el que uno cualquiera de los átomos de hidrógeno está reemplazado por NH₂ u OH" significa 2-aminofenilo, 3-aminofenilo, 4-aminofenilo, 2-hidroxifenilo, 3-hidroxifenilo o 4-hidroxifenilo.

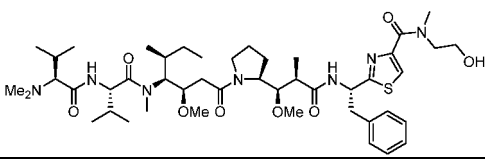
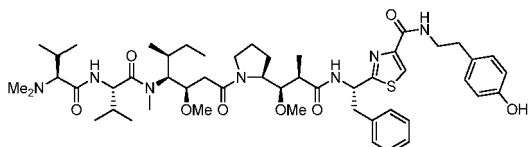
El término "alquilo C₁-C₃" significa metilo, etilo, propilo o isopropilo.

En la Tabla 1 se indican los compuestos de los derivados peptídicos representados por la Fórmula (I) anterior.

[Tabla 1]

Fórmula Estructural	Fórmula Estructural

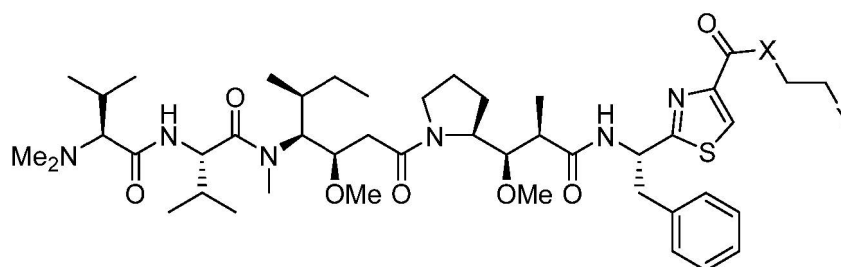
(continuación)

Fórmula Estructural	Fórmula Estructural
	
	

Los compuestos descritos en la Tabla 1 también incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Cuando el derivado peptídico representado por la Fórmula (I) anterior (en lo sucesivo, derivado peptídico (I)) contiene isómeros conformacionales, isómeros rotacionales, tautómeros, isómeros ópticos, diastereómeros o epímeros, el derivado peptídico (I) también incluye cualquiera de los isómeros así como mezclas de los mismos. Además, cuando existen isómeros ópticos del derivado peptídico (I), se incluye en el derivado peptídico (I) un isómero óptico obtenido por resolución del racemato.

La configuración del derivado peptídico (I) es preferiblemente la Fórmula (II):



(I I)

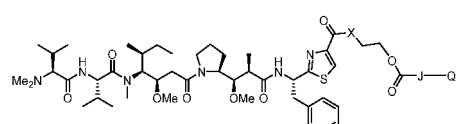
La presente invención también incluye un profármaco del derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El profármaco del derivado peptídico (I) se refiere a un compuesto que se convierte *in vivo* enzimática o químicamente en el derivado peptídico (I). La actividad de un profármaco del derivado peptídico (I) es atribuible al derivado peptídico (I), pero el propio profármaco del derivado peptídico (I) puede tener alguna actividad.

Los ejemplos del profármaco del derivado peptídico (I) incluyen compuestos en los que el grupo hidroxilo del derivado peptídico (I) está esterificado, carbonatado, carbamado, alquilado, fosforilado o borado. Estos compuestos pueden sintetizarse a partir del derivado peptídico (I) o un producto intermedio sintético del mismo de acuerdo con métodos conocidos.

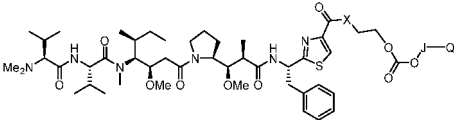
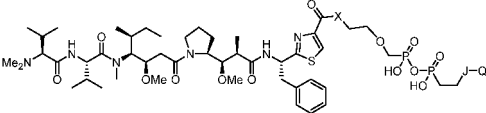
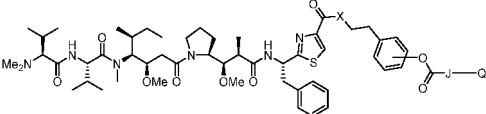
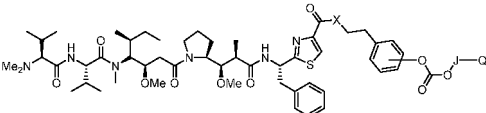
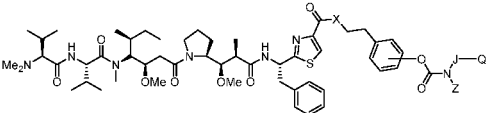
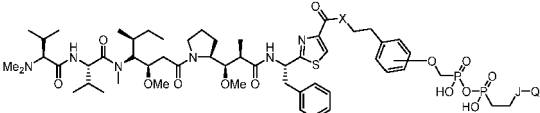
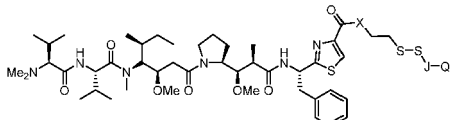
Los ejemplos del profármaco del derivado peptídico (I) incluyen compuestos en los que el grupo sulfhidrilo del derivado peptídico (I) forma el enlace disulfuro. Estos compuestos pueden sintetizarse a partir del derivado peptídico (I) o un producto intermedio sintético del mismo de acuerdo con métodos conocidos.

En la Tabla 2 se indican los ejemplos específicos de los profármacos del derivado peptídico (I) anterior.

[Tabla 2]

Número	Fórmula Estructural
1	

(continuación)

Número	Fórmula Estructural
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

Los compuestos descritos en la Tabla 2 también incluyen las sales de los mismos.

En la Tabla 2, cada Q representa un grupo funcional (por ejemplo, grupo maleimida, carboxilo, carboxilo activado, carbonilo, aminoóxi, hidrazida, diazo, alquino o hidroxilo) que puede conjugarse mediante métodos conocidos (por ejemplo, Ellen M. Sletten et al. al., *Angewante Chemie International Edition*, (2009), 48: págs. 6974-6998, Greg T. Hermanson, "Bioconjugate Technique", Elsevier, Xi Chem et al., *Organic & Biomolecular Chemistry*, (2016), 14: págs. 5417-5439) o métodos equivalentes a los mismos; J está ausente o representa un espaciador; A₁, A₂ y A₃ representan aminoácidos; Z representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo; y otros símbolos son los mismos que en la definición anterior.

El término "espaciador" significa una estructura que une el derivado peptídico (I) o el profármaco del derivado peptídico (I) con Q. Los ejemplos del espaciador incluyen alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificado, -C(=O)N(Z)- o -N(Z)C(=O)-, PEG, enlaces disulfuro o estructuras constituidas por cualquier combinación de los anteriores, y preferiblemente incluyen las estructuras constituidas por cualquier combinación de los anteriores.

Los ejemplos del término "alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificado" incluyen -(CH₂)_n-, -CH(Me)-, -C(Me)₂-, -(CH₂)_oCH(Me)-, -CH(Me)(CH₂)_o-, -(CH₂)_pC(Me)₂-, o -C(Me)₂-(CH₂)_p-. La n representa un número entero de 1 a 12, o representa un número entero de 1 a 10 y p representa un número entero de 1 a 9.

El término "PEG" significa un polietilenglicol de cadena lineal que está representado por una estructura repetitiva de -(CH₂CH₂O)_m- y tiene un peso molecular medio en número de 200 a 2000, donde m representa un número entero de 5 a 45.

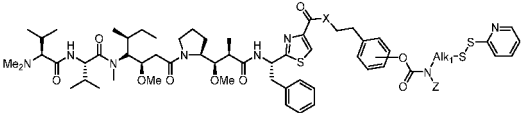
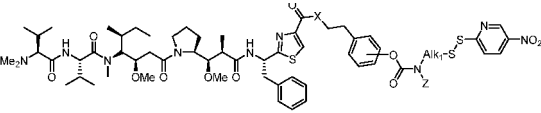
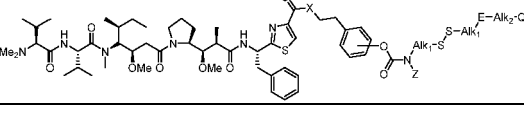
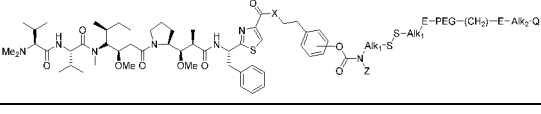
Cuando en la presente el aminoácido se indica mediante abreviaturas, las abreviaturas se basan en las abreviaturas de la Comisión de Nomenclatura Bioquímica de IUPAC-IUB, o abreviaturas comunes en la técnica, y los ejemplos de la abreviatura se describirán a continuación. Además, cuando puede estar presente un isómero óptico para el aminoácido, a menos que se especifique lo contrario, si no se define, se supone que el aminoácido indica su forma L (por ejemplo, "Lys" significa Lys en forma L). Cuando se indica con "D-", el aminoácido indica su forma D (por ejemplo, "D-Lys" significa Lys en forma D). Cuando se indica con "DL-", el aminoácido indica el racemato de forma D y forma L (por ejemplo, "DL-Lys" significa el racemato de Lys en forma D y Lys en forma L).

El "aminoácido" es cualquiera seleccionado de DL-Ala, DL-Arg, DL-Asn, DL-Asp, DL-Cit, DL-Cys, DL-Gln, DL-Glu, DL-Gly, DL-His, DL-Ile, DL-Leu, DL-Lys, DL-Met, DL-Phe, DL-Pro, DL-Ser, DL-Thr, DL-Trp, DL-Tyr, o DL-Val. Preferiblemente, A₁ es Lys y A₂ y A₃ están ausentes; A₁ es Cit o Lys, A₂ es Val o Phe y A₃ está ausente; o A₁ es Asp, y A₂ y A₃ es Ala.

A₁ descrito en la Tabla 2 se une a NH en el grupo fenilo en un extremo terminal carbonilo, y A₁, A₂ y A₃ se unen a través de enlaces amida en la cadena principal.

En la Tabla 3, se ilustran las estructuras preferibles del profármaco del derivado peptídico (I) descrito como Número 6 en la Tabla 2.

[Tabla 3]

Fórmula Estructural	Fórmula Estructural
	
	

Los compuestos descritos en la Tabla 3 también incluyen las sales de los mismos.

En la Tabla 3, Alk₁ y Alk₂ representan independientemente alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificado; E está ausente o representa -C(=O)N(Z)- o -N(Z)C(=O)-; y otros símbolos son los mismos que en la definición anterior.

En los profármacos de los derivados peptídicos (I) descritos en la Tabla 3, más preferiblemente Alk₁ es -(CH₂)₂-, y aún más preferiblemente X es NR, Alk₁ es -(CH₂)₂-, E es -N(Z)C(=O)-, PEG es -(CH₂CH₂O)₁₂-, y Q es maleimida, pero la presente invención no se limita a estos.

En el profármaco de los derivados peptídicos (I) descritos como Número 8 en la Tabla 2, preferiblemente J es -Alk₁-E-Alk₂- o -Alk₁-E-PEG-(CH₂)₂-E-Alk₂-, y más preferiblemente J es -(CH₂)₂-N(Z)C(=O)-Alk₂- o -(CH₂)₂-N(Z)C(=O)-(CH₂CH₂O)₁₂-(CH₂)₂-N(Z)C(=O)-Alk₂-, y Q es maleimida, pero la presente invención no se limita a estos.

Además, el profármaco del derivado peptídico (I) puede ser un profármaco que se convierte en el derivado peptídico (I) en las condiciones fisiológicas descritas en un documento conocido ("Development of Pharmaceutical Product", Hirokawa Shoten Co., (1990), Vol. 7, págs. 163-198 y Progress in Medicine, (1985), Vol. 5, págs. 2157-2161).

El derivado peptídico (I) puede marcarse con un isótopo, y los ejemplos del isótopo usado para marcar incluyen ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁵O, ¹⁷O, ¹⁸O y/o ¹²⁵I.

Los ejemplos de "sal farmacéuticamente aceptable" del derivado peptídico (I) incluyen sales de ácidos inorgánicos como clorhidrato, sulfato, nitrato, bromhidrato, yodhidrato o fosfato; o sales de ácidos orgánicos como oxalato, malonato, citrato, fumarato, lactato, malato, succinato, tartrato, acetato, trifluoroacetato, maleato, gluconato, benzoato, ascorbato, glutarato, mandelato, ftalato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato, canforsulfonato, aspartato, glutamato o cinamato, y preferiblemente incluyen un clorhidrato, sulfato, bromhidrato, maleato, benzoato o metanosulfonato.

El derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser un anhidrato o puede haber formado un solvato, como un hidrato. El solvato de la presente invención es preferiblemente un solvato farmacéuticamente aceptable. El solvato farmacéuticamente aceptable puede ser cualquiera de un hidrato o no

hidrato, pero preferiblemente es un hidrato. Los ejemplos del constituyente de solvente en el solvato incluyen solventes a base de alcohol, como metanol, etanol o *n*-propanol; *N,N*-dimetilformamida; dimetilsulfóxido; o agua

El derivado peptídico (I) puede producirse mediante un método apropiado basado en su estructura básica y características derivadas de los tipos de sustituyentes. Además, los materiales de partida y los reactivos usados para la producción de estos compuestos generalmente están disponibles comercialmente o pueden producirse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos.

El derivado peptídico (I), así como los productos intermedios y los materiales de partida para su uso en la producción del derivado pueden aislarse y purificarse mediante procedimientos conocidos. Los ejemplos de los procedimientos conocidos para el aislamiento y la purificación incluyen la extracción con solventes, la recristalización o la cromatografía.

Si el derivado peptídico (I) incluye isómeros ópticos o estereoisómeros, cada isómero puede obtenerse como un solo compuesto mediante métodos conocidos. Los ejemplos de los métodos conocidos incluyen cristalización, resolución enzimática o cromatografía quiral.

En cada reacción del método de producción como se describe a continuación, si cualquier compuesto de materia prima tiene un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo sulfhidrilo o un grupo carboxilo, puede introducirse un grupo protector en cada uno de estos grupos y puede obtenerse un compuesto de interés eliminando el grupo protector según sea necesario después de la reacción.

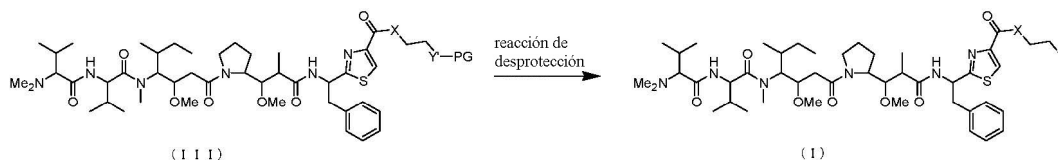
Los ejemplos del grupo protector para el grupo hidroxilo incluyen el grupo tritilo, el grupo tetrahidropiraniilo, el grupo aralquilo C₇-C₁₀ (por ejemplo, el grupo bencilo) o el grupo sililo sustituido (por ejemplo, el grupo trimetilsililo, el grupo trietilsililo o el grupo *terc*butildimetilsililo).

Los ejemplos del grupo protector para el grupo sulfhidrilo incluyen el grupo tritilo, el grupo 2-mercaptopiridilo o el grupo 2-mercapto-5-nitropiridilo.

Los ejemplos del grupo protector para el grupo carboxilo incluyen un grupo alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, grupo metilo, grupo etilo o grupo *terc*-butilo) o un grupo aralquilo C₇-C₁₀ (por ejemplo, un grupo bencilo).

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de los grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

El derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante reacción de desprotección de un derivado peptídico protegido (III), como se muestra en el Esquema 1.

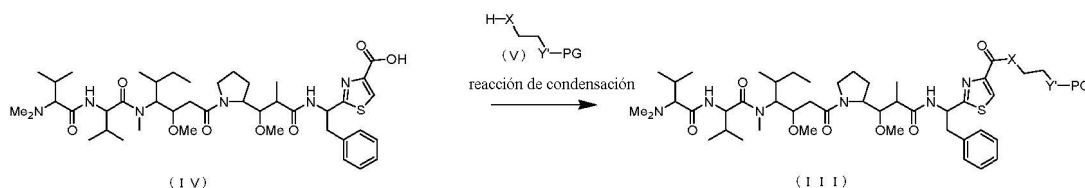


Esquema 1

en donde PG representa el grupo protector, X es NR, Y representa SH e Y' representa S.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

El derivado peptídico protegido (III) puede obtenerse, por ejemplo, mediante la reacción de condensación de un derivado de ácido carboxílico (IV) y un nucleófilo (V), como se muestra en el Esquema 2.



Esquema 2

en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

La cantidad de nucleófilo (V) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 3 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen cloroformiato de etilo, cloruro de oxalilo, clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio o hexafluorofosfato de anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen cloroformiato de etilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos, como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter, como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster, como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro, como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo, como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro, tales como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos, como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

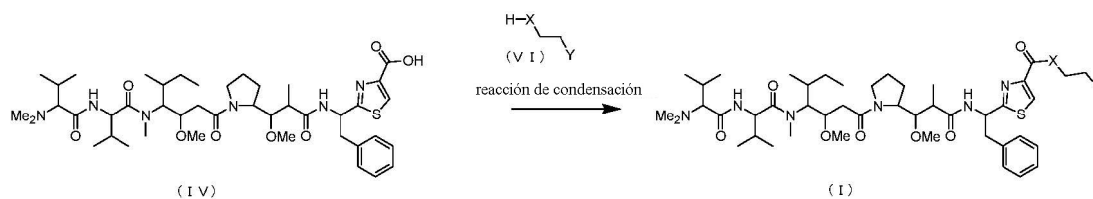
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (IV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El nucleófilo (V) está disponible comercialmente o puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos.

Además, el derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante la reacción de condensación del derivado de ácido carboxílico (IV) y un nucleófilo (VI), como se muestra en el Esquema 3.



en donde X representa NR, Y representa OH o fenilo en el que cualquiera de los átomos de hidrógeno se reemplaza por NH₂ u OH, y los demás símbolos son iguales a la definición anterior.

La cantidad de nucleófilo (VI) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 3 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen cloroformiato de etilo, cloruro de oxalilo, clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, hexafluorofosfato

de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, o hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, y preferiblemente incluyen cloroformiato de etilo o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos, como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter, como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster, como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro, como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo, como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro, como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano, o solventes polares apróticos, como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas, como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas, como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

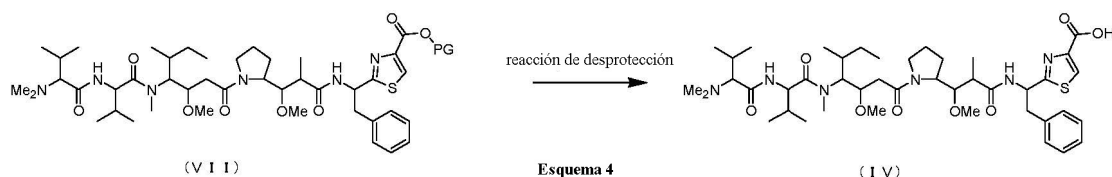
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (IV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El nucleófilo (VI) está disponible comercialmente o puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes.

El derivado de ácido carboxílico (IV) puede obtenerse, por ejemplo, mediante la desprotección de un derivado de éster (VII), como se muestra en el Esquema 4.

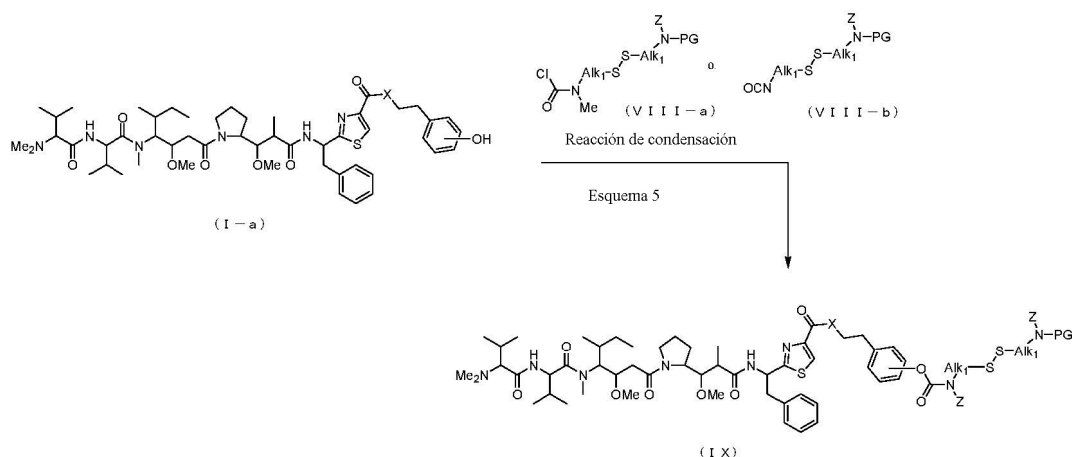


en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

El derivado de éster (VII) también puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos.

Puede obtenerse un derivado de fenoxicarbamato protegido (IX), por ejemplo, mediante la reacción de condensación de un derivado de fenol (I-a) y un electrófilo (VIII-a) o (VIII-b), como se muestra en el Esquema 5.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

La cantidad de electrófilo (VIII-a) o (VIII-b) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 3 equivalentes, del derivado de fenol (I-a).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos, como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona, piridina o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter, como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster, como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro, como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo, como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro, como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano, solventes polares apróticos, como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona, piridina o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas, como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas, como trietilamina, diisopropiletilamina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas, como trietilamina, diisopropiletilamina o piridina.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de fenol (I-a).

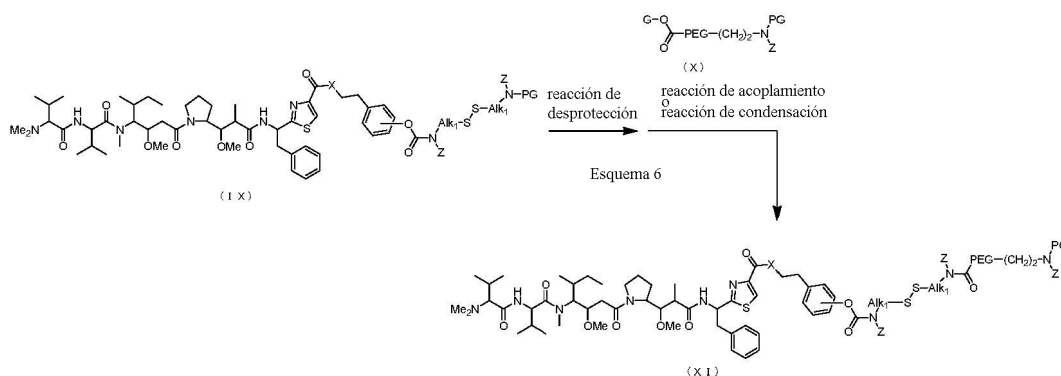
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40°C a 200°C , más preferiblemente de -20°C a 150°C .

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de fenol (I-a) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El electrófilo (VIII-a) o (VIII-b) puede sintetizarse o generarse en un sistema de reacción a partir de derivados de amina o derivados de ácido carboxílico conocidos mediante métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos.

Puede obtenerse un derivado de polietilenglicol protegido (XI), por ejemplo, mediante la desprotección del derivado de fenoxycarbamato protegido (IX) seguido de una reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con un derivado de ácido carboxílico (X) (en los casos en que G es succinimidilo o *p*-nitrofenilo) o por reacción de condensación con un derivado del ácido carboxílico (X) (en los casos donde G es un átomo de hidrógeno), como se muestra en el Esquema 6.



en donde G representa un átomo de hidrógeno, succinimido o *p*-nitrofenilo, y cada uno de los otros símbolos es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

La cantidad del derivado de ácido carboxílico (X) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas, como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropilamina.

La cantidad de base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos de tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (X) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; clorformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-

benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N'*-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropilo)carbodiimida, o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1 *H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (X).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitril, como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano, o solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (X).

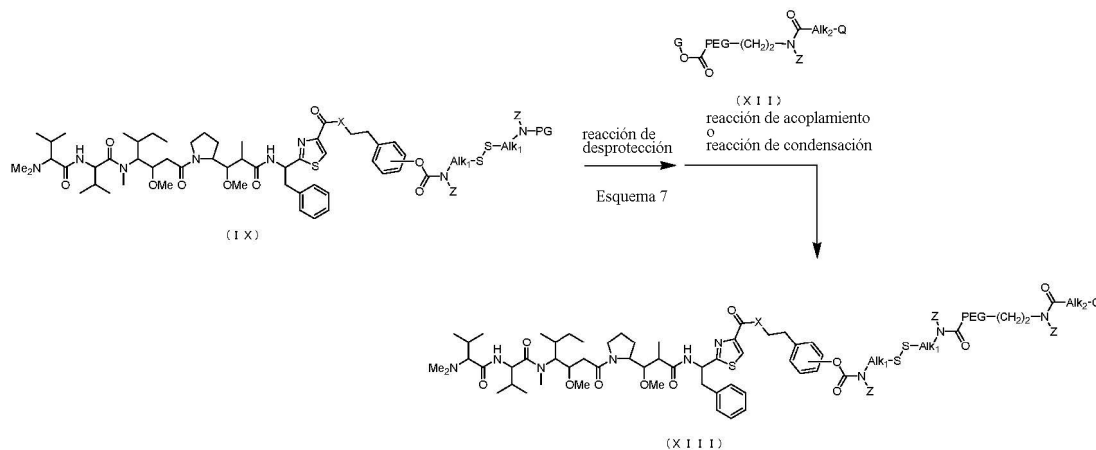
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (X) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El derivado de ácido carboxílico (X) está disponible comercialmente o puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes.

El profármaco (XIII) del derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante desprotección del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX) seguido de reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con un derivado de ácido carboxílico (XII) (en los casos en que G es succinimidilo o *p*-nitrofenilo) o por reacción de condensación con un derivado de ácido carboxílico (XII) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno), como se muestra en el Esquema 7.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero

la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

5 La cantidad del derivado de ácido carboxílico (XII) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX).

10 El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina.

15 La cantidad de base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX).

20 El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

25 La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

30 Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

35 La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

40 El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XII) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

45 Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; clorformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

50 La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XII).

55 Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

65

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XII).

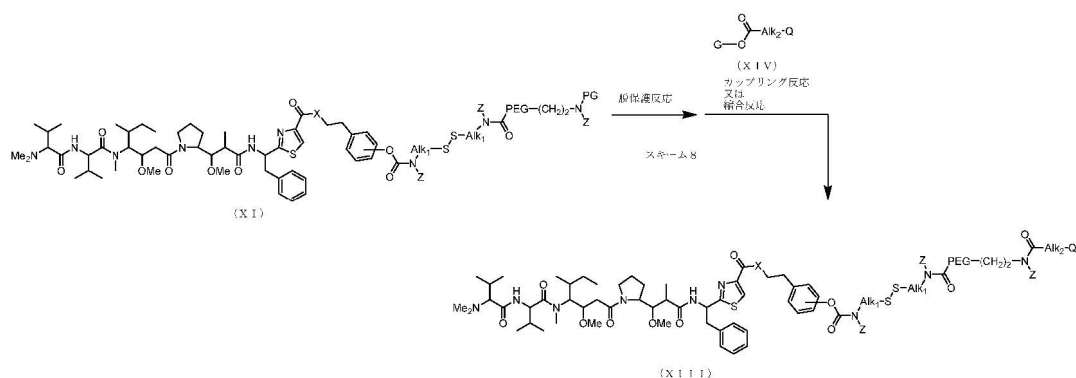
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40°C a 200°C , más preferiblemente de -20°C a 150°C .

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XII) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El derivado de ácido carboxílico (XII) está disponible comercialmente o puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes.

El profármaco (XIII) del derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante desprotección del derivado de polietilenglicol protegido (XI) seguido de reacción de acoplamiento en condiciones de básicas a neutras con el derivado de ácido carboxílico (XIV) (en casos donde G es succinimidilo o *p*-nitrofenilo) o mediante reacción de condensación con el derivado del ácido carboxílico (XIV) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno), como se muestra en el Esquema 8.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

La cantidad del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de polietilenglicol protegido (XI).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina.

La cantidad de la base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de polietilenglicol protegido (XI).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de

pH 7,0 a 8,0.

La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; cloroformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

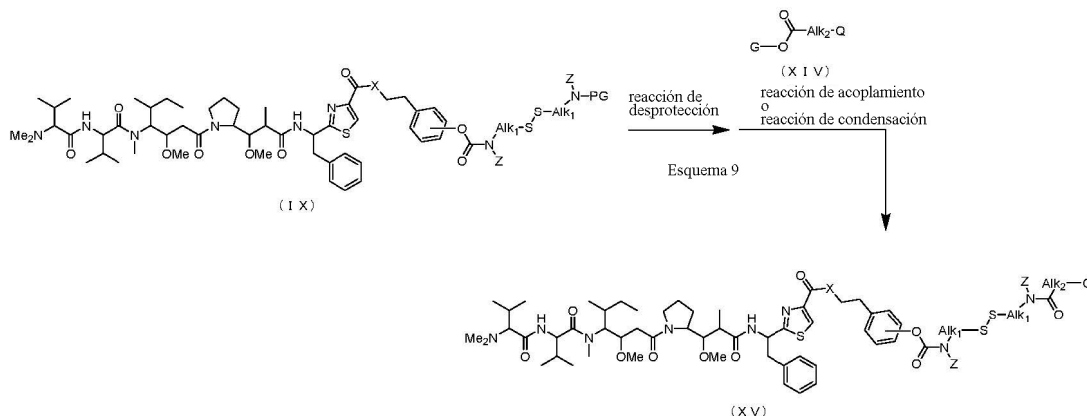
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El derivado de ácido carboxílico (XIV) está disponible comercialmente o puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes.

El profármaco (XV) del derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante la desprotección del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX) seguido de una reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con el derivado de ácido carboxílico (XIV) (en los casos en los que G es succinimidilo o *p*-nitrofenilo) o por reacción de condensación con el derivado del ácido carboxílico (XIV) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno) como se muestra en el Esquema 9.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes..

La cantidad del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina.

La cantidad de base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de fenoxicarbamato protegido (IX).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; clorformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

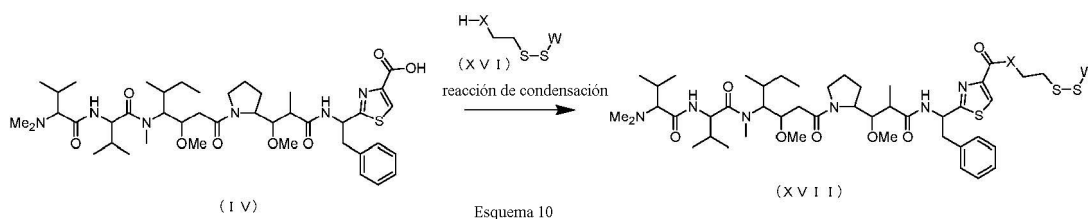
La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El derivado de disulfuro (XVII) puede obtenerse, por ejemplo, mediante la reacción de condensación de un derivado de ácido carboxílico (IV) y un nucleófilo (XVI) como se muestra en el Esquema 10.



en donde W representa 2-mercaptopiridilo, 2-mercapto-5-nitropiridilo o -Alk₁-N(Z) (PG), y los otros símbolos son iguales a la definición anterior.

La cantidad de nucleófilo (XVI) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 3 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen

cloroformiato de etilo, cloruro de oxalilo, clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen cloroformiato de etilo o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, -hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (IV).

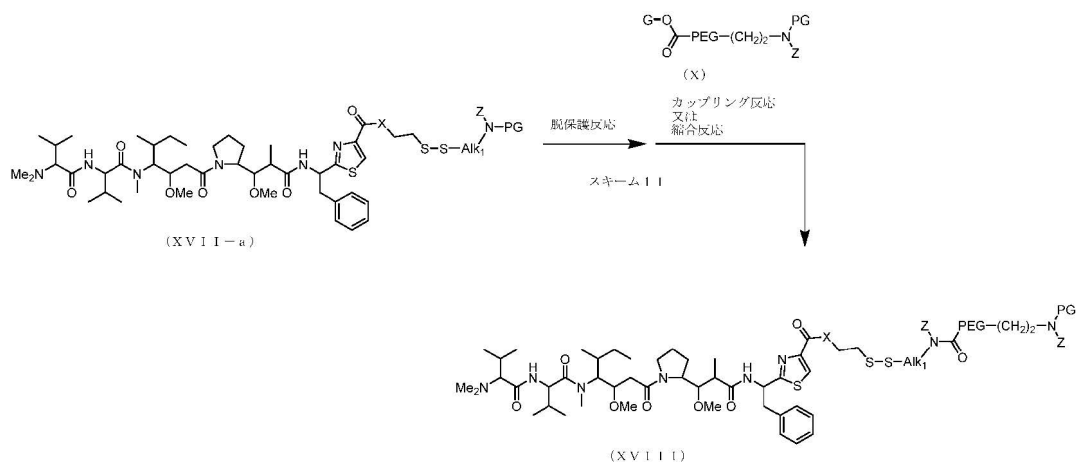
La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (IV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El nucleófilo (XVI) está disponible comercialmente o puede sintetizarse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos.

Puede obtenerse un derivado de polietilenglicol protegido (XVIII), por ejemplo, mediante la desprotección del derivado de disulfuro (XVII-a) seguido de una reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con el derivado de ácido carboxílico (X) (en los casos en los que G es succinimidilo o p-nitrofenilo) o mediante reacción de condensación con el derivado de ácido carboxílico (X) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno) como se muestra en el Esquema 11.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes.

La cantidad del derivado de ácido carboxílico (X) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de disulfuro (XVII-a).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina.

La cantidad de base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de disulfuro (XVII-a).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (X) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; clorformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (X).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-

dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

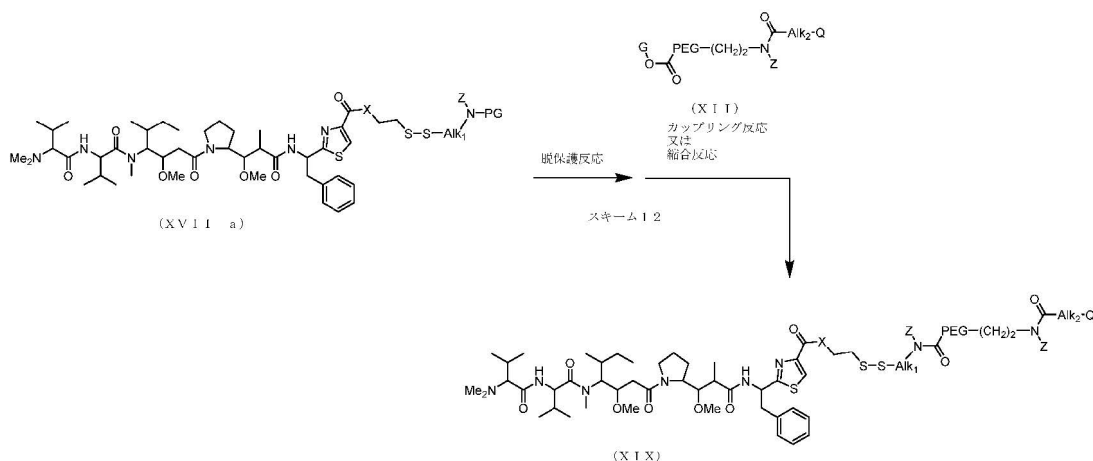
La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (X).

La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones, como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (X) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El profármaco (XIX) del derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante desprotección del derivado de disulfuro (XVII-a) seguido de reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con el derivado de ácido carboxílico (XII) (en casos donde G es succinimido o p-nitrofenilo) o mediante reacción de condensación con el derivado del ácido carboxílico (XII) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno) como se muestra en el Esquema 12.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes.

La cantidad de derivado de ácido carboxílico (XII) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de disulfuro (XVII-a).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio, o bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina.

La cantidad de base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de disulfuro (XVII-a).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los

ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

5 La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

10 Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

15 La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

20 El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

25 La concentración del derivado de ácido carboxílico (XII) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

30 Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; cloroformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

35 La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XII).

40 Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

45 La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

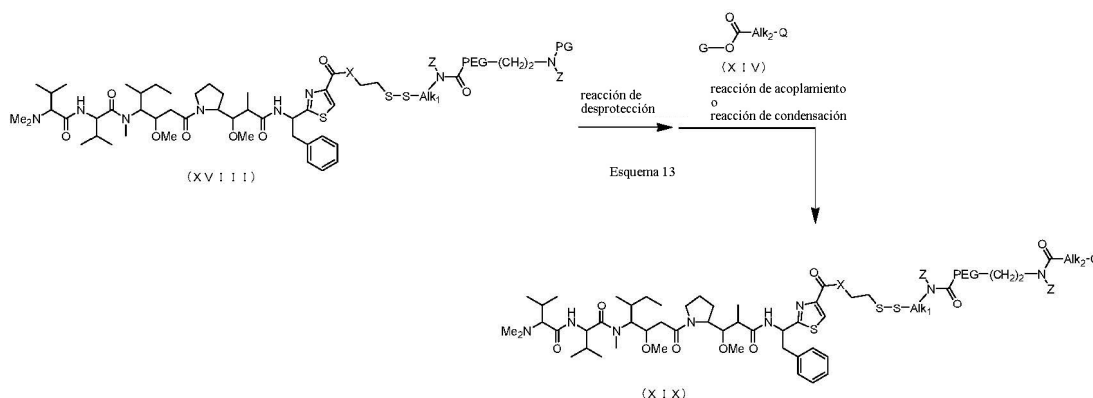
50 La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XII).

55 La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

60 El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

65 La concentración del derivado de ácido carboxílico (XII) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El profármaco (XIX) del derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, por desprotección del derivado de polietilenglicol protegido (XVIII) seguido de una reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con el derivado de ácido carboxílico (XIV) (en los casos donde G es succinimídilo o *p*-nitrofenilo) o mediante reacción de condensación con el derivado del ácido carboxílico (XIV) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno) como se muestra en el Esquema 13.



donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes.

La cantidad de derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de polietilenglicol protegido (XVIII).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropilamina.

La cantidad de la base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de polietilenglicol protegido (XVIII).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; clorformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

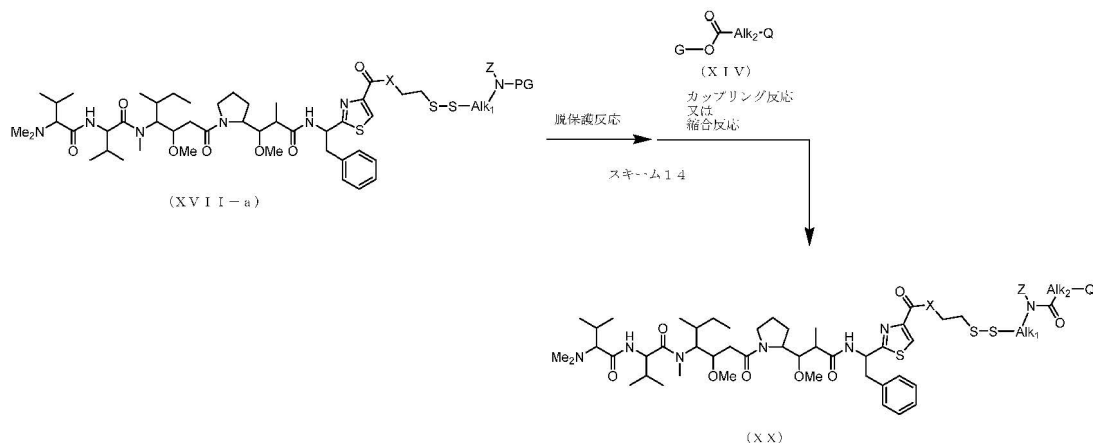
La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

El profármaco (XX) del derivado peptídico (I) puede obtenerse, por ejemplo, mediante desprotección del derivado de disulfuro (XVII-a) seguido de reacción de acoplamiento en condiciones básicas a neutras con el derivado de ácido carboxílico (XIV) (en casos donde G es succinimidilo o p-nitrofenilo) o mediante reacción de condensación con el derivado del ácido carboxílico (XIV) (en los casos en los que G es un átomo de hidrógeno) como se muestra en el Esquema 14.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

La cantidad de derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento o la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,5 a 4 equivalentes, del derivado de disulfuro (XVII-a).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento puede realizarse mediante una base. Los ejemplos de la base para su uso incluyen bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina; bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; compuestos de hidruro metálico como hidruro de sodio, hidruro de potasio o hidruro de calcio; alquil litio como metil litio o butil litio; amida de litio como hexametildisilazida de litio o diisopropilamida de litio; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases inorgánicas como hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; o bases orgánicas como trietilamina o diisopropiletilamina.

La cantidad de base para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 0,001 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 0,001 a 4 equivalentes, del derivado de disulfuro (XVII-a).

El ajuste del pH de la reacción de acoplamiento también puede realizarse mediante un tampón. Los ejemplos del tampón para su uso incluyen tampones de fosfato, tampones de citrato, tampones de ácido cítrico-fosfato, tampones de ácido bórico, tampones de tartrato o tampones Tris, y preferiblemente incluyen tampones de pH 7,0 a 8,0.

La concentración del tampón para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 10 mmol/l a 1 mol/l.

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes apróticos polares como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; agua; o solventes mixtos de los mismos.

La temperatura de reacción de la reacción de acoplamiento es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de acoplamiento se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de acoplamiento es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Los ejemplos de un reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; cloroformiato de etilo, cloruro de oxalilo, hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de 1*H*-benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio, o anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico, y preferiblemente incluyen carbodiimidas como dicitlohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio.

La cantidad de reactivo de condensación para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 0,3 a 30 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

Un solvente de reacción para su uso en la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo del tipo de reactivos a usar, pero no está particularmente limitado siempre que no se inhiba la reacción. Los ejemplos del solvente de reacción incluyen solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido; solventes a base de éter como éter dietílico, tetrahidrofurano, dimetoxietano o 1,4-dioxano; solventes a base de éster como acetato de etilo o acetato de propilo; solventes a base de cloro como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; solventes a base de nitrilo como acetonitrilo o propionitrilo; o solventes mixtos de los mismos, y preferiblemente incluyen solventes a base de cloro

como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; o solventes polares apróticos como *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, *N*-metil-2-pirrolidona o dimetilsulfóxido.

La reacción de condensación puede realizarse opcionalmente con una base. Los ejemplos de la base a usar incluyen bases inorgánicas como hidruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio o carbonato de potasio; bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen bases orgánicas como trietilamina, diisopropiletilamina, 4-dimetilaminopiridina o piridina; o mezclas de los mismos.

La cantidad de base para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 0,5 a 20 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, del derivado de ácido carboxílico (XIV).

La temperatura de reacción de la reacción de condensación es preferiblemente de -40° C a 200° C, más preferiblemente de -20° C a 150° C.

El tiempo de reacción de la reacción de condensación se selecciona apropiadamente dependiendo de las condiciones como la temperatura de reacción, y es preferiblemente de 30 minutos a 30 horas.

La concentración del derivado de ácido carboxílico (XIV) para su uso en la reacción de condensación es preferiblemente de 1 mmol/l a 1 mol/l al comienzo de la reacción.

Además, el conjugado de la presente invención incluye característicamente el derivado peptídico (I) y un ligando de direccionamiento o un polímero.

El término "ligando de direccionamiento" significa una sustancia para transportar un compuesto fisiológicamente activo que contiene el derivado peptídico (I) a una célula específica. Los ejemplos del ligando de direccionamiento incluyen proteínas de unión a antígeno, citoquinas o ligandos de moléculas pequeñas.

El término "proteína de unión a antígeno" significa una proteína con una propiedad de unión a una proteína específica que está presente en la superficie celular. Los ejemplos de proteína de unión a antígeno incluyen, pero no se limitan a, moléculas de inmunoglobulina, anticuerpos de cadena sencilla, scFv, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), diacuerpos, tricuerpos, aficuerpos, aflinas, anticalinas, atrímeros, avimeros, péptidos bicíclicos Cys-knots, DARPs, FN3s, Finomeros, dominios de Kunitz u Ocueros.

El término "citoquina" significa interleucina, quimiocina, interferón, un factor de crecimiento celular, un factor citotóxico, una proteína modificada de los mismos o similares. Los ejemplos de citoquinas incluyen, pero no se limitan a, interleucina-2, proteínas de fusión de interleucina-2, interleucina-3, interleucina-4, interleucina-6, interleucina-8, interleucina-12, interleucina-17, CCL1 a CCL28, CXCL1 a CXCL17, XCL1, XCL2, CX3CL1, interferón- α , interferón- β , interferón- γ , interferón- ω , interferón- τ , interferones de consenso, factores estimulantes de colonias de granulocitos (G-CSF), factores estimulantes de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), ligandos de CD-40, hormonas liberadoras de hormona luteinizante (LHRH), factores de crecimiento similares a la insulina (IGF), factores estimulantes de colonias de macrófagos (M-CSF), factores de crecimiento nervioso (NGF), factores de crecimiento derivados de plaquetas, factores de crecimiento tisular, factor de crecimiento transformante β , factores de crecimiento de células endoteliales vasculares, factores inhibidores de la leucemia, factores de crecimiento de queratinocitos (KGF), factores de crecimiento gliales (GGF), factores de necrosis tumoral (TNF), proteína 1 quimioatrayente de monocitos o factores de crecimiento de células endoteliales.

El término "ligando de peso molecular pequeño" significa un compuesto orgánico o derivado peptídico con una propiedad de unión a la proteína especificada que está presente en la superficie celular y que tiene un peso molecular de menos de 1000. Los ejemplos del ligando de peso molecular pequeño incluyen, pero son sin limitación, biotinas, ácidos fólicos, inhibidores de integrinas, cRGD, RGD, inhibidores de PSMA o inhibidores de VEGF.

El término "polímero" significa un compuesto orgánico de alto peso molecular que está constituido por una cierta estructura repetitiva y tiene un peso molecular medio numérico de 1000 a 1000000. Los ejemplos del polímero incluyen polietilenglicoles, ácidos poliglutámicos, poliaminoácidos o polisacáridos, y preferiblemente incluyen polietilenglicoles o ácidos poliglutámicos, y más preferiblemente incluyen polietilenglicoles con un peso molecular medio en número de 20000 a 100000 o ácidos poliglutámicos con un peso molecular medio en número de 20000 a 100000.

La proteína de unión a antígeno, la citoquina y el derivado peptídico anterior también incluyen, por ejemplo, compuestos de los mismos sintetizados químicamente, recombinantes de los mismos, productos naturales de los mismos, formas glicosiladas o no glicosiladas de los mismos, formas en las que se introducen en los mismos aminoácidos no naturales, formas en las que se introducen grupos funcionales (por ejemplo, grupo aldehído o grupo sulfhidrilo) en los mismos mediante reacciones químicas como oxidación o reducción o mediante reacciones enzimáticas, y fragmentos bioactivos de los mismos.

El término "aminoácido no natural" significa un aminoácido que está presente en el natural y no está incluido en los aminoácidos que constituyen las proteínas (aminoácidos naturales), en el que el aminoácido no natural significa un aminoácido que está presente en el natural o es producido por síntesis química, es decir, un aminoácido que está presente en el natural y es un aminoácido que no constituye proteínas; un aminoácido en el que se modifica químicamente un aminoácido natural; un aminoácido que no está incluido en los aminoácidos naturales, que se produce mediante síntesis química; o similares. Los ejemplos específicos del aminoácido no natural incluyen, pero no se limitan a, D-aminoácidos, citrulina, ornitina, ácido (S)-2-amino-3-(3-metil-3H-diazirin-3-il)propanoico (también denominado Foto-L-Leucina), ácido (S)-2-amino-4-(3-metil-3H-diazirin-3-il)butanoico (también denominado Foto-L-Metionina), ácido (S)-3-(4-acetilfenil)-2-aminopropanoico (también denominado 4-acetil-L-fenilalanina), o ácido (S)-2-amino-3-(4-azidofenil)propanoico (también denominado 4-azido-L-fenilalanina).

El ligando de pequeño peso molecular anterior incluye, según sea apropiado, análogos del mismo, derivados del mismo, agonistas del mismo, antagonistas del mismo, inhibidores del mismo o isómeros del mismo.

El término "conjugado" significa una sustancia que contiene el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, y el ligando de direccionamiento; una sustancia que contiene el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, y el polímero; o una sustancia que contiene el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, y el ligando de direccionamiento y el polímero (en lo sucesivo, denominados colectivamente el conjugado que incluye el derivado peptídico (I)), cada uno de los cuales está directamente unido entre sí, o unido indirectamente a través de otras sustancias (en lo sucesivo, conectores).

Los ejemplos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen conjugados de anticuerpo-fármaco en los que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo y la molécula de inmunoglobulina están unidos directamente o están unidos indirectamente a través del conector.

Además, los ejemplos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen conjugados de molécula pequeña-fármaco en los que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, y el ligando de molécula pequeña se unen directamente o indirectamente a través del conector.

Además, los ejemplos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen conjugados de polímero-fármaco en los que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, y el polímero se unen directa o indirectamente a través del conector.

Además, los ejemplos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen sustancias en las que el polímero y el ligando de direccionamiento están, independientemente entre sí, unidos directamente o unidos indirectamente a través del conector al derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo.

Además, los ejemplos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen sustancias en las que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo y el ligando de direccionamiento están, independientemente entre sí, unidos directamente o unidos indirectamente a través del conector al polímero.

Además, los ejemplos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen sustancias en las que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo y el polímero están, independientemente uno del otro, unidos directamente o unidos indirectamente a través del conector al ligando de direccionamiento.

El término "que incluye el derivado peptídico (I)" significa que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo se une directamente mediante enlaces covalentes o se une indirectamente a través del conector al ligando de direccionamiento y/o al polímero, de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Ellen M. Sletten et al., *Angewante Chimie International Edition*, (2009); 48: págs 6974-6998; Greg T. Hermanson, "Bioconjugate Technique", Elsevier; Xi Chem et al., *Organic & Biomolecular Chemistry*, (2016); 14: págs. 5417-5439) o métodos equivalentes a los mismos. Los ejemplos específicos de tales enlaces covalentes incluyen, pero no se limitan a, enlaces por adición de un grupo sulfhidrilo a un grupo maleimida; enlaces disulfuro; enlaces por condensación de un grupo amino o un grupo hidroxilo y un grupo carboxilo; enlaces por reacción de clic de un grupo alquino y un grupo azida; enlaces por condensación de un grupo amino y un grupo carbonilo; o enlaces por reacción de tipo eno de un grupo diazo y un grupo fenol, y preferiblemente incluyen enlaces por adición de un grupo sulfhidrilo a un grupo maleimida; enlaces disulfuro; enlaces por condensación de un grupo amino o un grupo hidroxilo y un grupo carboxilo; o se une por condensación de un grupo amino y un grupo carbonilo.

El término "conector" significa una estructura que se obtiene mediante reacciones entre el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, el ligando de direccionamiento y el polímero, y un compuesto que tiene uno o más grupos funcionales (por ejemplo, maleimida, carboxilo, carboxilo activado, carbonilo, amino, hidrazida, diazo, alquino o hidroxilo). Los ejemplos de un compuesto de este tipo que tiene el grupo o grupos funcionales incluyen, pero no se limitan a, *N*-succinimidil 4-(maleimidometil)ciclohexanocarboxilato (SMCC), sulfosuccinimidil-4-(*N*-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato (Sulfo-SMCC), *N*-succinimidil-4-(*N*-maleimidometil)-ciclohexano-1-

carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), éster *N*-succinimidílico del ácido κ -maleimidoundecanoico (KMUA), éster *N*-succinimidílico del ácido γ -maleimidobutírico (GMBS), éster de *N*-hidroxisuccinimida del ácido ϵ -maleimidocaproico (EMCS), éster de *m*-maleimidobenzoil-*N*-hidroxisuccinimida (MBS), éster de *N*-(α -maleimidoacetoxi)-succinimida (AMAS), succinimidil-6-(β -maleimidopropionamido)hexanoato (SMPH), *N*-succinimidil 4-(*p*-maleimidofenil)-butirato (SMPB) y *N*-(*p*-maleimidofenil)isocianato (PMPI), *N*-succinimidil 4(2-piridiltio)pentanoato (SPP), *N*-succinimidil(4-yodo-acetil)aminobenzoato (SIAB), 6-maleimidocaproilo (MC), maleimidopropanoilo (MP), *p*-aminobenciloxycarbonilo (PAB) y *N*-4(2-piridiltio)butanoato de succinimidilo (SPDB). Además, los conectores indicados anteriormente pueden usarse apropiadamente en combinación.

El término "proteína especificada que está presente en la superficie celular" significa una proteína que aumenta la expresión en la superficie celular en cánceres, enfermedades autoinmunes o enfermedades infecciosas. Los ejemplos de la proteína especificada que está presente en la superficie celular incluyen, pero no se limitan a, CD19, CD22, CD30, CD33, CD37, CD56, CD66e, CD70, CD74, CD79b, DLL-3, PSMA, GPNMB, Her2, CA6, CA9, mesotelina, nectina-4, SLC44A4, Cripto, receptores de folato, STEAP-1, MUC16, NaPi2b, GCC, EGFRviii, 5T4, TROP-2, LIV-1, SLITRK6, factores tisulares, guanilil ciclasa C, CEACAM5, receptores de integrina, receptores de interleucina, PSMA, receptores de quimiocinas, receptores de interferones, receptores de factor de crecimiento celular o receptores de factor citotóxico.

Los ejemplos de la sal farmacéuticamente aceptable del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluyen las mismas sales que las sales farmacéuticamente aceptables del derivado peptídico (I) anterior.

El conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser un anhídrido o puede haber formado un solvato como un hidrato. El solvato de la presente es preferiblemente un solvato farmacéuticamente aceptable. El solvato farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier hidrato o no hidrato, pero preferiblemente es un hidrato. Los ejemplos del solvente que constituye el solvato incluyen solventes a base de alcohol como metanol, etanol o *n*-propanol; *N,N*-dimetilformamida; dimetilsulfóxido; o agua

En la Tabla 4 se indican los ejemplos específicos del conjugado que incluye el derivado peptídico (I).

[Tabla 4]

Número	Fórmula Estructural
1	
2	
3	
4	
5	
6	

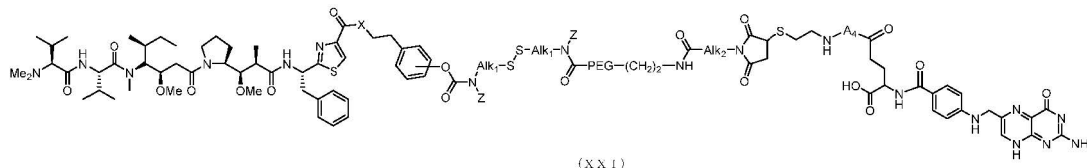
(continuación)

Número	Fórmula Estructural
7	
8	
9	

Los compuestos descritos en la Tabla 4 también incluyen las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En la Tabla 4, r representa un número entero de 1 a 50, L representa un ligando de direccionamiento, un polímero o un polímero y un ligando de direccionamiento, y los demás símbolos son los mismos que en la definición anterior.

Un ejemplo preferido del conjugado descrito como Número 6 en la Tabla 4 está representado por la Fórmula (XXI) a continuación, pero la presente invención no se limita al mismo.

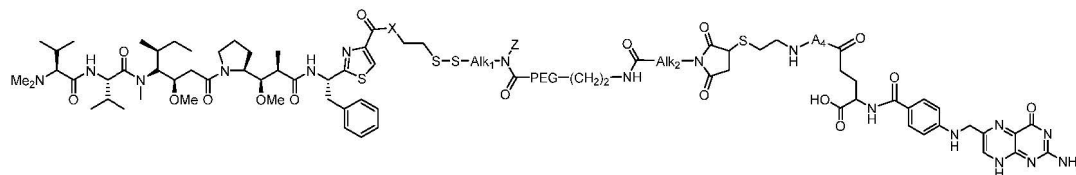


en donde A₄ representa un aminoácido, y los otros símbolos son los mismos que en la definición anterior.

El lado izquierdo de A₄ (un lado que se une a un grupo amino) es un extremo terminal carbonilo, y el lado derecho de A₄ (el otro lado que se une a un grupo carbonilo) es un extremo terminal amino. Además, cuando A₄ es Lys, Glu y Asp, A₄ puede unirse al conjugado mediante el grupo amino o carboxilo de la cadena lateral del mismo.

En el conjugado representado por la Fórmula (XXI) anterior, se prefieren más aquellos en los que X es NR, Alk₁ es -(CH₂)₂-, PEG es -(CH₂CH₂O)₁₂-, y A₄ es Glu que se une usando la cadena principal del mismo, y se prefieren aún más aquellos en los que X es NR, R y Z son metilo, Alk₁ y Alk₂ son -(CH₂)₂-, PEG es -(CH₂CH₂O)₁₂-, y A₄ es Glu que se une usando la cadena principal del mismo.

Un ejemplo preferido del conjugado descrito como Número 8 en la Tabla 4 está representado por la Fórmula (XXII) a continuación.



en donde cada símbolo es igual que en la definición anterior.

En el conjugado representado por la Fórmula (XXII) anterior, se prefieren más aquellos en los que X es N(Me), Alk₁ es -(CH₂)₂-, PEG es -(CH₂CH₂O)₁₂-, y A₄ es Glu que se une usando la cadena principal del mismo, y se prefieren aún más aquellos en los que X es N(Me), Z es metilo, Alk₁ y Alk₂ son -(CH₂)₂-, PEG es -(CH₂CH₂O)₁₂-, y A₄

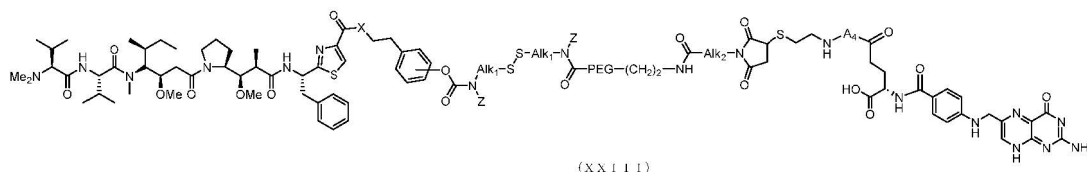
es Glu que se une usando la cadena principal del mismo.

El conjugado que incluye el derivado peptídico (I) puede producirse mediante un método apropiado basado en su estructura básica y características derivadas de los tipos de sustituyentes. Además, los materiales de partida y los reactivos usados para la producción de estos compuestos generalmente están disponibles comercialmente o pueden producirse mediante métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos.

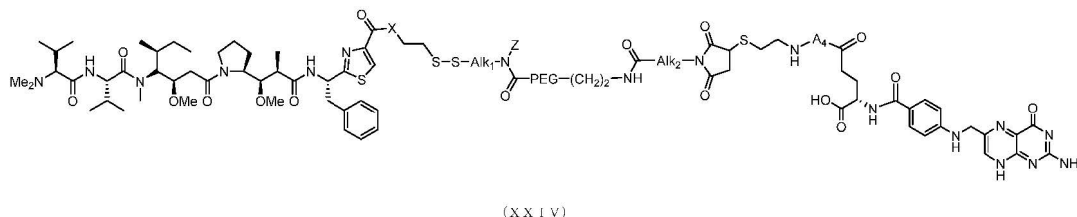
El conjugado que incluye el derivado peptídico (I), así como los productos intermedios y materiales de partida para su uso en la producción del derivado, puede aislarse y purificarse mediante procedimientos conocidos. Los ejemplos de los procedimientos conocidos para el aislamiento y la purificación incluyen la extracción con solvente, la recristalización o la cromatografía.

Si el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) incluye isómeros ópticos o estereoisómeros, cada isómero puede obtenerse como un único compuesto mediante métodos conocidos. Los ejemplos de los métodos conocidos incluyen cristalización, resolución enzimática o cromatografía quiral.

La configuración del conjugado representado por la fórmula (XXI) anterior es preferiblemente la Fórmula (XXIII) siguiente:



La configuración del conjugado representado por la Fórmula (XXII) anterior es preferiblemente la Fórmula (XXIV) siguiente:



En el método de producción que se describe a continuación, si cualquier compuesto de materia prima tiene un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo sulfhidrilo o un grupo carboxilo, puede introducirse un grupo protector en cada uno de estos grupos y puede obtenerse el compuesto deseado eliminando el grupo protector según sea necesario después de la reacción.

Los ejemplos del grupo protector para el grupo hidroxilo incluyen el grupo tritilo, el grupo tetrahidropirano, el grupo aralquilo C₇-C₁₀ (por ejemplo, el grupo bencilo) o el grupo sililo sustituido (por ejemplo, el grupo trimetilsililo, el grupo trietilsililo o el grupo *tert*-butildimetilsililo).

Los ejemplos del grupo protector para el grupo amino incluyen un grupo alquilcarbonilo que tiene un grupo alquilcarbonilo C₂-C₆ (por ejemplo, acetilo), un grupo benzóilo, un grupo alquiloxicarbonilo C₂-C₈ (por ejemplo, un grupo terc-butoxicarbonilo o un grupo benciloxicarbonilo), grupo aralquilo C₇-C₁₀ (por ejemplo, grupo bencilo), o grupo ftaloilo.

Los ejemplos del grupo protector para el grupo sulfhidrido incluyen el grupo tritilo, el grupo 2-mercaptopiridilo o el grupo 2-mercapto-5-nitropiridilo.

Los ejemplos del grupo protector para el grupo carboxilo incluyen un grupo alquilo C₁-C₆ (por ejemplo, un grupo metilo, un grupo etilo o un grupo terc-butilo) o un grupo aralquilo C₇-C₁₀ (por ejemplo, un grupo bencilo).

Los grupos protectores se eliminan de diferentes maneras dependiendo del tipo de grupos protectores, pero la desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos (por ejemplo, Greene, T.W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis". Wiley-Interscience) o métodos equivalentes a los mismos.

El conjugado que incluye el derivado peptídico (I) puede obtenerse mediante conjugación, directa o indirectamente a través del conector, del derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, o sales del mismo, y el ligando de direccionamiento y/o el polímero anterior o sales del mismo de acuerdo con métodos conocidos (por

ejemplo, Ellen M. Sletten et al., *Angewante Chimie International Edition*, (2009); 48: pp. 6974-6998; Greg T. Hermanson., "Bioconjugate Technique", Elsevier; Xi Chem et al., *Organic & Biomolecular Chemistry*, (2016); 14: pp. 5417-5439) o métodos equivalentes a los mismos.

5 El conjugado que incluye el derivado peptídico (I) puede marcarse con un isótopo, y los ejemplos del isótopo usado para marcar incluyen ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O y/r ^{125}I .

10 Los ejemplos de las sales del derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, o el ligando de direccionamiento o el polímero usado para la conjugación incluyen sales de ácidos inorgánicos como clorhidrato, sulfato, nitrato, bromhidrato, yodhidrato o fosfato; sales de ácidos orgánicos como oxalato, malonato, citrato, fumarato, lactato, malato, succinato, tartrato, acetato, trifluoroacetato, maleato, gluconato, benzoato, ascorbato, glutarato, mandelato, ftalato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, canforsulfonato, aspartato, glutamato o cinamato; sales con bases orgánicas como sal de trietilamina, sal de diisopropiletilamina, sal de etanolamina, sal de morfina, sal de piperidina o sal de dicitohexilamina; sales con aminoácidos básicos como arginina o lisina; o sales con bases inorgánicas como la sal de litio, sal de calcio, sal de potasio, sal de sodio, sal de amonio, sal de aluminio o sal de zinc.

20 Las sales del derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo, o el ligando de direccionamiento o polímero pueden ser un anhidrato o pueden haber formado un solvato como un hidrato. Los ejemplos del solvente que constituye el solvato incluyen solventes a base de alcohol como metanol, etanol o *n*-propanol; *N,N*-dimetilformamida, dimetilsulfóxido o agua.

25 Además, el agente citotóxico de la presente invención incluye característicamente como ingrediente activo, el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 El término "agente citotóxico" significa un compuesto que provoca la muerte celular alterando la función celular o inhibiendo el crecimiento celular, o una composición que contiene como ingrediente activo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 Además, el término "agente citotóxico" también incluye una composición que contiene como ingrediente activo, un conjugado que incluye un compuesto que provoca la muerte celular alterando la función celular o inhibiendo el crecimiento celular, o un profármaco del mismo, y el ligando de direccionamiento o polímero anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 Cuando se administra a mamíferos (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres, conejos, gatos, perros, monos, bovinos, ovejas o humanos), en particular a humanos, el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede usarse como un agente citotóxico útil.

45 El derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede usarse solo o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable y administrarse por vía oral o parenteral a los mamíferos anteriores como agente citotóxico.

Los ejemplos de "administración parenteral" incluyen inyecciones, administraciones transnasales, pulmonares, dérmicas, sublinguales o rectales, y preferiblemente incluyen inyecciones.

50 El término "inyección" significa que el agente citotóxico se administra sistémica o localmente mediante inyección o infusión por goteo. Los ejemplos de sitios de administración incluyen sitios intravenosos, sitios intramusculares, sitios intraperitoneales y sitios subcutáneos.

55 El agente citotóxico en el que el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es un ingrediente activo puede producirse mediante métodos conocidos comúnmente usados en la técnica de fabricación farmacéutica (por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science, última edición, Mark Publishing Company, Easton, U.S.A). Además, el agente citotóxico de la presente invención puede contener, según sea apropiado, aditivos en cantidades moderadas como rellenos, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, edulcorantes, surfactantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, colorantes, conservantes, agentes aromatizantes, correctores, estabilizadores, agentes espesantes, agentes de tamponamiento, agentes isotónicos, deslizantes, que se usan comúnmente en la técnica de la fabricación farmacéutica. Los ejemplos del vehículo farmacéuticamente aceptable incluyen estos aditivos.

65 El agente citotóxico en el que el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es un

ingrediente activo, puede utilizarse como agente terapéutico contra enfermedades, por ejemplo, cáncer, enfermedades autoinmunes o enfermedades infecciosas con las que se espera una mejora del estado clínico o una mejora de los síntomas de las enfermedades basándose en el mecanismo de acción correspondiente.

El término "cáncer" significa la enfermedad provocada por poblaciones de células que proliferan de manera anormal y descontrolada. Los ejemplos de cáncer incluyen cáncer de faringe, cáncer de laringe, cáncer de lengua, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de útero, cáncer de endometrio, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de riñón, cáncer de pelvis renal y de uréter, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, melanoma maligno, cáncer de tiroides, sarcoma neurogénico u osteogénico, condrosarcoma, rabdomiosarcoma, angiosarcoma, fibrosarcoma, glioma, leucemia o linfoma maligno, neuroblastoma, mieloma o tumor cerebral.

El término "enfermedad autoinmune" significa una enfermedad que es provocada por una respuesta inmunitaria anormal a sustancias en organismos vivos o células. Los ejemplos de enfermedades autoinmunes incluyen hepatitis crónica activa, enfermedad de Addison, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, artritis, alergia atópica, enfermedad de Behçet, cardiomiopatía, enfermedad celíaca, síndrome de Cogan, enfermedad de aglutinina fría, enfermedad de Crohn, síndrome de Cushing, dermatomiositis, lupus eritematoso discoide, eritema, fibromialgia, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de injerto contra huésped, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Hashimoto, atrofia suprarrenal idiopática, pulmón fibroide idiopático, nefropatía IgA, enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes mellitus insulín dependiente, artritis juvenil, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, liquen plano, hepatitis lupoides, lupus, linfopenia, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, esclerosis múltiple, miastenia grave, anemia perniciosa, síndrome de deficiencia poliendocrina, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, reumatismo articular, Síndrome de Schmidt, enfermedad de Hirschsprung, síndrome de Sjögren, síndrome de la persona rígida, oftalmía simpática, lupus eritematoso sistémico, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, hipertiroidismo, resistencia a la insulina tipo B, diabetes mellitus tipo I, colitis ulcerosa, uveítis, leucoderma o granulomatosis de Wegener.

El término "enfermedad infecciosa" significa una enfermedad provocada por una infección con bacterias, hongos, protozoos patógenos, levaduras, virus o similares. Ejemplos de causas de enfermedades infecciosas incluyen *Staphylococci*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Branhamella*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Brucella*, *Legionella*, *Veillonella*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Mycoplasma*, *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Mucor*, *Sporotrichum*, dermatophyte, *Plasmodium*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Pneumocystis carinii*, *Echinococcus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium tetani*, adenovirus, herpesvirus, papilomavirus, virus del SIDA, filovirus, virus de la encefalitis japonesa, virus de la rabia, poliovirus, rinovirus, virus de la gripe, virus de la hepatitis B o virus de la hepatitis C.

La citotoxicidad del derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o el conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede evaluarse con un estudio *in vitro*. Los ejemplos de los estudios *in vitro* incluyen el método de exclusión con colorante azul tripano, el ensayo de actividad de lactato deshidrogenasa (LDH), el método de incorporación de [³H] timidina o la tinción nuclear con yoduro de propidio que mide el número de células muertas o células supervivientes después del tratamiento con el compuesto; un método que usa colorantes como MTT, MTS y WST (Current Protocol in Toxicology, (2000), 2.6.1-2.6.27); o un método en el que la cantidad de ATP se mide usando CellTiter-Glow (Promega Corporation), y similares, y preferiblemente incluyen el método en el que se mide el número de células supervivientes después del tratamiento con el compuesto usando el método MTS para determinar valores de la citotoxicidad en ese momento a partir del 50% de efecto-concentración (EC₅₀). Además, en la evaluación de la citotoxicidad del conjugado que incluye el derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el método preferido es aquel en el que, durante un cierto tiempo, las células se tratan con un medio que contiene el compuesto, luego las células se transfieren a un medio que no contiene el compuesto, y el número de células supervivientes se mide después del cultivo durante cierto tiempo adicional (Bioconjugate Chemistry, 2014; 25: pp.560-568).. Para los estudios *in vitro*, se usan células de cáncer de ovario humano células SKOV-3, células de cáncer de glándula epitelial basal alveolar humano células A549, células de leucocitos linfocíticos de ratón L1210 y similares.

La permeabilidad de la membrana celular del derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede medirse con un método de evaluación *in vitro* de la permeabilidad de la membrana celular. Los ejemplos del método de evaluación *in vitro* para la permeabilidad de la membrana celular incluyen métodos que usan un sistema de membrana celular monocapa como Caco-2 o riñón canino Madin-Darby (MDCK), o ensayo de permeación de membrana artificial paralela (PAMPA) que usa una membrana lipídica artificial en la que los lípidos y

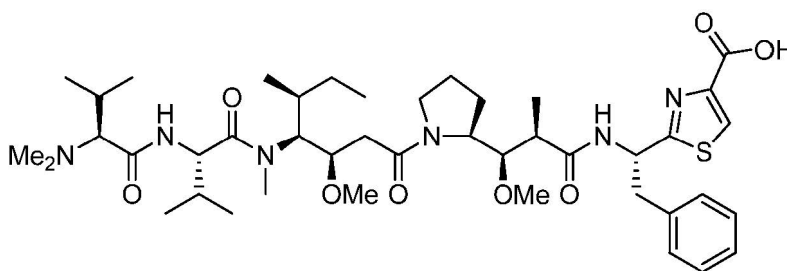
similares se mantienen en un filtro (JP2007-118003A). Más específicamente, los ejemplos del método de evaluación de la permeabilidad de la membrana celular del derivado peptídico (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo incluyen métodos en los que la cantidad de compuestos permeados desde un lado donante hasta un lado aceptor en el sistema de placas PAMPA prerrecubierto (Corning) se cuantifica y se determina mediante cálculo. La cantidad de compuestos permeados puede cuantificarse, por ejemplo, mediante un espectrómetro de masas de cromatografía líquida (en lo sucesivo, LC/MS), absorbancias o marcadores fluorescentes.

EJEMPLOS

La presente invención se describirá con más detalle a continuación por medio de Ejemplos y Ejemplos de Referencia.

Para cualquier compuesto cuyos métodos sintéticos no se describan en el contexto de la síntesis de los compuestos de los Ejemplos, se usaron compuestos comercialmente disponibles o sintetizados por métodos conocidos o métodos equivalentes a los mismos. Los nombres de los solventes indicados en los datos de NMR representan los solventes usados para las mediciones. La medición del espectro de NMR de 400 MHz se realizó usando el espectrómetro de resonancia magnética nuclear JNM-AL400 (JEOL Ltd.) o el espectrómetro de resonancia magnética nuclear JNM-ECS400 (JEOL Ltd.). Los desplazamientos químicos se referenciaron a tetrametilsilano y se expresaron en δ (unidad: ppm), mientras que la multiplicidad de cada señal se expresó como s (single), d (doblete), t (triple), q (cuarteto), m (multiplete), br (amplio), dd (doblete-doblete), dt (doblete-triplete), ddd (doblete-doblete-doblete), dq (doblete-cuarteto) o tt (triple-triplete). En los espectros de ^1H NMR, las señales que no pudieron confirmarse debido a sus picos amplios como un protón de OH o NH, no se describieron en los datos. Los pesos moleculares se midieron mediante el método de ionización por electropulverización (en lo sucesivo, ESI) usando el Agilent Technologies 1200 Series, 6130A (Agilent Technologies) (en lo sucesivo, LC/MS-1), o el Agilent Technologies 1260 Infinity II Series, 6130B (Agilent Technologies) (en lo sucesivo, LC/MS-2). La espectrometría de masas de alto rendimiento (HRMS) se realizó por ESI usando el espectrómetro de masas NexeraX2, LCMS-IT-TOF (SHIMADZU CORPORATION). Se midió un tiempo de retención (en lo sucesivo, t_R) mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (en lo sucesivo, HPLC). Todos los solventes usados estaban disponibles comercialmente. Para la purificación se usó YFLC W-prep2XY (YAMAZEN CORPORATION); para la cromatografía en columna de gel de sílice, se usó gel de sílice en columna Hi-Flash (YAMAZEN CORPORATION); para la cromatografía en columna de gel de sílice de amina, se usó columna Hi-Flash amino (YAMAZEN CORPORATION); y para la columna ODS, se usó el estándar de octadecil C_{18} de columna Hi-Flash (YAMAZEN CORPORATION). Las condiciones analíticas para LC/MS-1, LC/MS-2 y HPLC y las condiciones de purificación para la columna ODS se describirán en una parte posterior. En la descripción de los Ejemplos y los Ejemplos de Referencia, se usan las siguientes abreviaturas: Trt: grupo trifenilmetilo; Boc: grupo terc-butoxicarbonilo; THP: grupo tetrahidropiraniolo.

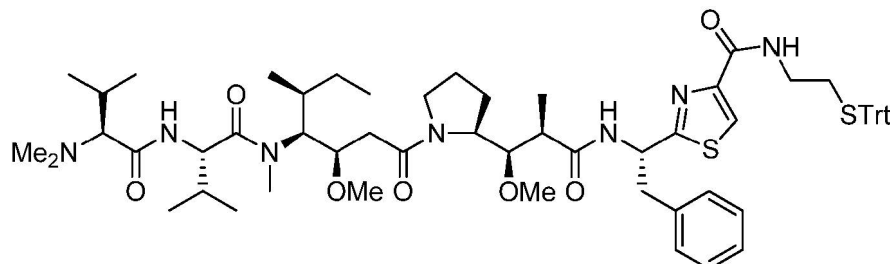
(Ejemplo de referencia 1) Síntesis de ácido 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxílico:



A una solución de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxilato de etilo (15 mg, 0,017 mmol) en etanol (1,0 ml), se le añadió hidróxido de sodio 1,0 N (19 μl , 0,019 mmol) y el resultante se agitó a temperatura ambiente durante tres horas. A la solución de reacción obtenida se le añadió ácido clorhídrico 1,0 N (19 μl), luego la mezcla se diluyó con agua y la solución obtenida se extrajo tres veces con cloroformo. Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentraron al vacío para obtener el compuesto del título (14 mg, 99% de rendimiento) (en lo sucesivo referido como el compuesto del Ejemplo de Referencia 1) como un sólido blanco.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.97 (1H, s), 7.70-7.42 (1H, m), 7.30-7.15 (5H, m), 7.13-7.09 (1H, m), 5.62-5.55 (1H, m), 4.87-4.67 (2H, m), 4.11-3.10 (7H, m), 3.32 (3H $\times$ 2, s), 3.04 (3H, s), 2.70-2.28 (4H, m), 2.53 (6H, s), 2.19-2.06 (2H, m), 1.98-1.55 (4H, m), 1.40-1.20 (1H, m), 1.18-0.69 (23H, m).
MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 829. (LC/MS-1)

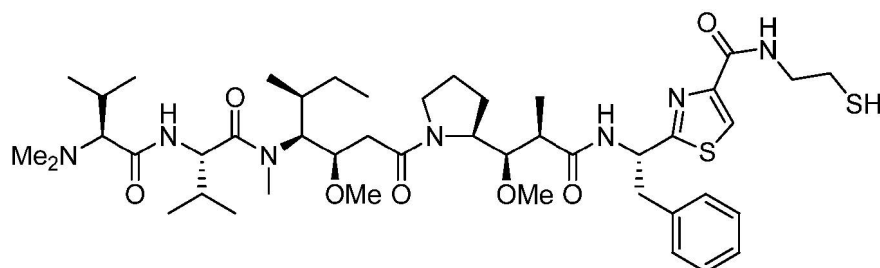
(Ejemplo de referencia 2) Síntesis de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(trilitio)etil)tiazol-4-carboxamida:



A una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 1 (25 mg, 0,030 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (en lo sucesivo, DMF) (0,5 ml), se le añadió una solución de hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (en lo sucesivo, HATU) (17 mg, 0,045 mmol) y 2-(trilitio)etanoamina (15 mg, 0,045 mmol) en DMF (0,50 ml), y diisopropiletilamina (13 μ l, 0,075 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. A la solución de la reacción obtenida, se le añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1 $\rightarrow$ 71/19) para obtener el compuesto del título (23 mg, 88% de rendimiento) (en lo sucesivo, el compuesto del Ejemplo de Referencia 2) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.92 (1H, s), 7.45-7.13 (20H, m), 6.89 (1H, d, *J*=9.1 Hz), 5.54-5.47 (1H, m), 4.87-4.73 (2H, m), 4.16-4.09 (1H, m), 4.08-4.03 (1H, m), 3.87 (1H, d, *J*=8.6 Hz), 3.46-3.18 (6H, m), 3.33 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.51 (2H, t, *J*=6.6 Hz), 2.45-2.30 (4H, m), 2.25 (6H, s), 2.10-1.90 (2H, m), 1.81-1.55 (4H, m), 1.27-1.19 (1H, m), 1.10 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.07-0.89 (17H, m), 0.81 (3H, t, *J*=7.5 Hz).
MS *m/z* (ESI) [*M*+*H*]⁺: 1130. (LC/MS-1)

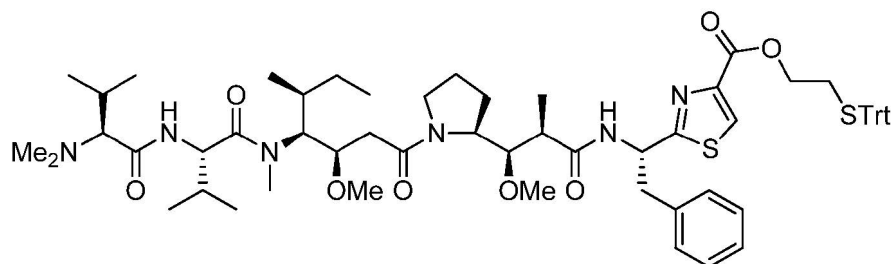
(Ejemplo 1) Síntesis de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(mercaptoetil)tiazol-4-carboxamida:



Al compuesto del Ejemplo de Referencia 2 (25 mg, 0,022 mmol), se le añadió una solución de ácido trifluoroacético (en lo sucesivo, TFA)/diclorometano (proporción de volumen 1:1) (4,5 ml) que contenía trietilsilano 0,02 M y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. El solvente de la solución de reacción obtenida se evaporó al vacío, se le añadió una solución acuosa saturada de carbonato de sodio y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1 $\rightarrow$ 1/9) para obtener el compuesto del título (18 mg, 92% de rendimiento) (en lo sucesivo, el compuesto del Ejemplo 1) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.97 (1H, s), 7.70 (1H, t, *J*=6.1 Hz), 7.49 (1H, brs), 7.29-7.12 (5H, m), 6.90 (1H, d, *J*=8.2 Hz), 5.54-5.48 (1H, m), 4.82-4.74 (2H, m), 4.14-4.03 (2H, m), 3.86 (1H, d, *J*=7.7 Hz), 3.63 (2H, q, *J*=6.5 Hz), 3.51-3.16 (4H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.04 (3H, s), 2.81-2.74 (2H, m), 2.48-2.33 (4H, m), 2.25 (6H, s), 2.11-1.92 (2H, m), 1.85-1.60 (4H, m), 1.46 (1H, t, *J*=8.6 Hz), 1.40-1.22 (1H, m), 1.10 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 1.05-0.90 (17H, m), 0.81 (3H, t, *J*=7.5 Hz).
MS *m/z* (ESI) [*M*+*H*]⁺: 888. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 3) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxilato de 2-(trilitio)etilo:

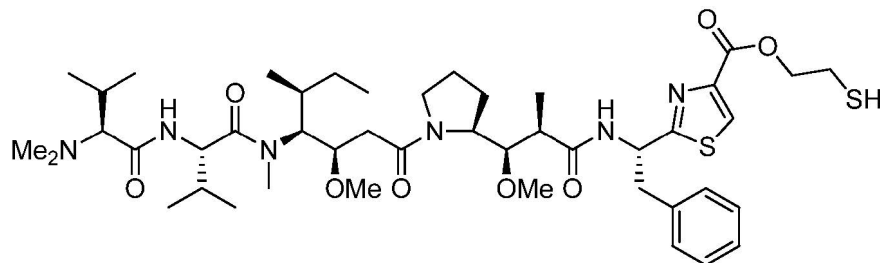


A una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 1 (39 mg, 0,047 mmol) en diclorometano (1,0 ml), se le añadió 4-dimetilaminopiridina (en lo sucesivo, DMAP) (1,2 mg, 9,4 μ mol), trietilamina (14 μ l, 0,10 mmol) y anhídrido de ácido 2-metil-6-nitrobenzoico (19 mg, 0,056 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, luego a la misma se le añadió 2-(trilitio)etanol (18 mg, 0,056 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. A la solución de reacción obtenida se le añadió agua y la mezcla se extrajo tres veces con cloroformo. Las capas orgánicas se deshidrataron sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1 $\rightarrow$ 2/25) para obtener el compuesto del título (49 mg, 92% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 3) como un sólido blanco.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (1H, s), 7.44-7.40 (6H, m), 7.37 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.30-7.10 (14H, m), 6.90 (1H, d, $J=9.6$ Hz), 5.55-5.46 (1H, m), 4.79 (2H, t, $J=48.0$ Hz), 4.15-4.07 (1H, m), 4.11 (2H, t, $J=6.9$ Hz), 4.05-4.00 (1H, m), 3.87 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 3.80-3.15 (4H, m), 3.32 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.02 (3H, s), 2.61 (2H, t, $J=6.9$ Hz), 2.45-2.28 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.12-1.96 (2H, m), 1.90-1.50 (4H, m), 1.40-1.30 (1H, m), 1.09 (3H, d, $J=6.9$ Hz), 1.03-0.89 (17H, m), 0.81 (3H, t, $J=7.3$ Hz).

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1131. (LC/MS-1)

(Ejemplo Ilustrativo 2¹) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxilato de 2-mercaptoetilo:



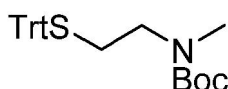
¹Los "Ejemplos Ilustrativos" están fuera del alcance de la invención

La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo 1, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 3 en lugar del compuesto del Ejemplo de Referencia 2, para obtener el compuesto del título (32 mg, 83% de rendimiento) (en lo sucesivo, denominado como el compuesto del Ejemplo Ilustrativo 2) como un sólido blanco.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.07 (1H, s), 7.41 (1H, brs), 7.30-7.11 (5H, m), 6.90 (1H, d, $J=9.1$ Hz), 5.55-5.49 (1H, m), 4.83-4.74 (2H, m), 4.47 (2H, t, $J=6.9$ Hz), 4.13-3.11 (7H, m), 3.32 (6H, s), 3.03 (3H, s), 2.88 (2H, t, $J=6.9$ Hz), 2.47-2.28 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.11-1.98 (2H, m), 1.98-1.55 (4H, m), 1.41-1.30 (1H, m), 1.10 (3H, d, $J=6.9$ Hz), 1.05-0.91 (17H, m), 0.81 (3H, t, $J=7.3$ Hz).

MS m/z (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$: 889. (LC/MS-1)

(Ejemplo de referencia 4) Síntesis de metil(2-(trilitio)etil)carbamato de *tert*-butilo:



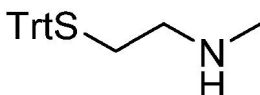
Se enfrió en hielo una solución de (2-(trilitio)etil) carbamato de *tert*-butilo (550 mg, 1,3 mmol) en DMF (10 ml) y se añadió a la misma hidruro de sodio (dispersión al 55% en peso en aceite mineral) (63 mg, 1,4 mmol) en varias partes. Después de agitar durante 15 minutos, se añadió yoduro de metilo (0,087 ml, 1,4 mmol) y la mezcla se

agitó durante la noche mientras se dejaba alcanzar la temperatura ambiente. Después de añadir una cantidad en exceso de acetato de etilo, la mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, la solución resultante se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano/acetato de etilo = 1/0→4/1) para obtener el compuesto del título (420 mg, 96% de rendimiento) (en lo sucesivo, denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 4) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.42 (d, J=8.2 Hz, 6H), 7.29 (t, J=7.5 Hz, 6H), 7.21 (t, J=7.3 Hz, 3H), 3.03 (t, J=7.5 Hz, 2H), 2.60 (brs, 3H), 2.33 (brs, 2H), 1.40 (s, 9H).

MS m/z (ESI) [M+Na]⁺: 456. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 5) Síntesis de *N*-metil-2-(trilitio)etan-1-amina:

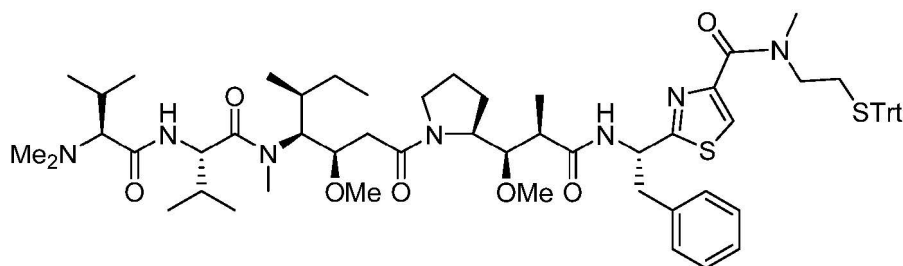


A una solución del Ejemplo de Referencia 4 (150 mg, 0,35 mmol) en diclorometano (4,0 ml), se le añadió cloruro de hidrógeno 4 N-dioxano (3,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante cuatro horas. A la solución de la reacción se le añadió una cantidad en exceso de diclorometano que contenía un 5% en volumen de metanol, se le añadió una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio y la solución resultante se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El compuesto del título (15 mg, 40% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 5) se obtuvo como una sustancia oleosa. La sustancia oleosa obtenida se usó para la siguiente reacción sin purificación.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.44 (dd, J=10.7, 4.8 Hz, 6H), 7.32-7.26 (m, 6H), 7.24-7.19 (m, 3H), 3.71 (t, J=1.8 Hz, 1H), 3.07 (t, J=2.3 Hz, 1H), 2.51 (t, J=6.6 Hz, 1H), 2.36 (dd, J=11.2, 4.8 Hz, 1H), 2.29 (t, J=1.8 Hz, 3H), 1.50 (s, 2H).

MS m/z (ESI) [Trt]⁺: 243. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 6) Síntesis de 2-((*S*)-1-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-*N*-metil-*N*-(2-(trilitio)etil)tiazol-4-carboxamida:

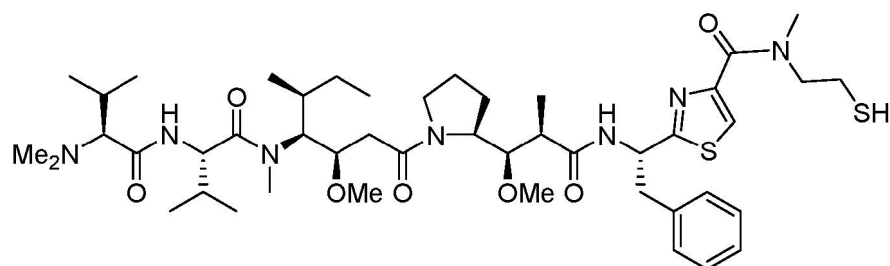


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 5 en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (45 mg, 85% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 6) como un amorfo blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.84 (1H, s), 7.82-7.76 (1H, m), 7.30-7.00 (5H, m), 6.92 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.56-5.48 (1H, m), 5.07 (1H, brs), 4.87-4.70 (2H, m), 4.18-3.20 (17H, m), 3.10 (3H, s), 3.02 (3H, s), 2.45-2.20 (4H, m), 2.23 (6H, s), 2.11-1.89 (2H, m), 1.87-1.47 (4H, m), 1.40-1.30 (1H, m), 1.09 (3H, d, J=6.9 Hz), 1.05-0.86 (17H, m), 0.80 (3H, t, J=7.3 Hz).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 1144. (LC/MS-1)

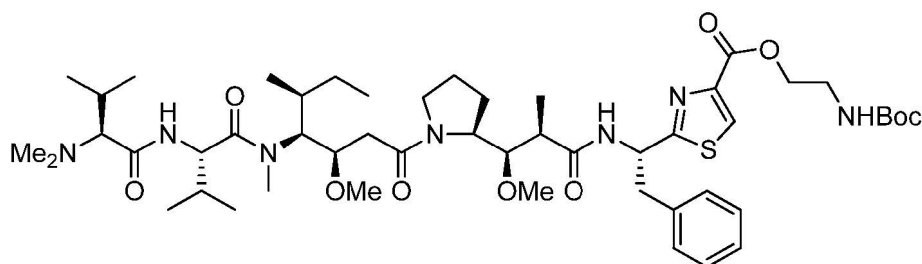
(Ejemplo 3) Síntesis de 2-((*S*)-1-(((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-*N*-(2-(mercaptoetil)-*N*-metiltiazol-4-carboxamida:



La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo 1, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 6 en lugar del compuesto del Ejemplo de Referencia 2, para obtener el compuesto del título (27 mg, 77% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo 3) como un amorfo blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.90 (1H, s), 7.60-7.45 (1H, m), 7.28-7.02 (5H, m), 6.90 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.58-5.51 (1H, m), 4.82-4.74 (2H, m), 4.20-3.20 (9H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.11 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.91-2.77 (2H, m), 2.45-2.31 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.10-1.89 (2H, m), 1.86-1.60 (4H, m), 1.43-1.20 (1H, m), 1.11 (3H, d, J=6.9 Hz), 1.05-0.90 (17H, m), 0.81 (3H, t, J=7.3 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 902. (LC/MS-1)

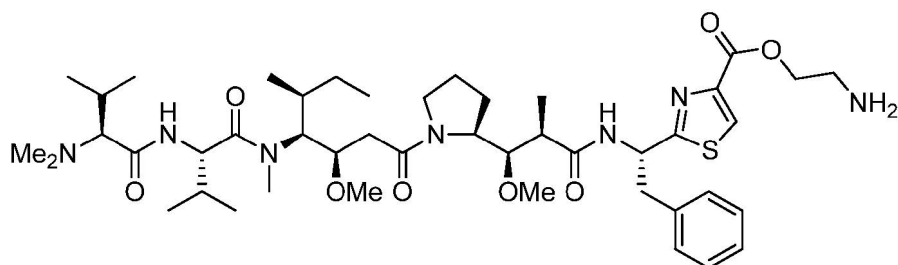
(Ejemplo de Referencia 7) Síntesis de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-carboxilato de 2-((terc-butoxicarbonil)amino)etilo:



A una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 1 (38 mg, 0,046 mmol) en DMF (0,50 ml), se le añadieron HATU (21 mg, 0,055 mmol), una solución de (2-hidroxietil)carbamato de terc-butilo (8,9 mg, 0,055 mmol) en DMF (0,50 ml) y diisopropiletilamina (7,5 µl, 0,069 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 26 horas. A la solución de reacción obtenida se le añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1 → 7/93) para obtener el compuesto del título (14 mg, 32% de rendimiento) (en lo sucesivo, denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 7) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.07 (1H, s), 7.44 (1H, brs), 7.30-7.12 (5H, m), 6.90 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.55-5.49 (1H, m), 5.02 (1H, brs), 4.82-4.70 (2H, m), 4.41 (2H, t, J=4.6 Hz), 4.18-4.08 (1H, m), 4.05-4.00 (1H, m), 3.87 (1H, d, J=7.3 Hz), 3.70-3.14 (6H, m), 3.32 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.48-2.33 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.13-1.87 (2H, m), 1.80-1.60 (4H, m), 1.43 (9H, s), 1.35-1.16 (1H, m), 1.10 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.05-0.87 (17H, m), 0.81 (3H, t, J=7.3 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 972. (LC/MS-1)

(Ejemplo Ilustrativo 4) Síntesis de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-carboxilato de 2-aminoetilo:

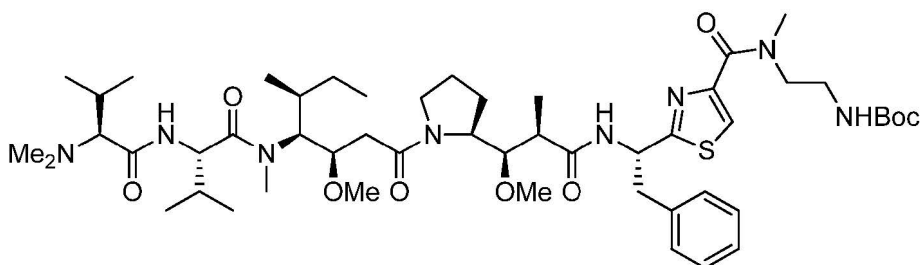


A una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 7 (14 mg, 0,014 mmol) en metanol (1,0 ml), se le

añadió una solución 4 N de cloruro de hidrógeno-dioxano (54 µl, 0,22 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El solvente de la solución de reacción obtenida se evaporó al vacío, se añadió acetato de etilo al resultante y la mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de carbonato de hidrógeno de sodio y salmuera saturada. La capa orgánica se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice de amina (metanol/cloroformo = 0/1→1/19) para obtener el compuesto del título (6,8 mg, 50% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo Ilustrativo 4) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.98 (1H, s), 7.78 (2H, brs), 7.54 (1H, brs), 7.32-7.00 (5H, m), 6.90 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.51-5.45 (1H, m), 4.80-4.70 (2H, m), 4.18-4.00 (2H, m), 3.82 (2H, t, J=4.8 Hz), 3.80-3.10 (7H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.05 (3H, s), 2.52-2.30 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.14-1.92 (2H, m), 1.86-1.60 (4H, m), 1.40-1.19 (1H, m), 1.15-0.91 (20H, m), 0.82 (3H, t, J=6.4 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 872. (LC/MS-1)

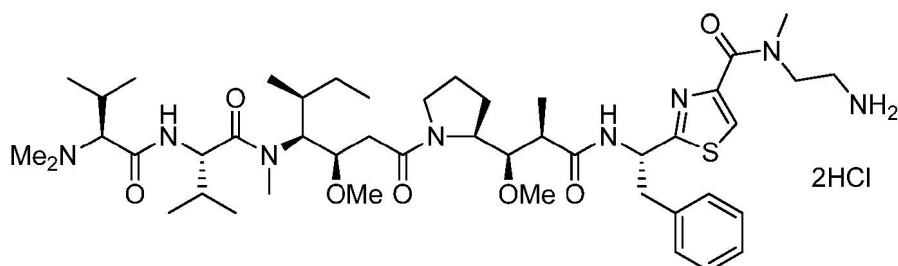
(Ejemplo de Referencia 8) Síntesis de (2-(2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-metiltiazol-4-carboxamido)etil)carbamato de *terc*-butilo:



La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó (2-(metilamino)etil)carbamato de *terc*-butilo en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (33 mg, 96% rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 8) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.88-7.75 (1H, m), 7.70-7.60 (1H, m), 7.34-7.00 (5H, m), 6.90 (1H, d, J=8.7 Hz), 6.42-6.35 (1H, m), 5.63-5.48 (1H, m), 4.86-4.70 (2H, m), 4.18-4.00 (2H, m), 3.90-3.17 (9H, m), 3.32 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.09 (3H, s), 3.02 (3H, s), 2.45-2.30 (4H, m), 2.23 (6H, s), 2.17-1.85 (2H, m), 1.80-1.60 (4H, m), 1.35 (9H, s), 1.30-1.15 (1H, m), 1.10-0.86 (20H, m), 0.80 (3H, t, J=7.5 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 985. (LC/MS-1)

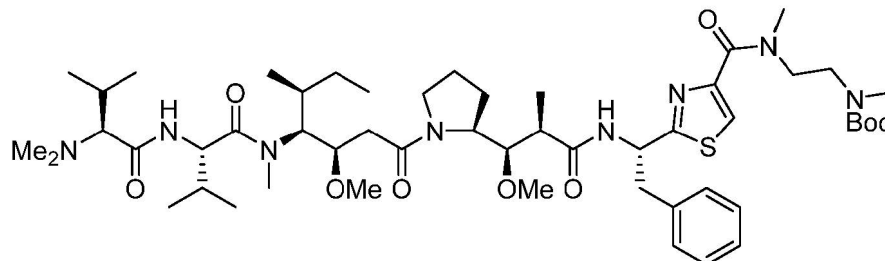
(Ejemplo Ilustrativo 5) Síntesis de Diclorhidrato de *N*-(2-aminoetil)-2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-metiltiazol-4-carboxamida:



A una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 8 (33 mg, 0,033 mmol) en metanol (1,0 ml), se le añadió una solución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano (126 µl, 0,50 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. El solvente de la solución de reacción obtenida se evaporó al vacío para obtener el compuesto del título (29 mg, 90% de rendimiento) (en lo sucesivo el compuesto del Ejemplo Ilustrativo 5) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.98-8.60 (1H, m), 8.14-7.92 (1H, m), 7.37-7.18 (5H, m), 5.66-5.57 (1H, m), 4.85-4.63 (2H, m), 4.20-3.07 (20H, m), 3.16 (3H, s), 2.92 (3H, s), 2.91 (3H, s), 2.48-1.39 (10H, m), 1.30-0.98 (21H, m), 0.87 (3H, t, J=7.1 Hz).
MS m/z (ESI) [M+Na]⁺: 907. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 9) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-metiltiazol-4-carboxamido)etil)(metil)carbamato de *tert*-butilo:



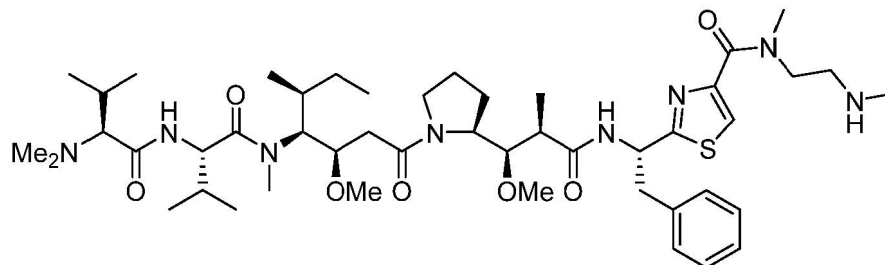
La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó metil(2-(metilamino)etil)carbamato de *tert*-butilo en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (38 mg, 90% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 9) como un amorfo blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.78 (1H, s), 7.70-7.40 (1H, brn), 7.30-7.11 (5H, m), 6.90 (1H, d, J=8.7 Hz), 5.57-5.48 (1H, m), 4.85-4.73 (2H, m), 4.18-4.00 (2H, m), 3.90-2.62 (12H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.13 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.45-2.30 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.13-1.90 (2H, m), 1.80-1.60 (4H, m), 1.45 (9H, s), 1.38-1.30 (1H, m), 1.16-0.91 (20H, m), 0.81 (3H, t, J=7.3 Hz).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 999. (LC/MS-1)

(Ejemplo Ilustrativo 6) Síntesis de Diclorhidrato de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-metil-N-(2-(metilamina)etil)tiazol-4-carboxamida:

2HCl

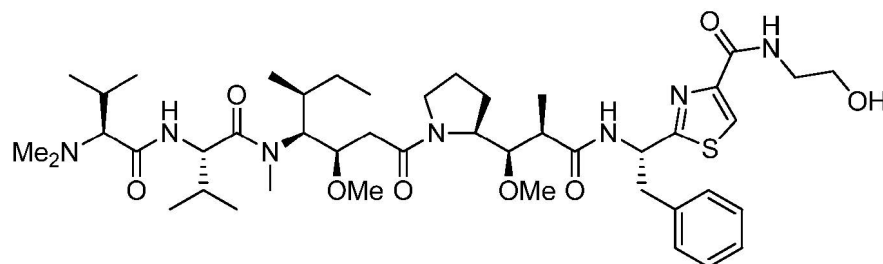


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo Ilustrativo 5, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 9 en lugar del compuesto del Ejemplo de Referencia 8, para obtener el compuesto del título (34 mg, 92% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo Ilustrativo 6) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.15-8.02 (1H, m), 7.37-7.18 (5H, m), 5.66-5.57 (1H, m), 4.85-4.63 (2H, m), 4.20-3.07 (20H, m), 3.27 (3H, s), 3.15 (3H, s), 2.91 (3H, s), 2.89 (3H, s), 2.51-1.39 (10H, m), 1.30-0.87 (21H, m), 0.86 (3H, t, J=7.3 Hz).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 899. (LC/MS-1)

(Ejemplo Ilustrativo 7) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(hidroxi)etil)tiazol-4-carboxamida:

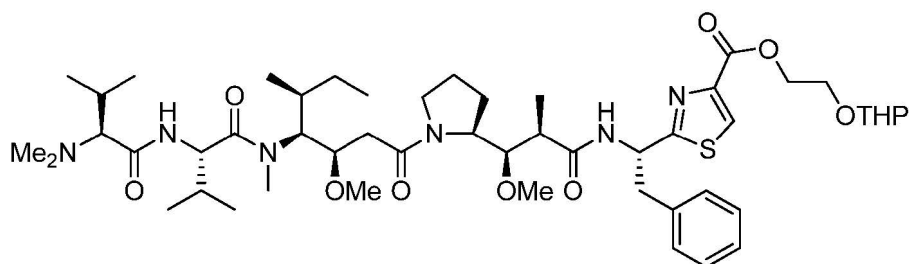


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó 2-aminoetanol en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (26 mg, rendimiento cuantitativo) (en lo sucesivo denominado compuesto del Ejemplo Ilustrativo 7) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.96 (1H, s), 7.85-7.75 (1H, m), 7.60 (1H, brs), 7.30-7.07 (5H, m), 6.91 (1H, d, J=8.7Hz), 5.50-5.43 (1H, m), 4.83-4.72 (2H, m), 4.16-4.09 (1H, m), 4.05-4.01 (1H, m), 3.84-3.78 (3H, m), 3.65-3.20 (6H, m), 3.32 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.04 (3H, s), 2.48-2.32 (4H, m), 2.23 (6H, s), 2.16-1.63 (6H, m), 1.40-1.25 (1H, m), 1.08 (3H, d, J=6.9 Hz), 1.04-0.88 (17H, m), 0.80 (3H, t, J=6.4 Hz).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 872. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 10) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-carboxilato de 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etilo:

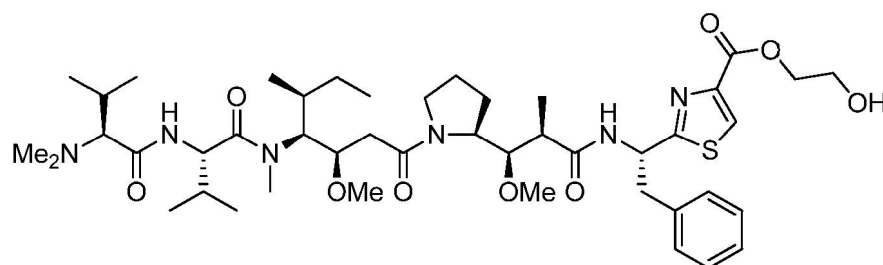


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 3, excepto que se usó 2-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)etanol en lugar de 2-(trilitio)etanol, para obtener el compuesto del título (36 mg, 73% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 10) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.05 (1H, s), 7.36 (1H, d, J=6.9 Hz), 7.30-7.11 (5H, m), 6.89 (1H, d, J=9.6Hz), 5.55-5.48 (1H, m), 4.83-4.75 (2H, m), 4.69 (1H, t, J=3.4Hz), 4.60-4.46 (2H, m), 4.18-4.08 (1H, m), 4.07-4.00 (2H, m), 3.91-3.84 (2H, m), 3.82-3.75 (1H, m), 3.55-3.25 (5H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.02 (3H, s), 2.46-2.30 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.13-1.97 (2H, m), 1.93-1.51 (10H, m), 1.42-1.30 (1H, m), 1.10 (3H, d, J=6.9 Hz), 1.05-0.87 (17H, m), 0.81 (3H, t, J=7.5 Hz).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 957. (LC/MS-1)

(Ejemplo Ilustrativo 8) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-carboxilato de 2-hidroxietilo:

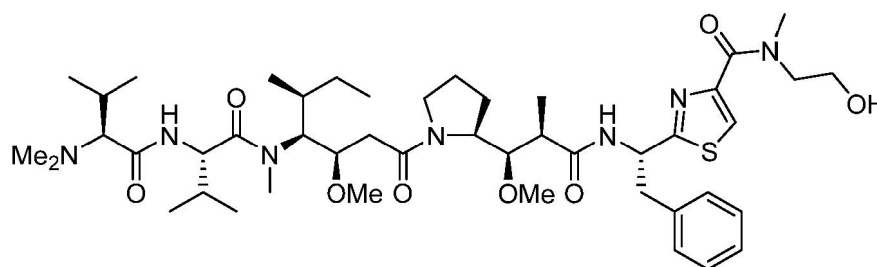


A una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 10 (36 mg, 0,038 mmol) en etanol (1,0 ml), se le añadió monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico (7,2 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El solvente de la solución de reacción obtenida se evaporó al vacío, el resultante se diluyó con diclorometano, se añadió al mismo una solución acuosa saturada de carbonato de potasio y la mezcla se extrajo tres veces con cloroformo. Las capas orgánicas se deshidrataron sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentraron al vacío. El

residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1→1/9) para obtener el compuesto del título (31 mg, 95% de rendimiento) (en lo sucesivo el compuesto del Ejemplo Ilustrativo 8) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.10 (1H, s), 7.49-7.44 (1H, m), 7.30-7.13 (5H, m), 6.90 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.55-5.48 (1H, m), 4.82-4.74 (2H, m), 4.50 (2H, t, J=4.6 Hz), 4.20-3.26 (9H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.02 (3H, s), 2.46-2.34 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.11-1.90 (2H, m), 1.84-1.60 (4H, m), 1.43-1.30 (1H, m), 1.09 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.03-0.89 (17H, m), 0.81 (3H, t, J=7.5 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 873. (LC/MS-1)

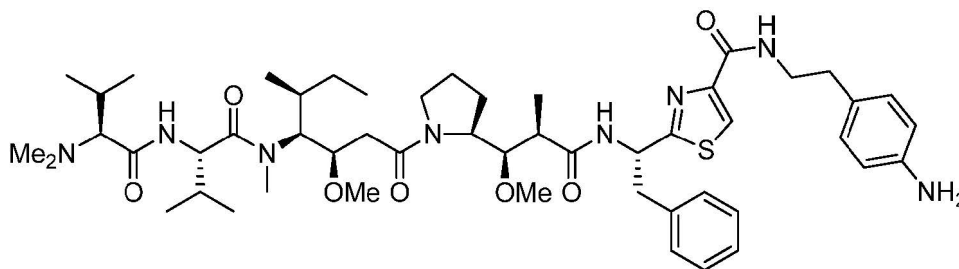
(Ejemplo 9) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(hidroxietil)-N-metiltiazol-4-carboxamida:



La síntesis se realizó con el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó 2-(metilamino)etan-1-ol en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (31 mg, 85% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo 9) como un amorfo blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.84 (1H, s), 7.82-7.76 (1H, m), 7.30-7.00 (5H, m), 6.92 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.56-5.48 (1H, m), 5.07 (1H, brs), 4.87-4.70 (2H, m), 4.18-3.20 (17H, m), 3.10 (3H, s), 3.02 (3H, s), 2.45-2.20 (4H, m), 2.23 (6H, s), 2.11-1.89 (2H, m), 1.87-1.47 (4H, m), 1.40-1.30 (1H, m), 1.09 (3H, d, J=6.9 Hz), 1.05-0.86 (17H, m), 0.80 (3H, t, J=7.3 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 886. (LC/MS-1)

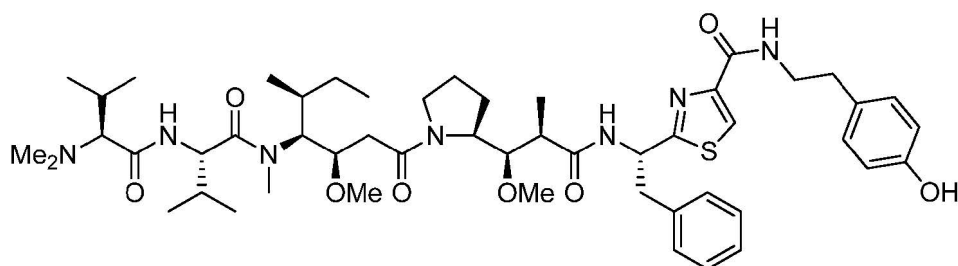
(Ejemplo Ilustrativo 10) Síntesis de N-(4-aminofenetil)-2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-ilo)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxamida:



La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó 4-(2-aminoetil)anilina en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (37 mg, 74% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado compuesto del Ejemplo ilustrativo 10) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.95 (1H, s), 7.43-7.36 (2H, m), 7.30-7.17 (5H, m), 7.04 (2H, d, J=8.2 Hz), 6.89 (1H, d, J=9.1 Hz), 6.65 (2H, d, J=8.2 Hz), 5.53-5.46 (1H, m), 4.83-4.72 (2H, m), 4.15-4.09 (1H, m), 4.08-4.03 (1H, m), 3.87 (1H, d, J=8.2 Hz), 3.70-3.18 (6H, m), 3.33 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.82 (2H, t, J=7.1 Hz), 2.45-2.35 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.18-1.89 (2H, m), 1.84-1.64 (4H, m), 1.40-1.20 (1H, m), 1.10 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.03-0.90 (17H, m), 0.81 (3H, t, J=7.3 Hz).
MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 947. (LC/MS-1)

(Ejemplo 11) Síntesis de 2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(4-hidroxifenetil)tiazol-4-carboxamida:

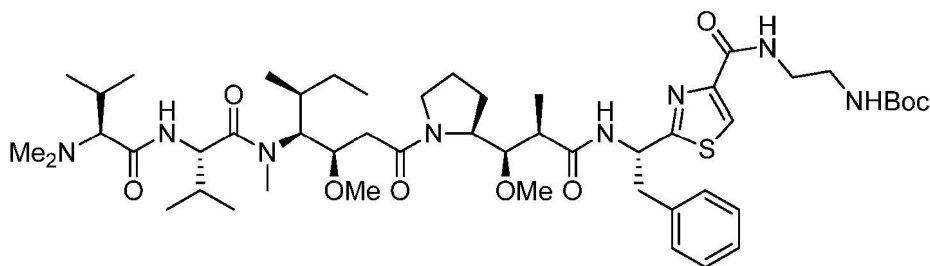


La síntesis se realizó mediante el mismo método que el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó 4-(2-aminoetil)fenol en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (33 mg, rendimiento cuantitativo) (en lo sucesivo, denominado el compuesto del Ejemplo 11) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.93 (1H, s), 7.41-7.30 (2H, m), 7.27-7.10 (5H, m), 7.04 (2H, d, *J*=8.2 Hz), 6.95-6.85 (1H, m), 6.82 (2H, d, *J*=8.2 Hz), 5.49-5.44 (1H, m), 4.85-4.72 (2H, m), 4.14-3.15 (9H, m), 3.33 (3H, s), 3.26 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.82 (2H, t, *J*=6.9 Hz), 2.51-2.30 (4H, m), 2.23 (6H, s), 2.17-1.94 (2H, m), 1.90-1.60 (4H, m), 1.40-1.20 (1H, m), 1.15-0.88 (20H, m), 0.80 (3H, t, *J*=7.3 Hz).

MS *m/z* (ESI) [*M*+*H*]⁺: 949. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 11) Síntesis de (2-(2-((*S*)-1-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-carboxamido)etil)carbamato de terc-butilo:

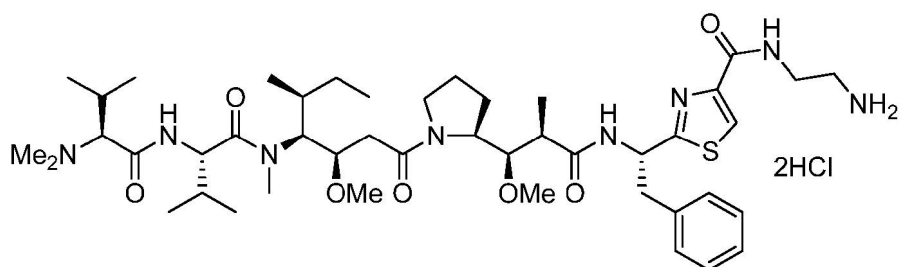


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó (2-aminoetil)carbamato de *tert*-butilo en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (55 mg, 98% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 11) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, cDCl₃) δ(ppm): 7.96 (1H, s), 7.69 (1H, brs), 7.50 (1H, brs), 7.34-7.09 (5H, m), 6.90 (1H, d, *J*=9.1 Hz), 5.55-5.44 (1H, m), 5.03 (1H, brs), 4.89-4.67 (2H, m), 4.20-3.20 (11H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.04 (3H, s), 2.50-2.33 (4H, m), 2.25 (6H, s), 2.10-1.92 (2H, m), 1.85-1.66 (4H, m), 1.42 (9H, s), 1.40-1.20 (1H, m), 1.15-0.79 (23H, m).

MS *m/z* (ESI) [*M*+*H*]⁺: 971. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 12) Síntesis de Diclorhidrato de *N*-(2-aminoetil)-2-((*S*)-1-(((2*S*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-carboxamida:

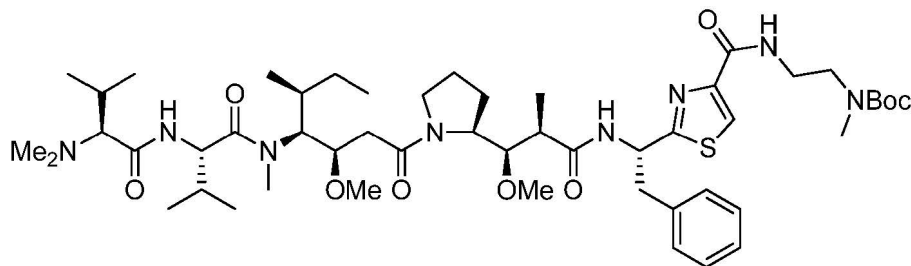


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo Ilustrativo 5, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 11 en lugar del compuesto del Ejemplo de Referencia 8, para obtener el compuesto del título (41 mg, 96% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 12) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.65 (1H, brs), [8.19 (0.5H, s), 8.16 (0.5H, s)], 7.32-7.16 (5H, m), 5.69-5.56 (1H, m), 4.80-4.63 (2H, m), 4.15-3.05 (14H, m), 3.33 (6H, s), 2.91 (6H, s), 2.51-1.38 (10H, m), 1.30-0.91 (21H, m), 0.85 (3H, t, J=7.1 Hz).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 871. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 13) Síntesis de (2-(2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxamido)etil)(metil)carbamato de *terc*-butilo:

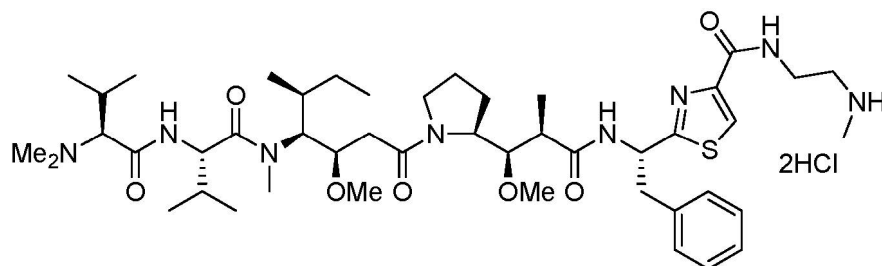


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó éster *terc*-butilico del ácido (2-aminoetil)(metil)carbámico en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (32 mg, 40% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 13) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.94 (1H, s), 7.79 (1H, brs), 7.47 (1H, brs), 7.26-7.09 (5H, m), 6.89 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.53-5.46 (1H, m), 4.82-4.74 (2H, m), 4.15-3.11 (11H, m), 3.33 (3H, s), 3.31 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.92 (3H, s), 2.47-2.34 (4H, m), 2.24 (6H, s), 2.12-1.94 (2H, m), 1.77-1.65 (4H, m), 1.43 (9H, s), 1.40-1.20 (1H, m), 1.12-0.78 (23H, m).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 985. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 14) Síntesis de Diclorhidrato de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(metilamino)etil)tiazol-4-carboxamida:

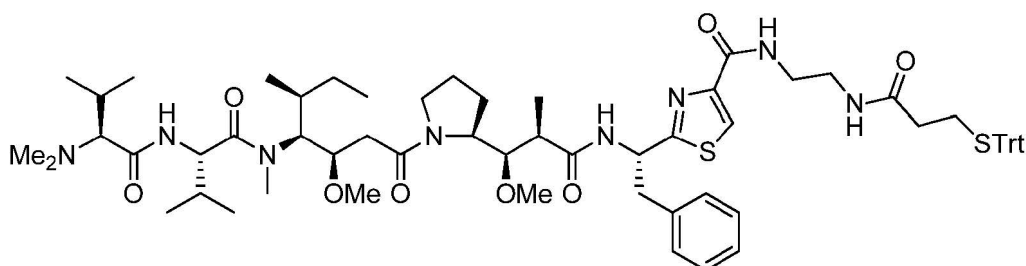


La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo Ilustrativo 5, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 13 en lugar del compuesto del Ejemplo de Referencia 8, para obtener el compuesto del título (25 mg, 88% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 14) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.63 (1H, brs), 8.22-8.14 (1H, m), 7.35-7.15 (5H, m), 5.70-5.52 (1H, m), 4.83-4.63 (2H, m), 4.17-3.04 (20H, m), 2.91 (3H, s), 2.90 (3H, s), 2.74 (3H, s), 2.51-1.98 (6H, m), 1.91-1.50 (4H, m), 1.42-0.80 (24H, m).

MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 885. (LC/MS-1)

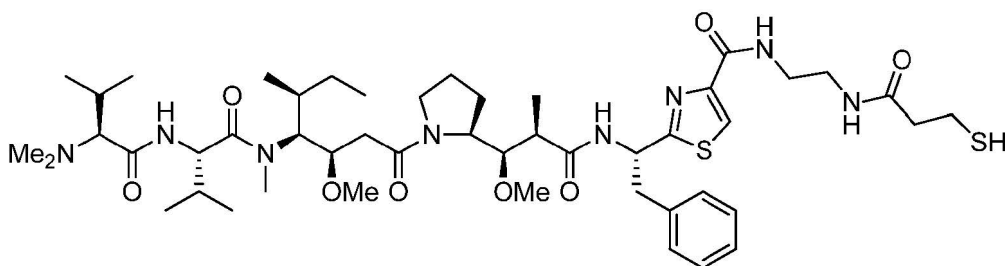
(Ejemplo de Referencia 15) Síntesis de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(3-(trilitio)propanamido)etil)tiazol-4-carboxamida:



A una solución de ácido 3-(trilitio)propanoico (12 mg, 0,032 mmol) en DMF (0,50 ml), se le añadieron HATU (12 mg, 0,032 mmol), una solución del compuesto del Ejemplo de Referencia 12 (20 mg, 0,021 mmol) en DMF (0,50 ml) y diisopropiletilamina (13 µl, 0,074 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. A la solución de reacción obtenida se le añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1→1/9) para obtener el compuesto del título (20 mg, 77% de rendimiento) (en lo sucesivo el compuesto del Ejemplo de Referencia 15) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.91 (1H, s), 7.69 (1H, t, J=6.1 Hz), 7.46 (1H, brs), 7.42-7.10 (20H, m), 6.92 (1H, d, J=9.5 Hz), 6.16 (1H, brs), 5.51-5.45 (1H, m), 4.88-4.74 (2H, m), 4.13-4.09 (1H, m), 4.07-4.02 (1H, m), 3.87 (1H, d, J=7.7 Hz), 3.60-3.18 (8H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.04 (3H, s), 2.50-2.32 (6H, m), 2.25 (6H, s), 2.09-1.96 (4H, m), 1.90-1.63 (4H, m), 1.40-1.20 (1H, m), 1.10 (3H, d, J=7.2 Hz), 1.05-0.88 (17H, m), 0.81 (3H, t, J=7.2 Hz). MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 1201. (LC/MS-1)

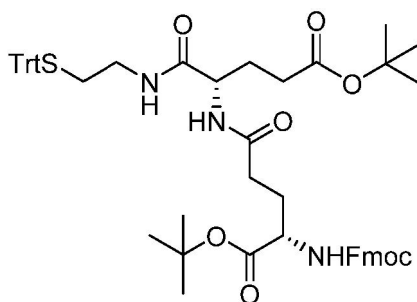
(Ejemplo de Referencia 16) Síntesis de 2-((S)-1-(((2S,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-(2-(3-mercaptopropanamido)etil)tiazol-4-carboxamida:



La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo 1, excepto que se usó el compuesto del Ejemplo de Referencia 15 en lugar del compuesto del Ejemplo de Referencia 2, para obtener el compuesto del título (7,3 mg, 89% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 16) como un sólido blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.97 (1H, s), 7.78 (1H, brs), 7.51 (1H, brs), 7.32-7.10 (5H, m), 7.00-6.85 (1H, m), 6.58 (1H, brs), 5.53-5.45 (1H, m), 4.82-4.74 (2H, m), 4.15-4.08 (1H, m), 4.06-4.00 (1H, m), 3.86 (1H, d, J=7.7 Hz), 3.64-3.18 (8H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.04 (3H, s), 2.82-2.75 (2H, m), 2.50 (2H, t, J=6.8 Hz), 2.48-2.37 (4H, m), 2.26 (6H, s), 2.12-1.92 (2H, m), 1.83-1.57 (4H, m), 1.27-1.19 (1H, m), 1.11-0.86 (20H, m), 0.81 (3H, t, J=7.2 Hz). MS m/z (ESI) [M+H]⁺: 959. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 17) Síntesis de N 2-(((9H-fluoreno-9-il)metoxi)carbonil)-N5-((S)-5-(*tert*-butoxi)-1,5-dioxo-1-((2-(trilitio)etil)amino)pentan-2-il)-L-glutaminato de *tert*-butilo:

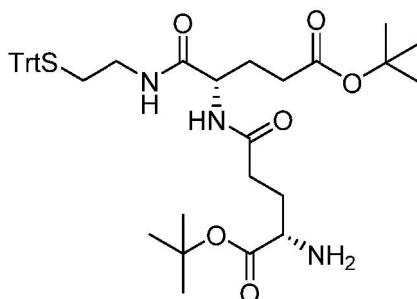


Se disolvió (S)-4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-5-oxo-5-((2-(tritylthio)etil)amino)pentanoato de *tert*-butilo (1,5 g, 2,1 mmol) en una solución al 20% en volumen de dietilamina en tetrahidrofurano (en lo sucesivo, THF) (20 ml), la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego la mezcla de la reacción se concentró al vacío. A una solución del residuo obtenido, HATU (942 mg, 2,5 mmol) y éster α *t*-butilico del ácido *N*- α -(9-fluorenilmetoxycarbonil)-L-glutámico (878 mg, 2,1 mmol) en DMF (30 ml), se le añadió diisopropiletilamina (320 mg, 2,5 mmol) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después de añadir una cantidad en exceso de acetato de etilo, la mezcla se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, la capa orgánica se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (*n*-hexano/acetato de etilo = 10/1 $\rightarrow$ 2/1) para obtener el compuesto del título (1,81 g, 96% de rendimiento) (en lo sucesivo, denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 17.) como un amorfo blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.76 (d, *J*=7.3 Hz, 2H), 7.61 (d, *J*=7.8 Hz, 2H), 7.40 (td, *J*=4.9, 2.9 Hz, 7H), 7.30 (ddt, *J*=19.7, 8.5, 3.3 Hz, 9H), 7.22-7.18 (m, 2H), 6.65 (d, *J*=6.4 Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 5.59 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 4.36 (dt, *J*=16.6, 6.1 Hz, 2H), 4.21 (t, *J*=6.9 Hz, 2H), 3.04 (dd, *J*=9.8, 6.2 Hz, 2H), 2.39 (dt, *J*=18.8, 6.6 Hz, 3H), 2.25 (dt, *J*=23.0, 6.6 Hz, 3H), 2.01 (t, *J*=6.9 Hz, 1H), 1.87 (t, *J*=6.6 Hz, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.42 (s, 9H), 1.13 (dt, *J*=13.3, 5.7 Hz, 2H).

MS *m/z* (ESI) [M+Na]⁺: 934. (LC/MS-2)

(Ejemplo de Referencia 18) Síntesis de *N*5-((S)-5-(*tert*-butoxi)-1,5-dioxo-1-((2-(tritylthio)etil)amino)pentan-2-yl)-L-glutaminato de *tert*-butilo:

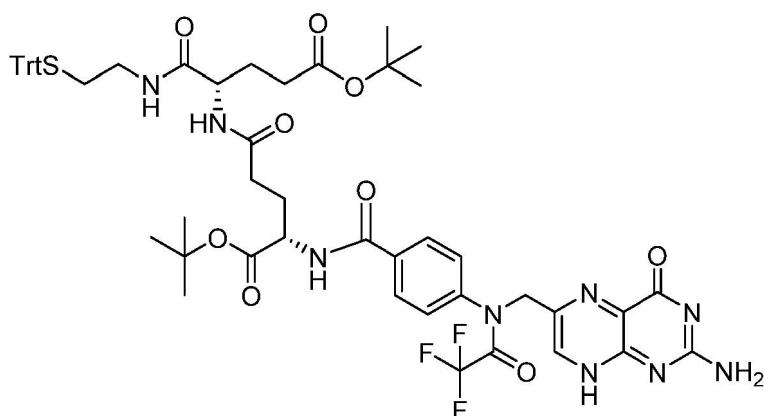


El Ejemplo de Referencia 17 (480 mg, 0,53 mmol) se disolvió en una solución de dietilamina al 20% en volumen en THF (5,0 ml), la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego la solución de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1 $\rightarrow$ 1/9) para obtener el compuesto del título (284 mg, 78% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 18) como un amorfo blanco.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.41 (t, *J*=4.5 Hz, 6H), 7.29 (dd, *J*=10.4, 5.0 Hz, 7H), 7.21 (dd, *J*=8.4, 6.1 Hz, 3H), 6.91 (s, 1H), 6.85 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 4.36-4.31 (m, 1H), 3.31-3.26 (m, 1H), 3.12-3.06 (m, 1H), 2.95 (dd, *J*=13.6, 6.3 Hz, 1H), 2.45-2.22 (m, 7H), 2.10-2.01 (m, 3H), 1.95-1.87 (m, 7H), 1.46 (s, 9H), 1.43 (d, *J*=3.6 Hz, 12H), 1.30-1.24 (m, 2H), 1.16 (t, *J*=7.0 Hz, 1H), 1.11 (t, *J*=7.2 Hz, 1H).

MS *m/z* (ESI) [M+H]⁺: 690. (LC/MS-1)

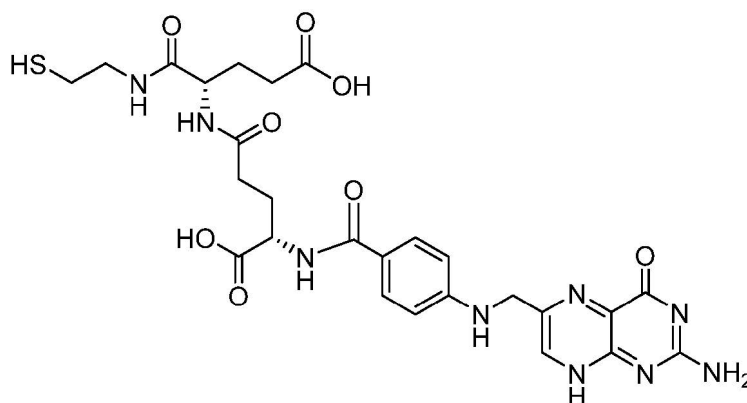
(Ejemplo de Referencia 19) Síntesis de *N*2-(4-(*N*-((2-amino-4-oxo-4,8-dihidropteridin-6-il)metil)-2,2,2-trifluoroacetamido)benzoil)-*N*5-((S)-5-(*tert*-butoxi)-1,5-dioxo-1-((2-(tritylthio)etil)amino)pentan-2-yl)-L-glutaminato de *tert*-butilo:



A una solución de ácido 4-(*N*-((2-amino-4-oxo-4,8-dihidropteridin-6-il)metil)-2,2,2-trifluoroacetamido)benzoico (177 mg, 0,43 mmol) y HATU (188 mg, 0,50 mmol) en DMF/sulfóxido de dimetilo (en lo sucesivo, DMSO) (10 ml/1,0 ml), se le añadió diisopropiletilamina (75 mg, 0,58 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante cinco minutos. A la solución de reacción obtenida se le añadió una solución del Ejemplo de Referencia 18 (285 mg, 0,41 mmol) en DMF (5,0 ml) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después de añadir una cantidad en exceso del 1% en volumen de metanol en cloroformo, la mezcla se lavó dos veces con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada y la capa orgánica se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1→1/5) para obtener el compuesto del título (270 mg, 61% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 19) como un sólido amarillo.

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.67 (s, 1H), 7.89 (d, *J*=8.6 Hz, 3H), 7.55 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.35 (dd, *J*=5.2, 3.4 Hz, 6H), 7.27-7.23 (m, 6H), 7.18 (td, *J*=5.7, 2.9 Hz, 3H), 4.40 (dd, *J*=9.5, 4.5 Hz, 1H), 4.28 (dd, *J*=8.4, 5.7 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J*=13.4, 6.6 Hz, 1H), 2.99 (q, *J*=6.9 Hz, 1H), 2.40 (dd, *J*=10.9, 4.5 Hz, 2H), 2.28 (dt, *J*=17.2, 5.0 Hz, 4H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.82 (dd, *J*=13.8, 8.4 Hz, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.39 (s, 9H), 1.28 (s, 1H).
MS *m/z* (ESI) [*M*-H]⁻: 1079. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 20) Síntesis de *N*2-(4-(((2-amino-4-oxo-4,8-dihidropteridin-6-il)metil)amino)benzoil)-*N*5-((*S*)-4-(carboxi)-1-((2-(mercaptoetil)amino)-1-oxobutan-2-il)-*L*-glutamina:



A una suspensión del Ejemplo de Referencia 19 (120 mg, 0,11 mmol) en diclorometano (5,0 ml), se le añadió una solución de amoníaco-metanol 7N (5,0 ml) para obtener una solución uniforme y la solución uniforme se agitó durante la noche a temperatura ambiente. A un sólido que se obtuvo por evaporación al vacío del solvente de la solución uniforme, se le añadió una cantidad en exceso de éter dietílico y se lavó, y el sólido precipitado se recogió por filtración (producto intermedio 1, 105 mg). Al producto intermedio 1 (105 mg), se le añadió TFA/triisopropilsilano/H₂O/etanodiol (92,5/2,5/2,5/2,5% en volumen) (10 ml) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Al residuo que se obtuvo por evaporación al vacío del solvente de la mezcla, se le añadió una cantidad en exceso de éter dietílico y se agitó, el precipitado formado se recogió por filtración y el sólido obtenido se lavó con diclorometano para obtener el compuesto del título (65 mg, 92% de rendimiento, 80% de pureza) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 20) como un sólido amarillo verdoso.

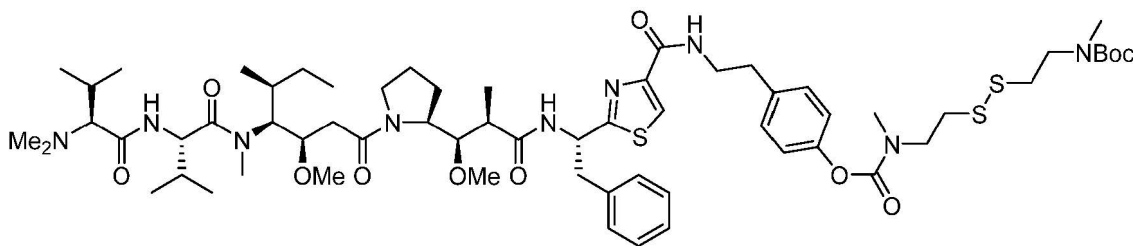
¹H-NMR (DMSO-*d*₆) δ: 8.66 (s, 1H), 8.23 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 8.05 (q, *J*=6.2 Hz, 2H), 7.66 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 6.64

(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 4.50 (s, 2H), 4.28 (t, $J=10.9$ Hz, 1H), 4.18 (dd, $J=13.1$, 8.2 Hz, 1H), 3.23-3.13 (m, 2H), 2.35 (t, $J=8.2$ Hz, 1H), 2.22 (dd, $J=16.5$, 7.5 Hz, 5H), 2.04 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 1.90 (dd, $J=24.7$, 10.2 Hz, 3H), 1.70 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 1.25 (s, 1H).

MS m/z (ESI) $[M+H]^+$: 630. (LC/MS-2)

$t_R=12.21$ min. (HPLC)

(Ejemplo de Referencia 21) Síntesis de 4-(2-(2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxamido)etil)fenil(2-((2-((terc-butoxicarbonil)(metil)amino)etil)disulfanil)etil)(metil)carbamato:

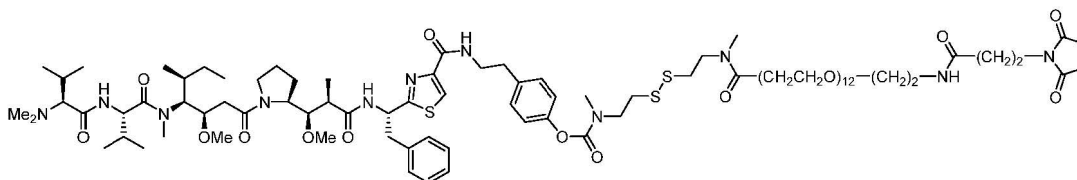


Se enfrió en hielo una solución de trifosgeno (17 mg, 0,06 mmol) en diclorometano (1,0 ml) y se le añadió piridina deshidratada (25 mg, 0,31 mmol) y luego la mezcla se agitó durante 20 minutos. A la solución, se le añadió gota a gota lentamente una solución de metil(2-((2-(metilamino)etil)disulfanil)etil)carbamato de *terc*-butilo (15 mg, 0,05 mmol) en diclorometano (2,0 ml), y la mezcla se devolvió a temperatura ambiente y se agitó durante una hora. A la solución obtenida se le añadió una cantidad en exceso de diclorometano, la mezcla se lavó tres veces con agua y luego la capa orgánica se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo obtenido (7,5 mg) se disolvió en piridina deshidratada (1,0 ml), la mezcla se enfrió en hielo y luego se añadió una solución del compuesto del Ejemplo 11 (25 mg, 0,03 mmol) en piridina deshidratada (3,0 ml) y la mezcla se agitó durante la noche mientras se dejaba alcanzar la temperatura ambiente. Después de añadir una cantidad en exceso de acetato de etilo, la solución resultante se lavó tres veces con agua y una vez con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y salmuera saturada, respectivamente, y la capa orgánica se deshidrató sobre sulfato de sodio anhidro y luego se concentró al vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice de amina (metanol/cloroformo = 0/1→1/20) para obtener el compuesto del título (25 mg, 76% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 21) como un blanco amorfo.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.96 (1H, s), 7.41-7.30 (2H, m), 7.27-7.10 (5H, m), 7.06 (2H, d, $J=8.2$ Hz), 5.49-5.44 (1H, m), 4.85-4.77 (2H, m), 4.13-3.64 (9H, m), 3.60-3.29 (15H, m), 3.13 (3H, s), 3.03 (3H, s), 2.51-2.30 (4H, m), 2.25 (6H, s), 2.17-1.98 (2H, m), 1.78 (12H, s), 1.11-0.88 (24H, m), 0.82 (5H, m).

MS m/z (ESI) $[M-\text{Boc}]^{2+}$: 577. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 22) Síntesis de 4-(2-(2-((S)-1-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4R,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxamido)etil)fenil(50-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-7-metil-8,48-dioxo-11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44-dodecaoxa-3,4-ditia-7,47-diazapentacontil)(metil)carbamato:

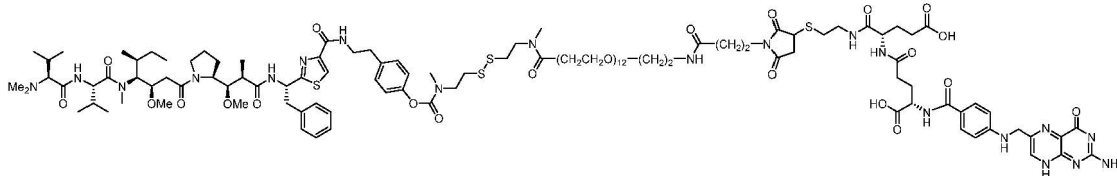


A una solución del Ejemplo de Referencia 21 (20 mg, 0,02 mmol) en diclorometano (1,0 ml), se le añadió solución de cloruro de hidrógeno 4 N-dioxano (0,5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Después de concentrar la solución de reacción al vacío, la solución obtenida se secó al vacío. Al residuo obtenido se le añadieron HATU (7,3 mg, 0,02 mmol) y DMF (0,5 ml). A la solución de la reacción, se le añadieron una solución de ácido 1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-3-oxo-7,10,13,16,19,22,25,28,31,34,37,40-dodecaoxa-4-azatritetracontan-43-oico (12 mg, 0,02 mmol) en diclorometano (1,0 ml) y diisopropiletilamina (10 μl), y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La solución de reacción obtenida se concentró al vacío, el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol/cloroformo = 0/1→1/5) para obtener el compuesto del título (15 mg, 40% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 22) como una sustancia oleosa.

MS m/z (ESI) $[M+H]^{3+}$: 635. (LC/MS-1)

t_R =17.11 min. (HPLC)

(Ejemplo 12) Síntesis de *N*2-(4-(((2-amino-4-oxo-4,8-dihidropteridin-6-il)metil)amino)benzoil)-*N*5-((2*S*)-4-carboxi-1-((2-((1-(1-(4-(2-(2-((*S*)-1-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*R*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)tiazol-4-carboxamido)etil)fenoxi)-2,9-dimetil-1,10,50-trioxo-13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-5,6-ditia-2,9,49-triazadopentacontan-52-il)-2,5-dioxopirrolidin-3-il)tio)etil)amino)-1-oxobutan-2-il)-*L*-glutamina:



A una solución del Ejemplo de Referencia 22 (6,8 mg, 0,003 mmol) en acetonitrilo/metanol (1,0 ml/0,5 ml), se le añadieron una solución del Ejemplo de Referencia 20 (3,0 mg, 0,005 mmol) en DMSO (1,0 ml) y un tampón de fosfato pH de 7,2 (en lo sucesivo, PBS) (50 mM, 1,0 ml) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción obtenida se purificó mediante una columna ODS de fase inversa para obtener el compuesto del título (6,0 mg, 67% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo 12) como una sustancia oleosa.

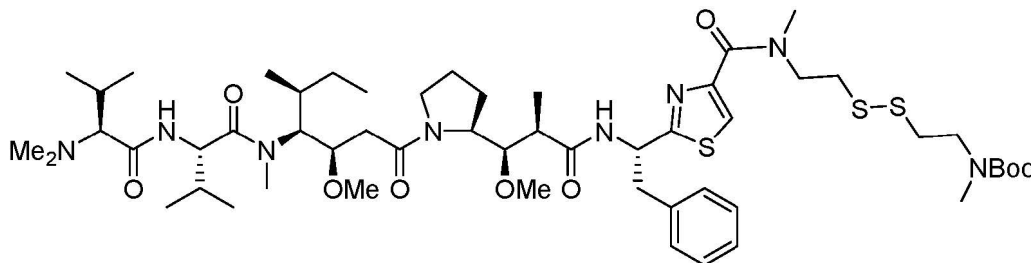
MS m/z (ESI) $[M-H]^{2-}$: 1266. (LC/MS-1)

HRMS m/z (ESI) $[M-H]^-$: 2532.1754.

Calculated exact mass of $C_{118}H_{180}N_{20}O_{33}S_4$: 2532.1832

t_R =16.40 min. (HPLC)

(Ejemplo de Referencia 23) Síntesis de 2-((2-(2-((*S*)-1-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-*N*-metiltiazol-4-carboxamido)etil)disulfanil)etil)(metil)carbamato de terc-butilo:



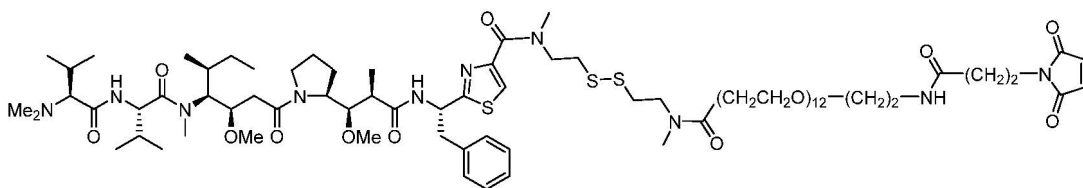
La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 2, excepto que se usó metil(2-((2-(metilamino)etil)disulfanil)etil)carbamato de *terc*-butilo en lugar de 2-(trilitio)etanamina, para obtener el compuesto del título (26 mg, 92% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 23) como un sólido blanco.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.01 (1H, s), 7.87 (1H, brs), 7.46 (1H, brs), 7.26-7.15 (5H, m), 6.90 (1H, d, J =8.2Hz), 5.56 (1H, brs), 4.81-4.77 (2H, m), 4.12 (1H, brs), 4.05 (1H, brs), 3.97 (1H, brs), 3.88 (1H, d, J =7.7 Hz), 3.80 (2H, m), 3.51-3.16 (4H, m), 3.33 (3H, s), 3.32 (3H, s), 3.13 (3H, s), 3.04 (3H, s), 2.96 (3H, s), 2.81-2.74 (2H, m), 2.89 (3H, s), 2.46-2.34 (3H, m), 2.25 (6H, s), 2.12-1.97 (2H, m), 1.66 (15H, d, J =8.8 Hz), 1.45 (9H, t, J =8.6 Hz), 1.10 (2H, d, J =7.2 Hz), 1.05-0.90 (12H, m), 0.82 (3H, t, J =7.5 Hz).

MS m/z (ESI) $[M+H]^+$: 1092. (LC/MS-1)

(Ejemplo de Referencia 24) Síntesis de 2-((*S*)-1-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*R*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-*N*-(50-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)-7-metil-8,48-dioxo-11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44-dodecaoxa-3,4-ditia-7,47-diazapentacontil)-*N*-metiltiazol-4-carboxamida:

5

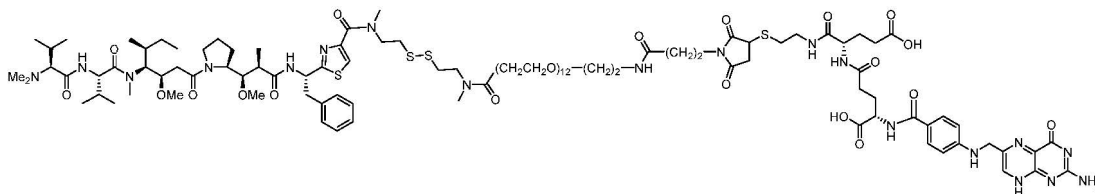


10 La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo de Referencia 22, excepto que se usó el Ejemplo de Referencia 23 en lugar del Ejemplo de Referencia 21, para obtener el compuesto del título (17 mg, 31% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo de Referencia 24) como una sustancia oleosa.

15 MS m/z (ESI) $[M+H]^{2+}$: 871. (LC/MS-1)
 t_R =16.66 min. (HPLC)

20 (Ejemplo 13) Síntesis de *N* 2-(4-(((2-amino-4-oxo-4,8-dihidropteridin-6-il)metil)amino)benzoil)-N5-((2*S*)-4-carboxi-1-((2-((1-(1-(2-((*S*)-1-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((3*R*,4*R*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-*N*,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)thiazol-4-il)-2,9-dimetil-1,10,50-trioxa-13,16,19,22,25,28,31,34,37,40,43,46-dodecaoxa-5,6-dithia-2,9,49-triazadopentacontan-52-yl)-2,5-dioxopirrolidin-3-il)tio)etil)amino)-1-oxobutan-2-il)-L-glutamina:

25



30 La síntesis se realizó mediante el mismo método que en el Ejemplo 12, excepto que se usó el Ejemplo de Referencia 24 en lugar del Ejemplo de Referencia 22, para obtener el compuesto del título (8,4 mg, 71% de rendimiento) (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo 13) como una sustancia oleosa.

35 MS m/z (ESI) $[M-H]^{2-}$: 1184. (LC/MS-1)
 HRMS m/z (ESI) $[M-H]^{-}$: 2369.1162.
 Masa exacta calculada de $C_{109}H_{171}N_{19}O_{31}S_4$: 2369.1198.
 t_R =15.85 min. (HPLC)

40 Las condiciones analíticas para LC/MS-1 son las siguientes:

(LC/MS-1)
 Sistema de cromatografía líquida: LC1200 (Agilent Technologies)
 Espectrometría de masas: 6130A (Agilent Technologies)

45

Condiciones analíticas

Columna: Cartucho HT de resolución rápida
 Fase móvil A: 0,1% en volumen de ácido fórmico en agua destilada, para HPLC
 Fase móvil B: 0,1% en volumen de ácido fórmico en acetonitrilo, para HPLC
 Condiciones de gradiente: fase móvil B, % en volumen
 0-1,5 minutos: 20%-95%
 1,5-3,0 minutos: 95%
 Caudal: 0,5 ml/min
 Cantidad de inyección: 2,0 μ l
 Temperatura de la columna: 40° C

Las condiciones analíticas para LC/MS-2 son las siguientes:

60 (LC/MS-2)
 Sistema de cromatografía líquida: LC1260 Infinity II (Agilent Technologies)
 Espectrómetro de masas: 6130B (Agilent Technologies)

Condiciones analíticas

Columna: Cartucho HT de resolución rápida
 Fase móvil A: 0,1% en volumen de ácido fórmico en agua destilada, para HPLC

65

Fase móvil B: 0,1% en volumen de ácido fórmico en acetonitrilo, para HPLC
 Condiciones de gradiente: fase móvil B, % en volumen 0-1,5 min: 20%-95%
 1,5-3,0 minutos: 95%

Caudal: 0,5 ml/min

Cantidad de inyección: 2,0 µl

Temperatura de la columna: 40° C

Las condiciones analíticas para HRMS son las siguientes:

Sistema de cromatografía líquida: NexeraX2 (SHIMADZU CORPORATION)

Espectrómetro de masas: espectrómetro de masas LCMS-IT-TOF (SHIMADZU CORPORATION)

Condiciones analíticas

Fase móvil: metanol

Caudal: 0,1 ml/min

Cantidad de inyección: 2,0 µl

Las condiciones para la purificación mediante una columna ODS son las siguientes:

Condiciones para la purificación por una columna ODS

Columna: columna ODS YAMAZEN Hi-Flash (tamaño de columna M)

Caudal: 10 ml/min

Temperatura de la columna: temperatura ambiente

Longitud de onda de detección: 254 nm

Fase móvil A: 0,05% en volumen de TFA en H₂O

Fase móvil B: 0,05% en volumen de TFA en CH₃CN

Gradiente: fase móvil B, % en volumen

0-5 minutos: 5,0%

5-20 min: aumentado del 5% al 95%

20-25 min: 95%

Las condiciones analíticas para HPLC son las siguientes:

(HPLC)

Columna: COSMOSII, 5C18-AR-III, 4,6 mm DI x 150 mm

Caudal: 1,0 ml/min

Temperatura de la columna: 40° C

Longitud de onda de detección: 254 nm

Fase móvil A: 0,05% en volumen de TFA en H₂O

Fase móvil B: 0,05% en volumen de TFA en CH₃CN

Gradiente: fase móvil B, % en volumen

0-5 minutos: 5,0%

5-20 min: aumentado del 5% al 95%

20-25 min: 95%

(Ejemplo 14) Evaluación *in vitro* de la citotoxicidad del derivado peptídico

(I): Citotoxicidad, en células SKOV-3, células A549 y células L1210, de los compuestos de los Ejemplos 1 a 11, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1, el compuesto del Ejemplo de Referencia 12, el compuesto del Ejemplo de Referencia 14, el compuesto del Ejemplo de Referencia 16, y 2-((S)-1-(((2 S,3 R)-3-((S)-1-((3 R,4 S,5 S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanamido)-2-feniletil)-N-etiltiazol-4-carboxamida (en lo sucesivo denominado el compuesto del Ejemplo Comparativo) se midió usando el método MTS.

En la Tabla 5 se muestra la citotoxicidad de cada sustancia de prueba. En la Tabla 5, EC₅₀ significa una concentración eficaz del 50% y representa una concentración de un fármaco en la que se indica el 50% de la respuesta máxima del valor mínimo de la acción farmacológica mostrada por el fármaco; y SKOV-3 representa células SKOV-3, A549 representa célula A549 y L1210 representa célula L1210.

[Tabla 5]

Sustancia de prueba	EC ₅₀ (nmol/l)		
	SKOV-3	A549	L1210
Compuesto del Ejemplo 1	0.44	1.93	31.4
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 2	0.13	6.88	14.2
Compuesto del Ejemplo 3	1.05	1.22	6.96
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 4	0.85	0.83	28.7
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 5	0.56	0.81	11.7
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 6	0.22	1.94	17.23
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 7	4.67	1.74	28.4
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 8	0.09	1.75	4.74
Compuesto del Ejemplo 9	1.50	1.64	8.52
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 10	0.27	1.08	4.05
Compuesto del Ejemplo 11	0.37	1.31	5.61
Compuesto del Ejemplo de Referencia 1	>10	>10	>50
Compuesto del Ejemplo de Referencia 12	>10	>10	>50
Compuesto del Ejemplo de Referencia 14	>10	9.85	26.8
Compuesto del Ejemplo de Referencia 16	>10	>10	>50
Compuesto de Ejemplo Comparativo	0.55	0.74	6.51

Como se ve de los resultados de la Tabla 5, se indicó que los derivados peptídicos (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos tenían una alta citotoxicidad en una pluralidad de células cancerígenas.

(Ejemplo 15) Ensayo de permeación de membrana artificial paralela (PAMPA) de los derivados peptídicos (I)

La permeación de la membrana artificial de los compuestos de los Ejemplos 1, 3, 9 y 11, los Ejemplos ilustrativos 2, 4 a 8 y 10, el compuesto del Ejemplo de Referencia 1, el compuesto del Ejemplo de Referencia 12, el compuesto del Ejemplo de Referencia 14, el compuesto del Ejemplo de Referencia 16, y el compuesto del Ejemplo comparativo se evaluó usando el sistema de placas PAMPA prerrecubierto (Corning).

La sustancia de prueba se disolvió en DMSO para dar una concentración de 10 mmol/l, luego la mezcla se diluyó en PBS que contenía un 20% de metanol para dar una concentración de 200 µmol/l y la solución obtenida se usó como solución estándar. Se dejó reposar a temperatura ambiente un sistema de placa PAMPA prerrecubierto almacenado congelado durante treinta minutos o más. Posteriormente, se añadieron 320 µl de la solución estándar a una placa del lado del Donante del Sistema de Placas PAMPA prerrecubierto, y se añadieron 200 µl de PBS que contenía 20% de metanol a una placa lateral Aceptora. Se colocaron ambas placas para el sistema y se dejaron reposar las placas a temperatura ambiente durante cinco horas. El líquido de reacción de cada pocillo de las placas del lado Donante y del lado del aceptor se sometió a análisis LC/MS (en lo sucesivo, LC/MS-3), y se calculó la concentración de los compuestos en cada pocillo.

Las condiciones analíticas para LC/MS-3 son las siguientes:

Sistema de cromatografía líquida: Waters Acquity UPLC (Waters)
 Espectrómetro de masas: Detector Waters SQD (Waters)
 Columna: Ascentis Express C18, 2,7 µm, 2,1 mm DI x 20 mm (Sigma-Aldrich)
 Fase móvil A: 0,1% en volumen de solución acuosa de ácido fórmico
 Fase móvil B: acetonitrilo
 Caudal: 0,6 ml/min
 Gradiente: fase móvil B, % en volumen
 0,0-2,0 minutos: 3,0-100%
 2,0-2,4 minutos: 100%
 2,4-2,5 minutos: 100-3,0%

Usando la concentración obtenida de los compuestos en el líquido de reacción en cada pocillo, se calcularon los coeficientes de permeabilidad de la membrana (Pe) (cm/s) mediante la siguiente fórmula:

$$C_{\text{equilibrio}} = (CD \times VD - CA \times VA) / (VD - VA)$$

$$Pe = [- \ln (1 - CA / C_{\text{equilibrio}})] / S \times (1/VD + 1/VA) \times t$$

Cequilibrio: Concentración de equilibrio de los pocillos en las placas del lado Donante y del lado Aceptor
 CD: Concentración a las cinco horas de los pocillos en la placa del lado Donante (mmol/l)
 VD: Volumen de la solución estándar añadida a los pocillos en la placa del lado Donante (0.32 ml)
 CA: Concentración después de cinco horas de los pocillos en la placa del lado Aceptor (mmol/l)
 VA: volumen de PBS que contiene 20% de metanol añadido a los pocillos en la placa del lado Aceptor (0,2 ml)
 S: Superficie de la membrana (0,3 cm²)
 t: tiempo de reposo 18.000 s (= 5 horas)

En la Tabla 6 se muestra la permeación de la membrana artificial de cada sustancia de prueba.

[Tabla 6]

Sustancia de prueba	Coeficiente de permeabilidad de la membrana (10 ⁻⁶ cm/s)
Compuesto del Ejemplo 1	1.15
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 2	0.005
Compuesto del Ejemplo 3	1.14
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 4	0.01
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 5	0.01
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 6	N.D.
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 7	0.02
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 8	0.04
Compuesto del Ejemplo 9	0.08
Compuesto del Ejemplo Ilustrativo 10	0.30
Compuesto del Ejemplo 11	0.36
Compuesto del Ejemplo de Referencia 1	0.01
Compuesto del Ejemplo de Referencia 12	0.01
Compuesto del Ejemplo de Referencia 14	0.004
Compuesto del Ejemplo de Referencia 16	N.D.
Compuesto de Ejemplo Comparativo	1.68

En la Tabla 6, N.D. significa que no se pudo calcular el coeficiente de permeabilidad de la membrana debido a que la concentración del pocillo en la placa del lado aceptor es inferior al límite inferior de la cantidad determinada.

(Ejemplo 16) Evaluación *in vitro* para la citotoxicidad del conjugado que incluye el derivado peptídico (I):

Se midió la citotoxicidad del compuesto del Ejemplo 12 y del compuesto del Ejemplo 13 en células SKOV-3, células A549 y células L1210 usando el método MTS.

El compuesto del Ejemplo 12 es un conjugado que se obtiene conjugando folato como ligando de direccionamiento con el profármaco del compuesto del Ejemplo 11 mediante un método apropiado.

Un método de evaluación del compuesto del Ejemplo 12 es el siguiente: a cada célula que se cultiva en un medio que carece de folato, se la trata con el compuesto del Ejemplo 12 durante dos horas y luego las células se transfieren a un medio nuevo que carece del compuesto y se mantiene y cultivan continuamente durante 48 horas. Las células supervivientes después de 48 horas se contaron usando el método MTS.

El compuesto del Ejemplo 13 es un conjugado que se obtiene conjugando folato como ligando de direccionamiento con el profármaco del compuesto del Ejemplo 3 mediante un método apropiado.

Un método de evaluación del compuesto del Ejemplo 13 es el siguiente: a cada célula que se cultiva en un medio que carece de folato, se trata con el compuesto del Ejemplo 13 durante seis horas y luego las células se transfieren a un medio nuevo que carece del compuesto y se mantienen y cultivan continuamente durante 48 horas. Las células supervivientes después de 48 horas se contaron usando el método MTS.

Se ha informado que las células SKOV-3 y las células L1210 expresan aceptores de folato en un nivel de expresión de medio a alto en su superficie celular. Se ha informado que las células A549 expresan aceptores de folato en un nivel de expresión bajo o un nivel indetectable en su superficie celular (Analytical Biochemistry, (2005), 338: págs. 284-293; Molecular Cancer Therapeutics, (2015), 14: págs.1605 a 13).

En la Tabla 7 se muestra la citotoxicidad de cada sustancia de prueba. En la Tabla 7, EC₅₀ significa una concentración eficaz del 50% y representa una concentración de un fármaco en la que se indica el 50% de la

respuesta máxima del valor mínimo, de la acción farmacológica que muestra el fármaco; y SKOV-3 representa célula SKOV-3, A549 representa célula A549 y L1210 representa célula L1210.

[Tabla 7]

Sustancia de prueba	EC ₅₀ (nmol/l)		
	SKOV-3	A549	L1210
Compuesto del Ejemplo 12	2.00	>200	17.8
Compuesto del Ejemplo 13	19.4	>300	36,0

Como se ve en los resultados de la Tabla 7, se indicó que los compuestos que incluían los derivados peptídicos (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos tienen alta citotoxicidad selectivamente en células cancerígenas en las que los receptores de folato se expresan en la superficie celular.

Cada derivado peptídico (I) tiene varios grupos funcionales en su extremo C-terminal. Por tanto, se indicó que el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo puede conjugarse con un ligando de direccionamiento o un polímero mediante un método apropiado para transformarlo en un conjugado.

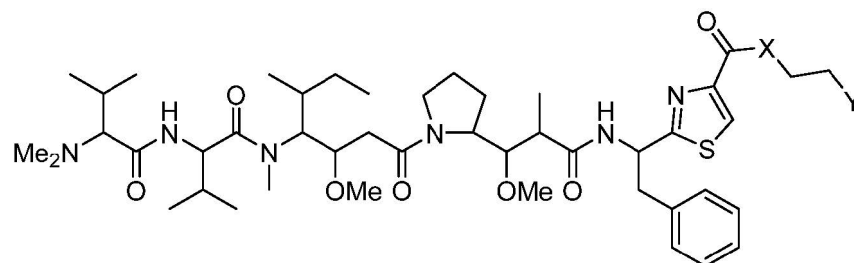
Además, se indicó que el conjugado obtenido mediante la conjugación del derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo y un ligando de direccionamiento mediante un método apropiado tiene alta citotoxicidad selectivamente en ciertas células con efecto del ligando de direccionamiento.

APLICABILIDAD INDUSTRIAL

Los derivados peptídicos (I) o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de la presente invención tienen una alta citotoxicidad y, por lo tanto, pueden usarse como agentes citotóxicos. Además, los derivados peptídicos (I) de la presente invención tienen varios grupos funcionales en el extremo C-terminal. Por lo tanto, pueden conjugarse el derivado peptídico (I) o un profármaco del mismo y un ligando de direccionamiento o un polímero. Los conjugados resultantes o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden usarse como agentes citotóxicos.

REIVINDICACIONES

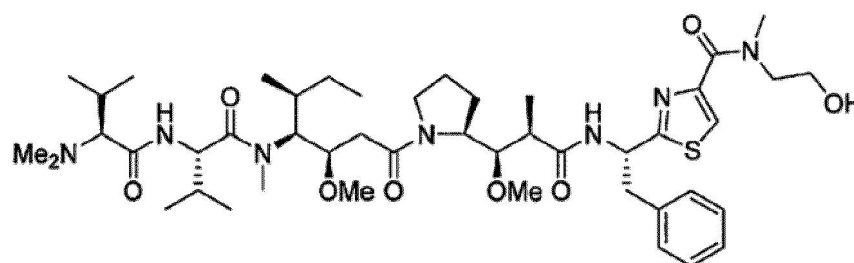
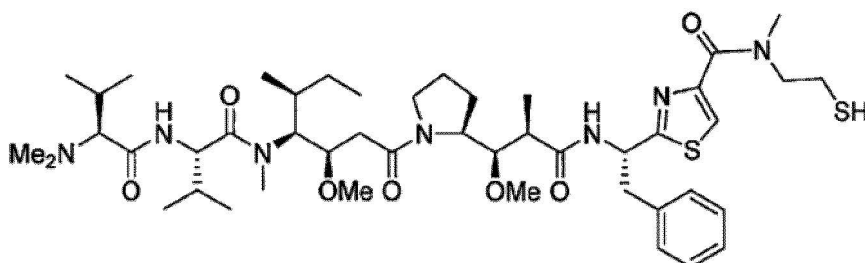
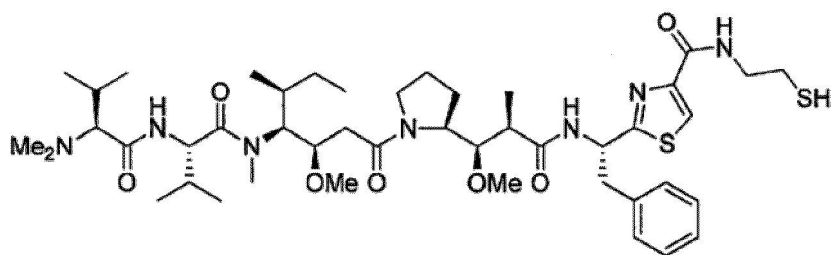
1. Un derivado peptídico representado por la Fórmula (I) a continuación o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



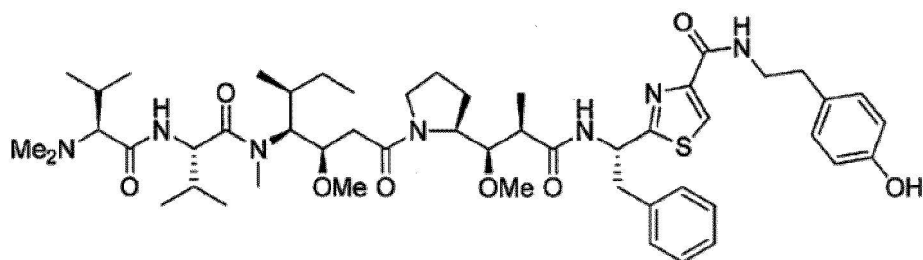
(I)

en donde X representa un átomo de oxígeno o NR, Y representa NH₂, N(Me)H, SH, OH o fenilo en el que cualquiera de los átomos de hidrógeno se reemplaza por NH₂ u OH, y R representa un átomo de hidrógeno o alquilo C₁- C₃, siempre que se excluyan el derivado en el que X es NH e Y es NH₂, y el derivado en el que X es NH e Y es N(Me)H,

en donde el derivado peptídico se selecciona del grupo que consiste en los siguientes compuestos.



y



2. El derivado peptídico o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el grupo hidroxilo del derivado peptídico está esterificado, carbonatado, carbamado, alquilado, fosforilado o borado.

3. El derivado peptídico o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el grupo sulfhidrilo del derivado peptídico forma el enlace disulfuro.

4. Un conjugado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende: el derivado peptídico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un ligando de direccionamiento o un polímero.

5. El derivado peptídico o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso como agente citotóxico.

6. El conjugado o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 4 para su uso como agente citotóxico.