

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 854 991**

51 Int. Cl.:

A61K 39/385 (2006.01)
A61K 47/54 (2007.01)
A61K 47/64 (2007.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61K 47/61 (2007.01)
C07K 7/62 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.09.2017 PCT/GB2017/052699**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.03.2018 WO18051085**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2017 E 17771531 (5)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2020 EP 3512544**

54 Título: **Compuestos peptídicos y usos terapéuticos de los mismos**

30 Prioridad:

13.09.2016 GB 201615560
04.05.2017 GB 201707076

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.09.2021

73 Titular/es:

CENTAURI THERAPEUTICS LIMITED (100.0%)
1st Floor Thavies Inn House, 3-4 Holborn Circus
London EC1N 2HA, GB

72 Inventor/es:

GLOSSOP, MELANIE;
WATSON, CHRISTINE y
WESTBY, MICHAEL

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 854 991 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos peptídicos y usos terapéuticos de los mismos

5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención se refiere a compuestos novedosos con la capacidad de ligar una respuesta inmunitaria a un patógeno, al uso de dichos compuestos en una enfermedad o trastorno mediado y/o causado por un agente infeccioso, a composiciones que contienen dichos compuestos, a procesos para su preparación y a intermedios novedosos usados en dicho proceso.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Existe la necesidad de encontrar formas novedosas de reclutar el sistema inmunitario de un individuo para combatir la enfermedad. El sistema inmunitario humano inspecciona continuamente el cuerpo en busca de señales extrañas para identificar patógenos potencialmente dañinos o células humanas mutadas (que podrían convertirse en una causa de crecimiento canceroso) y orientarlos a su eliminación. Existen anticuerpos naturales que se pueden reclutar para dichos patógenos o células humanas mutadas para impulsar al sistema inmunitario a eliminar la amenaza. La invención detalla el uso de un conjunto novedoso de moléculas ligadoras que están diseñadas para atraer estos anticuerpos naturales de tal forma que puedan maximizar la eficacia del reclutamiento inmunitario al tiempo que se minimizan los posibles efectos secundarios.

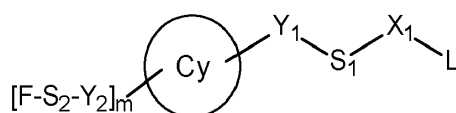
Existe una necesidad urgente de identificar formas novedosas de tratar infecciones bacterianas, virales y fúngicas. La resistencia a los medicamentos se está convirtiendo en una importante amenaza para la salud mundial. Por ejemplo, más de 2 millones de personas en los Estados Unidos estaban infectadas con bacterias resistentes a al menos una clase de antibióticos (Centers for Disease Control and Prevention, 2013). En general, la identificación de nuevos antibióticos orientados a cepas resistentes de organismos gramnegativos ha sido particularmente difícil, en parte debido a la estrategia compleja y en evolución que estas bacterias usan para prevenir la acción antibiótica (por ejemplo, producción de enzimas inactivadoras de antibióticos, capacidad de transferencia de resistencia entre cepas, bombas de eflujo para prevenir la acción intracelular) junto con sus membranas celulares naturalmente impermeables que hacen difícil identificar fármacos que penetren en la célula e inhiban dianas clave. Además, muchas cepas utilizan múltiples mecanismos de resistencia que dificultan su superación por un solo antibiótico.

Se divulgó un enfoque innovador para el tratamiento de enfermedades infecciosas en el documento WO 01/45734, que describe un conjunto de ligadores de inmunidad novedosos. Los ejemplos de dichos restos ligadores incluyen compuestos o agentes que son reconocidos por el sistema inmunitario de dicho individuo como extraños y que, por lo tanto, desencadenarían una respuesta inmunitaria. Uno de tales ejemplos es una molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano (es decir, galactosil-alfa-1,3-galactosil-beta-1,4-N-acetilglucosamina) que da como resultado el redireccionamiento del anticuerpo anti-alfa-galactosilo sérico humano natural. El efecto resultante de dicha molécula ligadora de inmunidad es que la respuesta inmunitaria del individuo se desvía de la respuesta inmunitaria preexistente de dicho individuo hacia la diana, es decir, el patógeno.

Por lo tanto, existe la necesidad de moléculas ligadoras de inmunidad alternativas para el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado y/o causado por un agente infeccioso.

RESUMEN DE LA INVENCION

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

en la que:

- L representa un resto de unión seleccionado de un péptido antimicrobiano catiónico ligado a X_1 por una amina;
 S_1 representa un enlace o un espaciador seleccionado de un grupo $-(CH_2)_a-$ o $-(CH_2)_b-(CH_2-CH_2-O)_c-(CH_2)_d$, en el que uno a cinco de dichos grupos $-CH_2-$ pueden estar opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$;
 a representa un número entero seleccionado de 1 a 40;
 b representa un número entero seleccionado de 0 a 25;
 c representa un número entero seleccionado de 1 a 20;

- d representa un número entero seleccionado de 1 a 15;
 S_2 representa un espaciador seleccionado de un grupo $-(CH_2)_e-$ o $-(CH_2)_f-(CH_2-CH_2-O)_g-(CH_2)_h-$, en el que uno a tres de dichos grupos $-CH_2-$ pueden estar opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$;
 e representa un número entero seleccionado de 1 a 20;
 5 f representa un número entero seleccionado de 1 a 10;
 g representa un número entero seleccionado de 1 a 15;
 h representa un número entero seleccionado de 1 a 5;
 X_1 representa un enlace o $-C(O)-$;
 Y_1 e Y_2 representan independientemente un enlace, grupo $-O-$, $-S-$, $-NH-$, $-C(O)-$, $-NHC(O)-$ o $-C(O)NH-$;
 10 F representa una molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano;
 m representa un número entero seleccionado de 1 a 5; y
 Cy representa fenilo, bifenilo o trifenilo, de tal modo que cuando Cy representa bifenilo o trifenilo, dicho grupo $-Y_1-S_1-X_1-L$ puede estar presente en cualquiera de dichos anillos fenilo y dicho grupo o grupos $[F-S_2-Y_2]_m$ pueden estar presentes en cualquiera de dichos anillos fenilo.

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

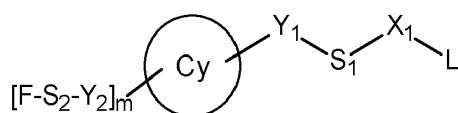
Figura 1: Desplazamiento de DPMB unida a LPS de *E. coli* para 'PMB_std', 'PMB_nona' y Ejemplo 1. El porcentaje de intensidad de fluorescencia se trazó en función de la concentración del compuesto de prueba. La intensidad de fluorescencia del 100 % se definió por el control positivo de DPMB + LPS. La intensidad de fluorescencia del 0 % se definió mediante un control negativo de DPMB + agua. Las muestras se procesaron por triplicado para 'PMB_std'. Las muestras se procesaron por duplicado para 'PMB_nona' y el Ejemplo 1. Las barras de error representan DE.

Figura 2: Desplazamiento de DPMB unido a LPS de *E. coli* o LPS de *P. aeruginosa*. El porcentaje de intensidad de fluorescencia se trazó en función de la concentración del compuesto de prueba. La intensidad de fluorescencia del 100 % se definió por el control positivo de DPMB + LPS. La intensidad de fluorescencia del 0 % se definió mediante un control negativo de DPMB + agua. Las muestras se procesaron por triplicado para 'PMB_std' y 'PMB_int'. Las muestras se procesaron por duplicado para 'PMB_nona' y el Ejemplo 1. Las barras de error representan DE.

30 **Figura 3:** Resultados de citometría de flujo para el reclutamiento de C3b del suero humano a la superficie de *E. coli* para los Ejemplos 4, 5, 6, 7 y 9.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

35 Según un aspecto particular de la invención que puede mencionarse, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



40 en la que:

- L representa un resto de unión seleccionado de un péptido antimicrobiano catiónico ligado a X_1 por una amina;
 S_1 representa un enlace o un espaciador seleccionado de un grupo $-(CH_2)_a-$ o $-(CH_2)_b-(CH_2-CH_2-O)_c-(CH_2)_d$, en el que uno o dos de dichos grupos $-CH_2-$ pueden estar opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$;
 45 a representa un número entero seleccionado de 1 a 15;
 b representa un número entero seleccionado de 0 a 5;
 c representa un número entero seleccionado de 1 a 20;
 d representa un número entero seleccionado de 1 a 5;
 S_2 representa un espaciador seleccionado de un grupo $-(CH_2)_e-$ o $-(CH_2)_f-(CH_2-CH_2-O)_g-(CH_2)_h-$, en el que uno o dos de dichos grupos $-CH_2-$ pueden estar opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$;
 50 e representa un número entero seleccionado de 1 a 15;
 f representa un número entero seleccionado de 1 a 10;
 g representa un número entero seleccionado de 1 a 15;
 h representa un número entero seleccionado de 1 a 5;
 55 X_1 representa un enlace o $-C(O)-$;
 Y_1 e Y_2 representan independientemente un enlace, grupo $-O-$, $-S-$, $-NH-$, $-C(O)-$, $-NHC(O)-$ o $-C(O)NH-$;
 F representa una molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano;
 m representa un número entero seleccionado de 1 a 5; y
 Cy representa fenilo, bifenilo o trifenilo, de tal modo que cuando Cy representa bifenilo o trifenilo, dicho grupo $-Y_1-S_1-X_1-L$ puede estar presente en cualquiera de dichos anillos fenilo y dicho grupo o grupos $[F-S_2-Y_2]_m$ pueden estar

presentes en cualquiera de dichos anillos fenilo.

La invención comprende un conjugado de un péptido catiónico (que se une específicamente a bacterias) y la una o más unidades de la molécula de carbohidrato capaces de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano (es decir, trisacárido alfa-gal) conectados a través de un ligador. Un ejemplo de un péptido catiónico es la polimixina B (o nonapéptido de polimixina, colistina o un derivado de la misma). Esta familia de péptidos catiónicos se une al lípido A en la superficie celular bacteriana y, cuando se conjuga con ligadores alfa-gal, presentará alfa-gal, lo que da como resultado el reclutamiento de anticuerpos anti-Gal y la destrucción celular. Es probable que las tasas de resistencia sean bajas, ya que el lípido A es importante para la supervivencia de las bacterias gramnegativas. De hecho, incluso las cepas resistentes a la polimixina retienen los sitios de unión para los péptidos catiónicos y, como tal, el conjugado péptido-alfa-Gal. Por tanto, la presente invención puede retener su eficacia incluso contra estas cepas.

Claramente, las nuevas terapias innovadoras que funcionan a través de mecanismos novedosos, y no se ven afectadas por mecanismos de resistencia a antibióticos, son particularmente atractivas. La solución proporcionada por la invención, es decir, la combinación de la capacidad de unión bacteriana de amplio espectro de un péptido catiónico con la capacidad única de reclutar específicamente anticuerpos anti-Gal de origen natural a la superficie bacteriana, y redireccionar estos anticuerpos para promover la activación de complemento, fagocitosis y destrucción es muy atractiva. La invención tiene el potencial de proporcionar una terapia novedosa para infecciones bacterianas con actividad de amplio espectro. La eficacia que es independiente de los mecanismos de resistencia a los antibióticos tiene el potencial de ser eficaz contra cepas multifarmacoresistentes. La invención puede funcionar como un agente único, así como con un tratamiento estándar de cuidado para reducir la dosis y la duración de la terapia.

En una realización, S₁ representa: un enlace o un espaciador seleccionado de:

-(CH₂)_a-, en el que uno a cinco de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅, -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-, -(CH₂)₂-, -CH₂-CONH-(CH₂)₂-, -CH₂-NHCO-(CH₂)₄-CONH-(CH₂)₂- o -(CH₂)₆-); o -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d-, en el que uno a cinco de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-, -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅- or -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-).

En una realización adicional, S₁ representa un enlace o un espaciador seleccionado de -(CH₂)_a-, en el que uno o dos de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-, -(CH₂)₂-, -CH₂-CONH-(CH₂)₂-, -CH₂-NHCO-(CH₂)₄-CONH-(CH₂)₂- or -(CH₂)₆-) or -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d-, en el que uno o dos de dichos grupos -CH₂ están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-).

En una realización adicional, S₁ representa un enlace o un espaciador seleccionado de -(CH₂)_a-, en el que uno o dos de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅ o -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d-, en el que uno o dos de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-).

En una realización adicional más, S₁ representa: un enlace o un espaciador seleccionado de:

-(CH₂)_a-, en el que uno o cinco de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅ o -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-); o -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d-, en el que dos de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-, -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅- o -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-).

En una realización, S₁ representa un enlace. En una realización alternativa, S₁ representa -(CH₂)_a-, en el que uno o cinco de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅ o -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-). En una realización alternativa, S₁ representa -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d-, en el que dos de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-, -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅- o -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-).

En una realización adicional, S₁ representa un espaciador seleccionado de: -(CH₂)_a-, en el que uno de dichos grupos -CH₂- está sustituido por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅); o -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-).

En una realización adicional, S₁ representa un espaciador seleccionado de: -(CH₂)_a-, en el que uno de dichos grupos -CH₂- está sustituido por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅).

Se apreciará que a, b, c, d, e, f, g y h se seleccionan para mantener una longitud de ligador adecuada entre los grupos

F y L. Los ejemplos de longitudes de ligador adecuadas entre F y L varían de aproximadamente 5Å a aproximadamente 50Å o más de longitud, de aproximadamente 6Å a aproximadamente 45Å, de aproximadamente 7Å a aproximadamente 40Å, de aproximadamente 8Å a aproximadamente 35Å, de aproximadamente 9Å a aproximadamente 30Å, de aproximadamente 10Å a aproximadamente 25Å, de aproximadamente 11Å a aproximadamente 20Å, de aproximadamente 12Å a aproximadamente 15Å. Por tanto, en una realización, a, b, c, d, e, f, g y h representan un número entero total de no más de 30, tal como entre 5 y 30, tal como entre 7 y 29.

En una realización adicional, a representa un número entero seleccionado de 1 a 35. En una realización adicional, a representa un número entero seleccionado de 1 a 10. En una realización adicional, a representa un número entero seleccionado de 2 a 13. En una realización adicional más, a representa un número entero seleccionado de 2, 4, 6, 9 u 11. En una realización adicional más, a representa un número entero seleccionado de 10 a 35. En una realización adicional más, a representa un número entero seleccionado de 11 o 35. En aún una realización adicional más, a representa un número entero seleccionado de 11.

15 En una realización, b representa un número entero seleccionado de 0 a 24. En una realización adicional, b representa un número entero seleccionado de 0 a 3. En una realización adicional, b representa un número entero seleccionado de 0, 2 o 3. En una realización adicional más, b representa un número entero seleccionado de 0 o 24. En una realización adicional más, b representa un número entero seleccionado de 0.

20 En una realización, c representa un número entero seleccionado de 1 a 15. En una realización adicional, c representa un número entero seleccionado de 1 a 12. En una realización adicional más, c representa un número entero seleccionado de 1 a 10. En una realización adicional más, c representa un número entero seleccionado de 8.

En una realización, d representa un número entero seleccionado de 1 a 3. En una realización adicional, d representa un número entero seleccionado de 1 o 2. En una realización adicional más, d representa un número entero seleccionado de 2.

En una realización, Y_1 representa $-C(O)NH-$ o $-C(O)-$. En una realización adicional, Y_1 representa $-C(O)NH-$.

30 En una realización, S_2 representa un separador seleccionado de:

$-(CH_2)_e-$, en el que uno a tres de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-CH_2-$, $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-CH_2-$, $-(CH_2)_3-NHCO-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_4-CONH-CH_2-$ o $-(CH_2)_3-NH-CH_2-$); o

35 $-(CH_2)_f-(CH_2-CH_2-O)_g-(CH_2)_h-$, en el que uno a tres de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2CH_2O)_4-(CH_2)_2-NHCO-CH_2-$, $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_2-(CH_2CH_2O)_4-NHCO-CH_2-$ o $-(CH_2)_4-NHCO-(CH_2)_2-(CH_2CH_2O)_4-NHCO-CH_2-$).

En una realización adicional, S_2 representa un separador seleccionado de:

40 $-(CH_2)_e-$, en el que uno o dos de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-CH_2-$, $-(CH_2)_3-NHCO-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_4-CONH-CH_2-$ o $-(CH_2)_3-NH-CH_2-$); o

45 $-(CH_2)_f-(CH_2-CH_2-O)_g-(CH_2)_h-$, en el que uno o dos de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_2-(CH_2CH_2O)_4-NHCO-CH_2-$ or $-(CH_2)_4-NHCO-(CH_2)_2-(CH_2CH_2O)_4-NHCO-CH_2-$).

En una realización adicional, S_2 representa un espaciador seleccionado de $-(CH_2)_e-$, en el que uno o dos de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-C(O)NH-$ o $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-CH_2-$).

50 En una realización adicional, S_2 representa un separador seleccionado de:

$-(CH_2)_e-$, en el que uno o tres de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-CH_2-$ o $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-CH_2-$); o

55 $-(CH_2)_f-(CH_2-CH_2-O)_g-(CH_2)_h-$, en el que dos de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2CH_2O)_4-(CH_2)_2-NHCO-CH_2-$).

En una realización, S_2 representa un espaciador seleccionado de $-(CH_2)_e-$, en el que uno o tres de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-CH_2-$ o $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-CH_2-$). En una realización alternativa, S_2 representa un espaciador seleccionado de $-(CH_2)_f-(CH_2-CH_2-O)_g-(CH_2)_h-$, en el que dos de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2CH_2O)_4-(CH_2)_2-NHCO-CH_2-$).

60 En una realización, S_2 representa un espaciador seleccionado de $-(CH_2)_e-$, en el que tres de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-CH_2-$).

65 En una realización, S_2 representa un espaciador seleccionado de $-(CH_2)_e-$, en el que tres de dichos grupos $-CH_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-NHC(O)-$ (tal como $-(CH_2)_3-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-(CH_2)_5-NHCO-CH_2-$).

En una realización, e representa un número entero seleccionado de 1 a 17. En una realización adicional, e representa un número entero seleccionado de 1 a 10. En una realización adicional, e representa un número entero seleccionado de 4 a 10. En una realización adicional más, e representa un número entero seleccionado de 4, 5 o 10. En aún una realización adicional más, e representa un número entero seleccionado de 5 o 17. En aún una realización adicional más, e representa un número entero seleccionado de 5. En aún una realización adicional más, e representa un número entero seleccionado de 17.

En una realización, f representa un número entero seleccionado de 1 a 8. En una realización adicional, f representa un número entero seleccionado de 2 a 6. En una realización adicional más, f representa un número entero seleccionado de 6. En una realización adicional más, f representa un número entero seleccionado de 4.

En una realización, g representa un número entero seleccionado de 1 a 5. En una realización adicional, g representa un número entero seleccionado de 1 a 4. En una realización adicional más, g representa un número entero seleccionado de 4.

En una realización, h representa un número entero seleccionado de 1 a 4. En una realización adicional, h representa un número entero seleccionado de 1 a 3. En una realización adicional, h representa un número entero seleccionado de 1 o 2. En una realización adicional más, h representa un número entero seleccionado de 2. En una realización adicional más, h representa un número entero seleccionado de 4.

En una realización, X₁ representa -C(O)-.

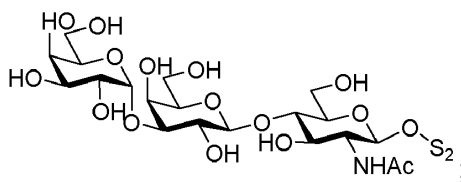
En una realización, Y₂ representa -O-.

En una realización, m representa un número entero seleccionado de 1 a 4. En una realización adicional, m representa un número entero seleccionado de 1 a 3. En una realización adicional más, m representa un número entero seleccionado de 1, 2 o 3. En una realización adicional más, m representa un número entero seleccionado de 1 o 3. En una realización adicional más, m representa un número entero seleccionado de 1 o 2. En una realización adicional más, m representa un número entero seleccionado de 1.

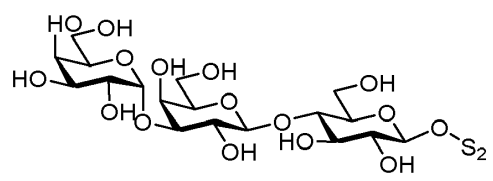
En una realización, Cy representa fenilo o bifenilo. En una realización adicional, Cy representa bifenilo.

Las referencias en el presente documento al término "molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano" incluyen restos de azúcar (es decir, carbohidratos) capaces de unirse a un componente de respuesta inmunitaria (es decir, un anticuerpo anti-alfa-galactosilo) de dicho ser humano y, en consecuencia, provocar una respuesta inmunitaria en un ser humano. Los ejemplos de tales moléculas de carbohidratos incluyen compuestos de alfa-galactosilo y derivados modificados de los mismos. Otros ejemplos de moléculas de carbohidratos adecuadas incluyen los epítomos de alfa-gal enumerados en el documento US 2012/0003251 como adecuados para su uso en la orientación selectiva y la destrucción de células tumorales. En una realización, F se selecciona de galactosil-alfa-1,3-galactosil-beta-1,4-N-acetilglucosamina, alfa-1,3-galactobiosa, alfa-1,3-beta-1,4-galactotriosa o galilipentasacárido.

En una realización particular, F tiene una estructura como se muestra en una de las siguientes fórmulas:

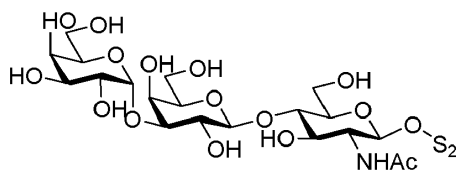


o



en las que S₂ se refiere al punto de unión al grupo S₂.

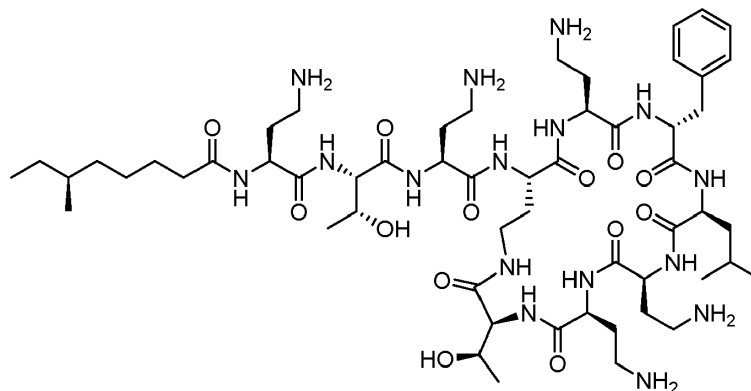
En una realización particular, F tiene una estructura como se muestra en la siguiente fórmula:



en la que S₂ se refiere al punto de unión al grupo S₂.

- 5 Las referencias en el presente documento al término "resto de unión" se refieren a cualquier resto adecuado que es capaz de unirse a un componente adicional. La invención requiere que el resto de unión sea un péptido antimicrobiano catiónico ligado a X₁ por una amina.

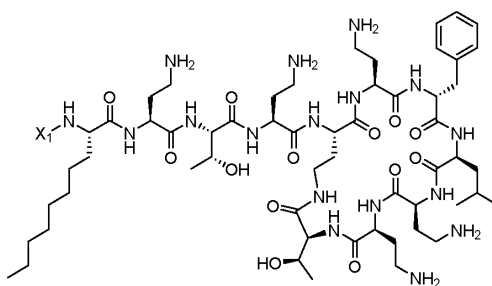
- En una realización, L representa un lipopéptido. En una realización adicional, el lipopéptido comprende polimixina o un derivado de la misma. Se describen ejemplos de polimixina y derivados de la misma adecuados en Velkov et al (2016) Future Med Chem 8(10), 1017-1025. En una realización, la polimixina o un derivado de la misma se selecciona de polimixina B, polimixina B₂, nonapéptido de polimixina, colistina A, colistina B, CB-182.204 (Cubist Pharmaceuticals), 5a (Pfizer), 5x (Pfizer), CA 14 (Cantab Antinfectives), CA824 (Cantab Antiinfectives), NAB739 (Northern Antibiotics), NAB741 (Northern Antibiotics), NAB7061 (Northern Antibiotics), 38 (Universidad de Queensland), FADDI-002 (Universidad Monash), FADDI-100 (Universidad Monash) o derivados de los mismos. En una realización adicional, la polimixina es polimixina B o derivado que tiene la siguiente estructura:



- 20 En una realización adicional, el derivado de polimixina B comprende las siguientes estructuras (donde se muestra el punto de unión con X₁):

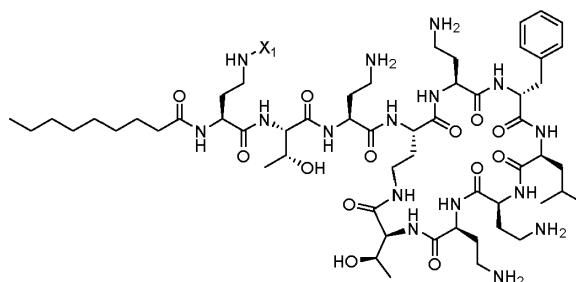
H₂N-[L-octilGly]-Dab-Thr-Dab-Dab*-Dab-f D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*

25

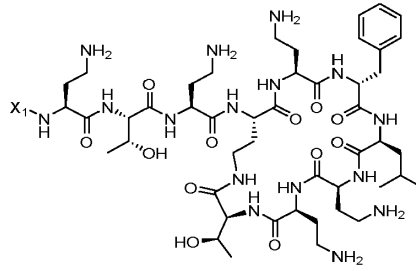


nonanamida-Dab(NH₂)-Thr-Dab-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*

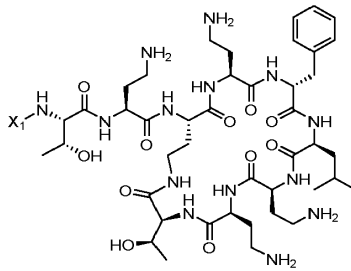
30



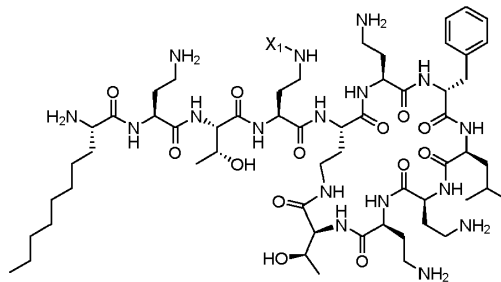
H₂N-Dab-Thr-Dab-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*



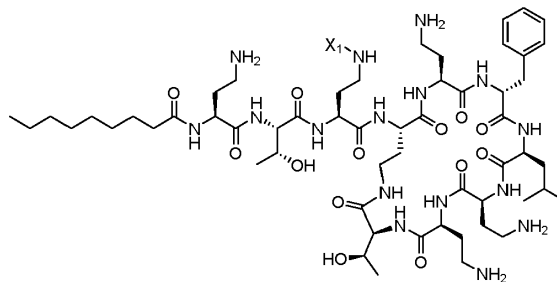
5 H₂N-Thr-Dab-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*



10 H₂N-[L-octilGly]-Dab-Thr-Dab(NH₂)-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*

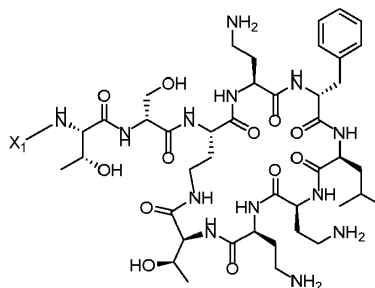


nonanamida-Dab-Thr-Dab(NH₂)-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*



15

H₂N-Thr-[D-Ser]-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*



20

Se apreciará que los péptidos antimicrobianos catiónicos de la presente invención se configurarán para unirse a un

patógeno o agente infeccioso específico.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que comprende un compuesto de los Ejemplos 1-25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

En una realización adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que comprende un compuesto de los Ejemplos 1-14 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización adicional más, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que comprende un compuesto de los Ejemplos 1-10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En aún una realización adicional más, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que comprende un compuesto de los Ejemplos 4, 6, 9, 17 o 22 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En aún una realización adicional más, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que comprende un compuesto del Ejemplo 17 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que comprende un compuesto de los Ejemplos 1-25 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es la base libre o la sal de trifluoroacetato de un compuesto de los Ejemplos 1-14. En una realización adicional más, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es la base libre o la sal de trifluoroacetato de un compuesto de los Ejemplos 1-10. En aún una realización adicional más, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es la base libre o la sal de trifluoroacetato de un compuesto de los Ejemplos 4, 6, 9, 17 o 22. En aún una realización adicional más, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es la base libre o la sal de trifluoroacetato de un compuesto del Ejemplo 17.

Una referencia a un compuesto de fórmula (I) y subgrupos del mismo también incluye formas iónicas, sales, solvatos, isómeros (incluyendo isómeros geométricos y estereoquímicos), tautómeros, N-óxidos, ésteres, isótopos y formas protegidas del mismo, por ejemplo, como se discute más adelante; preferiblemente, las sales o tautómeros o isómeros o N-óxidos o solvatos del mismo; y más preferiblemente, las sales o tautómeros o N-óxidos o solvatos del mismo, incluso más preferiblemente las sales o tautómeros o solvatos del mismo. En lo sucesivo, los compuestos y sus formas iónicas, sales, solvatos, isómeros (incluyendo los isómeros geométricos y estereoquímicos), tautómeros, N-óxidos, ésteres, isótopos y formas protegidas de los mismos, tal como se definen en cualquier aspecto de la invención (excepto los compuestos intermedios en procesos químicos) se denominan "compuestos de la invención".

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en forma de sales, por ejemplo, sales de adición de ácido o, en ciertos casos, sales de bases orgánicas e inorgánicas tales como sales carboxilato, sulfonato y fosfato. Todas estas sales están dentro del alcance de esta invención, y las referencias a compuestos de fórmula (I) incluyen las formas de sal de los compuestos.

Las sales de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene un resto básico mediante procedimientos químicos convencionales tales como los procedimientos descritos en *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Tapa dura, 388 páginas, agosto de 2002. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con la base o ácido apropiados en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se usan medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

Las sales de adición de ácidos (monosales o disales) pueden formarse con una amplia diversidad de ácidos, tanto inorgánicos como orgánicos. Ejemplos de sales de adición de ácido incluyen mono- o di-sales formadas con un ácido seleccionado de entre el grupo que consiste en acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), L-aspártico, bencenosulfónico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+)alcanfórico, alcanforsulfónico, (+)-(1S)-camfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxi-etanosulfónico, fórmico, fumárico, galacárico, gentísico, glucoheptónico, D-glucónico, glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico), α -oxoglutarico, glicólico, hipúrico, ácidos hidrohálicos (por ejemplo, bromhídrico, clorhídrico, hidriódico), isetiónico, láctico (por ejemplo, (+)-L-láctico, (\pm)-DL-láctico), lactobiónico, maleico, málico, (-)-L-málico, malónico, (\pm)-DL-mandélico, metanosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, 1-hidroxi-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, orótico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, pirúvico, L-piroglutámico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebáico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, (+)-L-tartárico, tiocianico, p-toluenosulfónico, undecilénico y ácidos valéricos, así como aminoácidos acilados y resinas de intercambio catiónico.

60

Un grupo particular de sales consiste en sales formadas a partir de ácidos acético, clorhídrico, yodhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, cítrico, láctico, succínico, maleico, málico, isetiónico, fumárico, bencenosulfónico, toluenosulfónico, metanosulfónico (mesilato), etanosulfónico, naftalenosulfónico, valérico, acético, propanoico, butanoico, malónico, glucurónico y lactobiónico. Una sal particular es la sal clorhidrato. Otra sal particular es la sal hidrogenosulfato, también conocida como sal hemisulfato.

65

Quando los compuestos de la fórmula (I) contienen una función amina, estos pueden formar sales de amonio cuaternario, por ejemplo, mediante reacción con un agente alquilante según procedimientos bien conocidos por el experto. Tales compuestos de amonio cuaternario se encuentran dentro del alcance de la fórmula (I).

- 5 Los compuestos de la invención pueden existir como monosales o disales dependiendo del pKa del ácido a partir del cual se forma la sal.

Las formas salinas de los compuestos de la invención son típicamente sales farmacéuticamente aceptables, y se discuten ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge et al., 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts,"
10 J. Pharm. Sci., vol. 66, págs. 1 a 19. Sin embargo, las sales que no son farmacéuticamente aceptables también pueden prepararse como formas intermedias que después pueden convertirse en sales farmacéuticamente aceptables. Dichas formas de sales no farmacéuticamente aceptables, que pueden ser útiles, por ejemplo, en la purificación o separación de los compuestos de la invención, también forman parte de la invención.

- 15 Los expertos en la materia de la química orgánica apreciarán que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que se hacen reaccionar o a partir de los cuales precipitan o cristalizan. Estos complejos son conocidos como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como "hidrato". Los solvatos farmacéuticamente aceptables del compuesto de la invención están dentro del alcance de la invención.

- 20 Los compuestos de fórmula (I) que contienen una función amina también pueden formar N-óxidos. Una referencia en el presente documento a un compuesto de la fórmula (I) que contiene una función amina también incluye el N-óxido.

Quando un compuesto contiene varias funciones amina, uno o más de un átomo de nitrógeno pueden oxidarse para formar un N-óxido. Son ejemplos particulares de N-óxidos los N-óxidos de una amina terciaria o un átomo de nitrógeno

- 25 de un heterociclo que contiene nitrógeno.

Los N-óxidos se pueden formar mediante el tratamiento de la amina correspondiente con un agente oxidante tal como peróxido de hidrógeno o un perácido (por ejemplo, un ácido peroxicarboxílico), véase, por ejemplo, Advanced Organic Chemistry, por Jerry March, 4ª edición, Wiley Interscience, páginas. Más particularmente, los N-óxidos se pueden
30 elaborar mediante el procedimiento de L. W. Deady (Syn. Comm. 1977, 7, 509-514) en el que el compuesto de amina se hace reaccionar con ácido *m*-cloroperoxibenzoico (mCPBA), por ejemplo, en un solvente inerte tal como diclorometano.

- Se apreciará por los expertos en la materia que ciertos derivados protegidos de compuestos de fórmula (I), que pueden
35 elaborarse antes de un paso de desprotección final, pueden no poseer actividad farmacológica como tales, pero, en ciertos casos, pueden administrarse por vía oral o parenteral y después de ello metabolizarse en el cuerpo para formar compuestos de la invención que son farmacológicamente activos. Por lo tanto, tales derivados pueden describirse como "profármacos". Todos tales solvatos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención están incluidos dentro del alcance de la invención. Se describen ejemplos de funcionalidad profármaco adecuada para los
40 compuestos de la presente invención en Drugs of Today, Volumen 19, Número 9, 1983, pág. 499-538 y en Topics in Chemistry, Capítulo 31, pág. 306-316 y en "Design of Prodrugs" por H. Bundgaard, Elsevier, 1985, Capítulo 1. Además, los expertos en la materia apreciarán que ciertos restos, conocidos por los expertos en la materia como "prorrestos", por ejemplo, como describe H. Bundgaard en "Design of Prodrugs", pueden colocarse en funcionalidades apropiadas cuando tales funcionalidades están presentes dentro de los compuestos de la invención.

- 45 También se incluyen dentro del alcance del compuesto y diversos sales de la invención los polimorfos del mismo.

- Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en una serie de formas isoméricas geométricas diferentes, y las formas tautoméricas y las referencias a los compuestos de fórmula (I) incluyen todas tales formas. Para evitar dudas, cuando
50 un compuesto puede existir en una de varias formas isoméricas geométricas o tautoméricas y solo una se describe o muestra específicamente, todas las demás se abarcan sin embargo por la fórmula (I).

- La presente invención incluye todos los compuestos de la invención marcados isotópicamente farmacéuticamente aceptables, es decir, compuestos de fórmula (I), en los que uno o más átomos se reemplazan por átomos que tienen
55 el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o el número másico que generalmente se encuentran en la naturaleza.

- Los ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la invención comprenden isótopos de hidrógeno, tales como ²H (D) y ³H (T), carbono, tales como ¹¹C, ¹³C y ¹⁴C, flúor, tales como ¹⁸F, nitrógeno, tales como
60 ¹³N y ¹⁵N, oxígeno, tales como ¹⁵O, ¹⁷O y ¹⁸O.

- Determinados compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I), por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución en tejido de sustrato y/o fármaco. Los compuestos de fórmula (I) también pueden tener propiedades de diagnóstico valiosas, ya que se pueden usar para detectar o identificar
65 la formación de un complejo entre un compuesto marcado y otras moléculas, péptidos, proteínas, enzimas o receptores. Los procedimientos de detección o identificación pueden usar compuestos marcados con agentes de marcaje tales

como radioisótopos, enzimas, sustancias fluorescentes, sustancias luminosas (por ejemplo, luminol, derivados de luminol, luciferina, aequorina y luciferasa), etc. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^3H (T), y carbono-14, es decir, ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y fáciles medios de detección.

5

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir, ^2H (D), puede procurar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación, y por tanto puede preferirse en algunas circunstancias.

10 La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , puede ser útil en estudios de tomografía de emisión de positrones (TEP) para examinar la ocupación diana.

Los compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I) generalmente se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos

15 y Preparaciones adjuntos usando reactivos marcados isotópicamente apropiados en lugar del reactivo no marcado empleado anteriormente.

Procedimientos para la preparación de compuestos de fórmula (I)

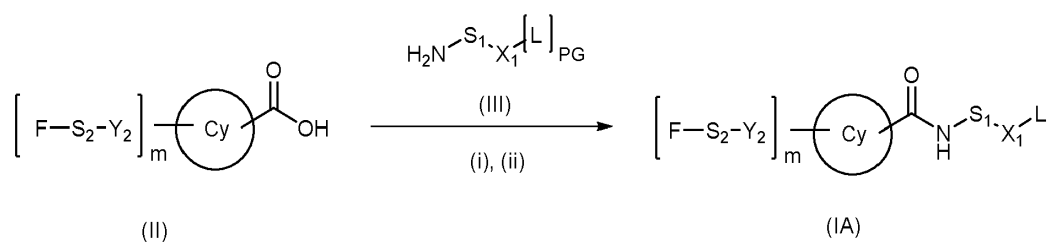
20 En esta sección, como en todas las demás secciones de la presente solicitud, a menos que el contexto indique lo contrario, las referencias a la fórmula (I) también incluyen todos los demás subgrupos y ejemplos de los mismos tal como se definen en el presente documento.

Los compuestos pertenecientes a la invención descrita en el presente documento se pueden preparar en una
25 secuencia sintética escalonada como se ilustra en los Esquemas a continuación. Las síntesis implican la preparación de diversos constructos centrales (Cy) que permiten la elección de la valencia para F y la elección del péptido para L dentro de la molécula. Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar de acuerdo con procedimientos sintéticos bien conocidos por el experto. Por ejemplo, un experto en la materia apreciará que las etapas químicas y la elección de grupos protectores se pueden gestionar en cualquier orden para permitir el éxito sintético.

30

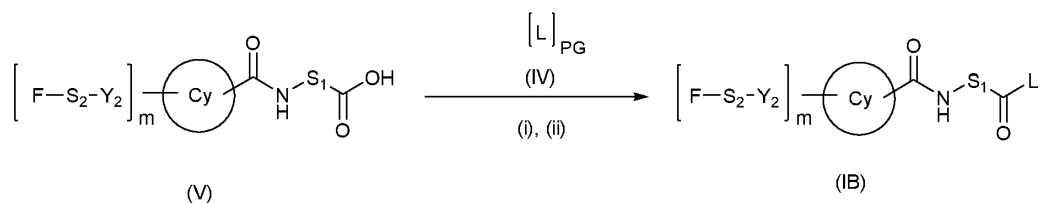
Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula (I) como se define anteriormente en el presente documento que comprende:

(a) preparar un compuesto de la fórmula (I), en la que γ_1 representa -CONH- (es decir, un compuesto de fórmula (IA))
35 haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un compuesto de fórmula (III) seguido de una etapa de desprotección adecuada:



40 en la que S_2 , Y_2 , m , Cy , S_1 , X_1 , L y F son como se define anteriormente en el presente documento y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

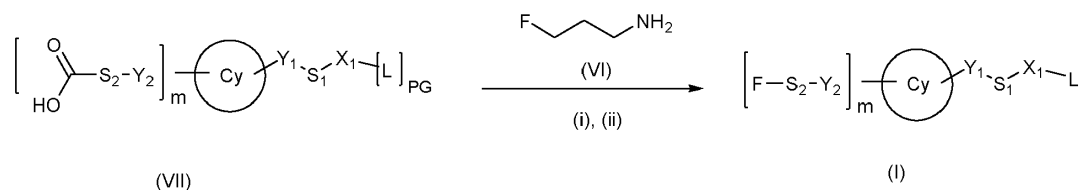
(b) preparar un compuesto de fórmula (I) en la que γ_1 representa -CONH- y X_1 representa -C(O)- (es decir, un
compuesto de fórmula (IB)) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IV) con un compuesto de fórmula (V)
45 seguido de una etapa de desprotección adecuada:



50 en la que S_2 , Y_2 , m , Cy , S_1 , L y F son como se define anteriormente en el presente documento y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

(c) preparar un compuesto de fórmula (I) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto de

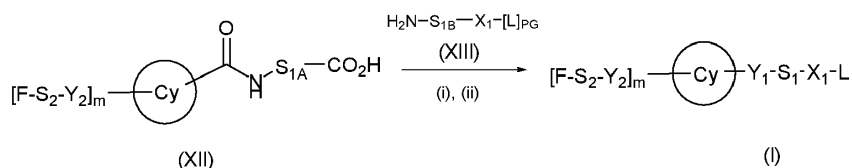
fórmula (VII) seguido de una etapa de desprotección adecuada:



5 en la que S_2 , Y_2 , m , Cy , S_1 , X_1 , L y F son como se define anteriormente en el presente documento, PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

(d) preparar un compuesto de fórmula (I) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XII) con un compuesto de fórmula (XIII) seguido de una etapa de desprotección adecuada, en la que Y_1 representa un grupo CONH:

10



en la que S_2 , Y_2 , m , Cy , X_1 , L y F son como se define anteriormente en el presente documento, S_{1A} y S_{1B} forman juntos un grupo S_1 y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

15

(e) interconversión de un compuesto de fórmula (I) o derivado protegido del mismo a un compuesto adicional de fórmula (I) o derivado protegido del mismo.

La etapa (i) en los procesos (a) a (d) típicamente comprende una reacción de formación de enlace amida, que típicamente comprende la activación del ácido carboxílico con reactivos que contienen fosfato, reactivos a base de triazina o reactivos que contienen carbodiimida en presencia de una base orgánica en un disolvente orgánico. Las condiciones preferidas comprenden HATU (hexafluorofosfato de 3-óxido de (1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio) con diisopropiletilamina en DMF.

25 La etapa (ii) en los procesos (a) a (d) típicamente comprende cualquier reacción de desprotección adecuada, cuyas condiciones dependerán de la naturaleza del grupo protector. Cuando el grupo protector comprende Dde, tal desprotección típicamente comprenderá el uso de hidrazina en DMF. Cuando el grupo protector comprende Cbz o bencilo, tal desprotección típicamente comprenderá hidrogenación sobre un catalizador adecuado, tal como paladio sobre carbono. Cuando el grupo protector comprende terc-butoxicarbonilo o terc-butilo, tal desprotección estará mediada por ácido y típicamente comprenderá TFA en DCM.

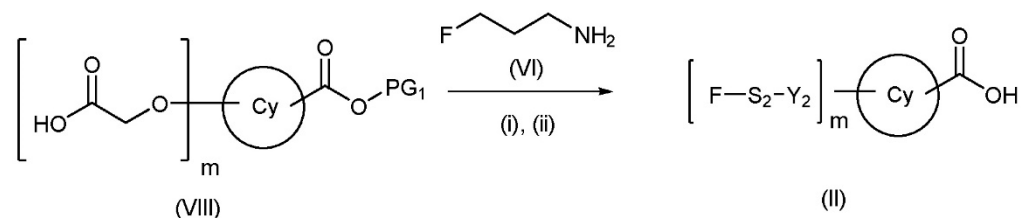
El proceso (e) comprende típicamente procedimientos de interconversión conocidos por un experto en la materia. Por ejemplo, en compuestos de fórmula (I), un primer sustituyente puede convertirse mediante procedimientos conocidos por un experto en la materia en un segundo sustituyente alternativo. Son conocidas por un experto en la materia un amplio intervalo de interconversiones de grupos funcionales bien conocidas para convertir un compuesto precursor en un compuesto de fórmula (I) y se describen en *Advanced Organic Chemistry* por Jerry March, 4ª edición, John Wiley & Sons, 1992. Por ejemplo, las posibles funcionalizaciones catalizadas por metal tales como el uso de reactivos de organoestaño (la reacción de Stille), reactivos de Grignard y reacciones con nucleófilos de nitrógeno se describen en *'Palladium Reagents and Catalysts'* [Jiro Tsuji, Wiley, ISBN 0-470-85032-9] y *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis* [Volumen 1, editado por Ei-ichi Negishi, Wiley, ISBN 0-471-31506-0].

Si es apropiado, las reacciones descritas anteriormente en los procesos (a), (b), (c), (d) y (e) son seguidas o precedidas por una o más reacciones conocidas por el experto en la materia y se realizan en un orden apropiado para lograr las sustituciones requeridas en S_2 , Y_2 , m , Cy , S_1 , X_1 , Y_1 , L y F definidas anteriormente para procurar otros compuestos de la fórmula (I). Los ejemplos no limitantes de tales reacciones cuyas condiciones pueden encontrarse en la bibliografía incluyen:

- protección de funciones reactivas,
- desprotección de funciones reactivas,
- 50 halogenación,
- deshalogenación,
- desalquilación,
- alquilación y arilación de amina, anilina, alcohol y fenol,
- reacción de Mitsunobu en grupos hidroxilo,
- 55 reacciones de cicloadición en los grupos apropiados,

- reducción de nitro, ésteres, ciano, aldehídos,
 reacciones de acoplamiento catalizadas por metales de transición,
 acilación,
 sulfonilación/introducción de grupos sulfonilo,
 5 saponificación/hidrólisis de grupos éster,
 amidificación o transesterificación de grupos éster,
 esterificación o amidificación de grupos carboxílicos,
 intercambio de halógenos,
 sustitución nucleofílica con amina, tiol o alcohol,
 10 aminación reductora,
 formación de oxima en grupos carbonilo e hidroxilamina,
 S-oxidación,
 N-oxidación,
 salificación.

- 15 Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar según los procedimientos descritos en el Esquema 1 a partir de compuestos de fórmula (VIII) y (VI) según las etapas de proceso (i) y (ii) como se describe anteriormente en el presente documento.



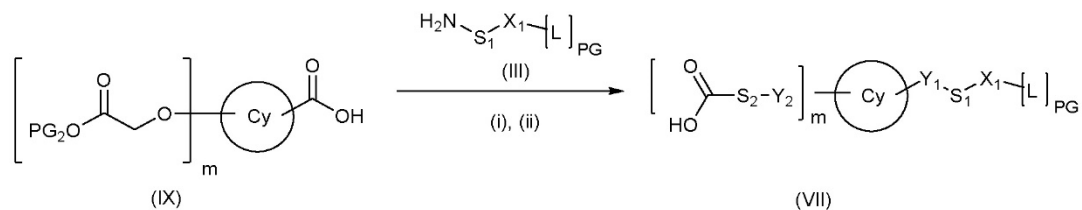
20

Esquema 1

en el que m, Cy, Y₂, S₂ y F son como se define anteriormente en el presente documento y PG₁ es un grupo protector que comprende bencilo.

- 25 Adicionalmente, los compuestos de fórmula (V) se pueden preparar a partir de compuestos de fórmula (II) según las etapas de proceso (i) y (ii) como se describe anteriormente con el empleo de un ligador elegido adecuadamente (S₁) que comprende un grupo protector adecuado, tal como bencilo, que está disponible comercialmente o se prepara como se describe en la bibliografía por un experto en la materia. Los compuestos de fórmula (VII) se pueden preparar según los procedimientos descritos en el Esquema 2 a partir de compuestos de fórmula (III) y (IX) según las etapas de proceso (i) y (ii) como se describe anteriormente en el presente documento

30



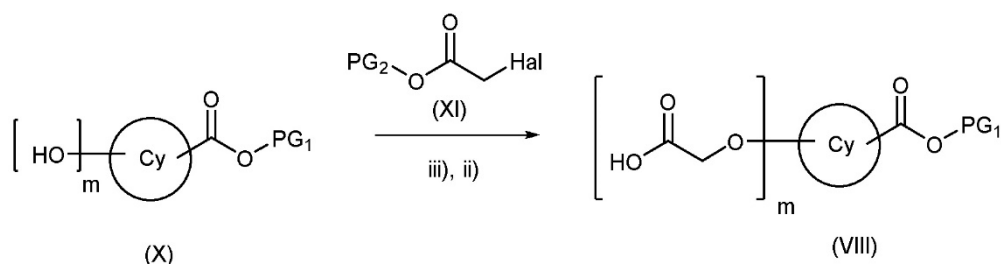
Esquema 2

- en el que m, Cy, Y₂, S₁, S₂, X₁ y F son como se define anteriormente en el presente documento, Y₁ es -CONH-, PG₂ es un grupo protector que comprende terc-butilo y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde,

35

Los compuestos de fórmula (VIII) se pueden preparar según los procedimientos descritos en el Esquema 3 a partir de compuestos de fórmula (X) y (XI) según las etapas de proceso (iii) y (ii), una reacción de alquilación seguida de una reacción de desprotección como se describe anteriormente en el presente documento, respectivamente

40



Esquema 3

en las que m y Cy son como se define anteriormente en el presente documento, PG₂ es un grupo protector que comprende terc-butilo, PG₁ es un grupo protector que comprende bencilo y Hal es un haluro tal como Cl, Br o I.

5

La etapa (iii) comprende típicamente condiciones de alquilación con compuestos de fórmula (XI) en una base inorgánica en un disolvente orgánico polar a temperatura ambiente. Las condiciones preferidas comprenden carbonato de potasio en DMF.

10 De manera similar, los compuestos de fórmula (IX) también se pueden preparar según el Esquema 3, en el que se pueden emplear condiciones de desprotección alternativas. Después de la etapa de alquilación, en la que PG₁ es bencilo, PG₁ puede desprotegerse preferentemente en condiciones de hidrogenación como se describe anteriormente en el presente documento.

15 Cuando Cy es bifenilo, los compuestos de fórmula (X) se pueden preparar mediante el empleo de una reacción de Suzuki para construir la unidad bifenilo. Las condiciones preferidas comprenden tetraquitrifenilfosfina-paladio (0) con carbonato de sodio en dioxano y agua a 100 °C. Cuando se emplean los grupos protectores requeridos adecuados, tales como TBS, tales grupos protectores pueden desprotegerse usando una desprotección mediada por fluoruro. Las condiciones preferidas comprenden TBAF en THF a temperatura ambiente.

20

Los compuestos de fórmula (XII) y (XIII) en la que S₁ contiene S_{1A} o S_{1B} se pueden preparar según el Esquema 1, según los procedimientos descritos en el presente documento o se pueden preparar según la bibliografía.

25 Los compuestos de fórmula (III), (IV), (VI) y (XI) están comercialmente disponibles, se preparan según los procedimientos descritos en el presente documento o se preparan según la bibliografía.

Composiciones farmacéuticas

Si bien es posible administrar el compuesto de fórmula (I) solo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación).

35 Por tanto, según un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica y procedimientos para elaborar una composición farmacéutica que comprende (por ejemplo, mezclar) al menos un compuesto de la invención donde L representa un péptido antimicrobiano catiónico, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos o profilácticos, como se describe en el presente documento.

40 El excipiente o excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden seleccionar, por ejemplo, de portadores (por ejemplo, un portador sólido, líquido o semisólido), adyuvantes, diluyentes, rellenos o agentes voluminizadores, agentes granulantes, agentes de recubrimiento, agentes controladores de la liberación, agentes aglutinantes, disgregantes, agentes lubricantes, conservantes, antioxidantes, agentes tamponadores, agentes de suspensión, agentes espesantes, agentes aromatizantes, edulcorantes, agentes enmascarantes del sabor, estabilizantes o cualquier otro excipiente usado convencionalmente en composiciones farmacéuticas. A continuación se exponen con más detalle ejemplos de excipientes para diversos tipos de composiciones farmacéuticas.

45 La frase "farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance de un criterio médico sensato, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de un sujeto (por ejemplo humano) sin una toxicidad excesiva (es decir, generalmente reconocidos como seguros (GRCS)), irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, proporcional a una relación beneficio/riesgo correspondiente razonable. Cada portador, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación.

50 Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de la invención se pueden formular de acuerdo con técnicas conocidas, véase, por ejemplo, Remington 's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, EE. UU.

55

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma adecuada para administración parenteral,

intranasal, intrabronquial, sublingual, oftálmica, ótica, rectal, intravaginal o transdérmica. Cuando las composiciones están destinadas a la administración parenteral, se pueden formular para la administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o para la administración directa en un órgano o tejido diana mediante inyección, infusión u otros medios de administración. El suministro puede realizarse mediante inyección en bolo, infusión a corto plazo o infusión a largo plazo y puede realizarse mediante suministro pasivo o mediante la utilización de una bomba de infusión o un controlador de jeringa adecuados.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos, codisolventes, agentes tensioactivos, mezclas de disolventes orgánicos, agentes de complejación de ciclodextrina, agentes emulsionantes (para formar y estabilizar formulaciones de emulsión), componentes liposómicos para formar liposomas, polímeros gelificables para formar geles poliméricos, protectores de liofilización y combinaciones de agentes para, *entre otras cosas*, estabilizar el ingrediente activo en una forma soluble y volver la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto. Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral también pueden tomar la forma de suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes (R. G. Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, Vol 21(2) 2004, pág. 201-230).

Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitarias o multidosis, por ejemplo, ampollas selladas, viales y jeringas precargadas, y se pueden almacenar en un estado deshidratado por congelación (liofilizado) que solo requiere la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes del uso.

La formulación farmacéutica se puede preparar liofilizando un compuesto de la invención. Liofilización se refiere al procedimiento de deshidratación de una composición mediante congelación. Por lo tanto, deshidratación por congelación y liofilización se usan en el presente documento como sinónimos.

Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención para inyección parenteral también pueden comprender soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, así como polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso.

Los ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), carboximetilcelulosa y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de maíz o aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales espesantes o de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Las composiciones de la presente invención también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes para ajustar la tonicidad tales como azúcares, cloruro de sodio y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede provocarse mediante la inclusión de agentes que retardan la absorción, tales como monostearato de aluminio y gelatina.

En una realización preferida de la invención, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración i.v., por ejemplo, mediante inyección o infusión. Para la administración intravenosa o subcutánea, la solución se puede dosificar tal como está, o se puede inyectar en una bolsa de infusión (que contiene un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina al 0,9 % o dextrosa al 5 %), antes de la administración.

En otra realización preferida, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración subcutánea (s.c.).

El compuesto de la invención puede formularse con un portador y administrarse en forma de nanopartículas, ayudando el área de superficie aumentada de las nanopartículas a su absorción. Además, las nanopartículas ofrecen la posibilidad de penetración directa en la célula. Los sistemas de administración de fármacos de nanopartículas se describen en "Nanoparticle Technology for Drug Delivery", editado por Ram B Gupta y Uday B. Kompella, Informa Healthcare, ISBN 9781574448573, publicado el 13 de marzo de 2006. Las nanopartículas para el suministro de fármacos también se describen en J. Control. Release, 2003, 91 (1-2), 167-172, y en Sinha et al. Mol. Cancer Ther. 1 de agosto, (2006) 5, 1909.

Las composiciones farmacéuticas comprenden típicamente de aproximadamente 1 % (p/p) a aproximadamente 95 % (p/p) de ingrediente activo y de 99 % (p/p) a 5 % (p/p) de un excipiente farmacéuticamente aceptable o combinación

de excipientes. Preferiblemente, las composiciones comprenden de aproximadamente 20 % (p/p) a aproximadamente 90 % (p/p) de ingrediente activo y de 80 % (p/p) a 10 % de un excipiente o combinación de excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas comprenden de aproximadamente 1 % a aproximadamente 95 %, preferiblemente de aproximadamente 20 % a aproximadamente 90 % de ingrediente activo.

- 5 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden estar, por ejemplo, en forma de dosis unitaria, tal como en forma de ampollas, viales, supositorios, jeringas precargadas, grageas, comprimidos o cápsulas.

El excipiente o excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden seleccionar según la forma física deseada de la formulación y, por ejemplo, se seleccionan de diluyentes (por ejemplo, diluyentes sólidos tales como rellenos o agentes voluminizantes; y diluyentes líquidos tales como disolventes y codisolventes), disgregantes, agentes tamponadores, lubricantes, auxiliares de flujo, agentes controladores de la liberación (por ejemplo, polímeros o ceras retrasantes o retardantes de la liberación), aglutinantes, agentes granulantes, pigmentos, plastificantes, antioxidantes, conservantes, agentes aromatizantes, agentes enmascarantes del sabor, agentes de ajuste de la tonicidad y agentes de recubrimiento.

- 15 El experto tendrá la experiencia para seleccionar las cantidades apropiadas de ingredientes para su uso en las formulaciones. Por ejemplo, los comprimidos y cápsulas típicamente contienen 0-20 % de disgregantes, 0-5 % de lubricantes, 0-5 % de auxiliares de flujo y/o 0-99 % (p/p) de rellenos y/o agentes voluminizantes (dependiendo de la dosis del fármaco). También pueden contener 0-10 % (p/p) de aglutinantes poliméricos, 0-5 % (p/p) de antioxidantes, 20 0-5 % (p/p) de pigmentos. Los comprimidos de liberación lenta contendrán además 0-99 % (p/p) de polímeros para el control (p. ej., el retardo) de la liberación (en función de la dosis). Los recubrimientos de película del comprimido o cápsula típicamente contienen 0-10 % (p/p) de polímeros, 0-3 % (p/p) de pigmentos y/o 0-2 % (p/p) de plastificantes.

- 25 Las formulaciones parenterales o subcutáneas típicamente contienen 0-20 % (p/p) de tampones, 0-50 % (p/p) de codisolventes y/o 0-99 % (p/p) de agua para inyección (API) (dependiendo de la dosis y si se deshidrata por congelación). Las formulaciones para depósitos intramusculares también pueden contener 0-99 % (p/p) de aceites.

- 30 Los compuestos de la invención también se pueden formular como dispersiones sólidas. Las dispersiones sólidas son fases dispersas homogéneas extremadamente finas de dos o más de sólidos. Las soluciones sólidas (sistemas de dispersión molecular), un tipo de dispersión sólida, son bien conocidas para su uso en tecnología farmacéutica (véase (Chiou y Riegelman, J. Pharm. Sci., 60, 1281-1300 (1971)) y son útiles para aumentar las tasas de disolución y aumentar la biodisponibilidad de fármacos poco solubles en agua.

- 35 Las formulaciones farmacéuticas se pueden presentar a un paciente en "paquetes para pacientes" que contienen todo un plan de tratamiento en un solo envase, habitualmente un paquete blíster. Las cajas tienen una ventaja sobre las prescripciones tradicionales, en las un farmacéutico divide el suministro de un paciente de un producto farmacéutico a partir de un suministro a granel, porque el paciente siempre tiene acceso al prospecto contenido en la caja, habitualmente ausente en las prescripciones de los pacientes. Se ha demostrado que la inclusión de un prospecto mejora el cumplimiento del paciente con las instrucciones del médico. Un ejemplo de un paquete para pacientes incluye 40 una jeringa precargada. Tales jeringas precargadas ya contienen la sustancia farmacológica. La porción frontal de una jeringa precargada a la que se va a fijar una aguja está sellada con un tapón de boquilla. Antes de la inyección, la tapa de la boquilla se retira de la porción frontal y se fija una aguja a la misma. Luego se desliza una junta empujando una varilla de émbolo hacia la porción frontal de modo que se expulsa el fármaco.

- 45 Las composiciones para administración nasal incluyen ungüentos, cremas, pulverizaciones, parches, geles, gotas e insertos líquidos (por ejemplo, insertos intraoculares). Tales composiciones se pueden formular de acuerdo con procedimientos conocidos.

- 50 Los ejemplos de formulaciones para administración rectal o intravaginal incluyen pesarios y supositorios que pueden estar, por ejemplo, formados a partir de un material conformable moldeable o ceroso que contiene el compuesto activo. También se pueden usar soluciones del compuesto activo para administración rectal.

- 55 Las composiciones para administración por inhalación pueden adoptar la forma de composiciones en polvo inhalables o pulverizaciones líquidas o en polvo, y pueden administrarse en forma estándar usando dispositivos inhaladores de polvo o dispositivos dispensadores de aerosol. Tales dispositivos son ampliamente conocidos. Para la administración por inhalación, las formulaciones en polvo típicamente comprenden el compuesto activo junto con un diluyente sólido inerte en polvo tal como lactosa.

- 60 El compuesto de la invención generalmente se presentará en forma de dosificación unitaria y, como tal, típicamente contendrá suficiente compuesto para proporcionar el nivel deseado de actividad biológica. Por ejemplo, una formulación puede contener de 1 nanogramo a 2 gramos de principio activo, p. ej., de 1 nanogramo a 2 miligramos de principio activo. Dentro de estos intervalos, los subintervalos particulares del compuesto son 0,1 miligramos a 2 gramos de ingrediente activo (más habitualmente de 10 miligramos a 1 gramo, por ejemplo, 50 miligramos a 500 miligramos), o 1 microgramo a 20 miligramos (por ejemplo, 1 microgramo a 10 miligramos, por ejemplo, 0,1 miligramos a 2 65 miligramos de ingrediente activo).

El compuesto activo se administrará a un paciente que lo necesite (por ejemplo, un paciente humano o animal) en una cantidad suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado.

Usos Terapéuticos:

- 5 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para su uso en terapia.
- 10 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado y/o causado por un agente infeccioso.
- 15 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno mediado y/o causado por un agente infeccioso.
- 20 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad o trastorno mediado y/o causado por un agente infeccioso que comprende administrar a un individuo que lo necesita un compuesto de fórmula (I) como se define en el presente documento.
- 25 Los ejemplos de agentes infecciosos incluyen cualquier patógeno tal como una bacteria, hongo, parásito o virus. Por tanto, en una realización, la enfermedad o trastorno mediado y/o causado por un agente infeccioso es una infección bacteriana.
- 30 Los ejemplos de infección bacteriana incluyen infección por las siguientes bacterias: *Staphylococcus* sp. tal como *Staphylococcus aureus* (incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA)), *Clostridia* sp. (por ejemplo, *Clostridium difficile*, *Clostridium tetani* y *Clostridium botulinum*), especies de *Enterobacter*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Shigella* sp. tal como *Shigella dysenteriae*, *Campylobacter* sp. tal como *Campylobacter jejuni*, *Enterococcus* sp. tal como *Enterococcus faecalis*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Bordetella pertussis*, especies estreptocócicas, *Salmonella thyphimurim*, *Salmonella enterica*, especies de *Chlamydia*, *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Borrelia burgdorferi*, *Vibrio cholerae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Helicobacter pylori*, patógenos gramnegativos, tales como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella neumoniae* y *Escherichia coli* (incluyendo cepas que son resistentes a una o más clases de antibióticos, especialmente cepas multifarmacorresistentes (MFR)).
- 35 El compuesto de la invención generalmente se administra a un sujeto que necesita tal administración, por ejemplo, un paciente humano o animal, preferiblemente un ser humano.
- 40 El compuesto de la invención se administrará típicamente en cantidades que son terapéutica o profilácticamente útiles y que generalmente no son tóxicas. Sin embargo, en ciertas situaciones (por ejemplo, en el caso de enfermedades potencialmente mortales), los beneficios de administrar un compuesto de la invención pueden compensar las desventajas de cualquier efecto tóxico o efectos secundarios, en cuyo caso puede considerarse deseable administrar un compuesto de la invención en cantidades que estén asociadas con un grado de toxicidad.
- 45 El compuesto de la invención puede administrarse durante un período prolongado (es decir, administración crónica) para mantener efectos terapéuticos beneficiosos o puede administrarse solo durante un período corto (es decir, administración aguda). Como alternativa, se pueden administrar de manera continua o de una manera que proporcione dosificación intermitente (por ejemplo, de manera pulsátil).
- 50 Una dosis diaria típica del compuesto de la invención puede estar en el intervalo de 100 picogramos a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal, más típicamente 5 nanogramos a 25 miligramos por kilogramo de peso corporal, y más habitualmente 10 nanogramos a 15 miligramos por kilogramo (por ejemplo, 10 nanogramos a 10 miligramos, y más típicamente 1 microgramo por kilogramo a 20 miligramos por kilogramo, por ejemplo, 1 microgramo a 10 miligramos por kilogramo) por kilogramo de peso corporal, aunque se pueden administrar dosis más altas o más bajas
- 55 cuando sea necesario. El compuesto de la invención puede administrarse diariamente o de forma repetida cada 2, o 3, o 4, o 5, o 6, o 7, o 10 o 14, o 21, o 28 días, por ejemplo. Como alternativa, el compuesto de la invención se puede administrar mediante infusión, múltiples veces al día.
- 60 El compuesto de la invención se puede administrar en un intervalo de dosis, por ejemplo, 1 a 1500 mg, 2 a 800 mg o 5 a 500 mg, por ejemplo, 2 a 200 mg o 10 a 1000 mg, incluyendo ejemplos particulares de dosis 10, 20, 50 y 80 mg. El compuesto de la presente invención se puede administrar una o más veces al día. El compuesto de la invención se puede administrar continuamente (es decir, tomarse todos los días sin interrupción durante la duración del régimen de tratamiento). Como alternativa, el compuesto de la invención se puede administrar de forma intermitente (es decir, tomarse de forma continua durante un período dado, tal como una semana, luego suspenderse durante un período,
- 65 tal como una semana, y luego tomarse de forma continua durante otro período, tal como una semana y así sucesivamente, durante toda la duración del régimen de tratamiento). Los ejemplos de regímenes de tratamiento que

implican administración intermitente incluyen regímenes en los que la administración se realiza en ciclos de una semana sí, una semana libre; o dos semanas sí, una semana libre; o tres semanas sí, una semana libre; o dos semanas sí, dos semanas libres; o cuatro semanas sí, dos semanas libres; o una semana sí, tres semanas libres - durante uno o más ciclos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 o más ciclos.

5

En un programa de dosificación particular, a un paciente se le dará una infusión de un compuesto de la invención durante períodos de una hora diaria durante hasta diez días, en particular hasta cinco días durante una semana, y el tratamiento se repetirá en un intervalo deseado tal como dos a cuatro semanas, en particular cada tres semanas.

10 Más particularmente, a un paciente se le puede dar una infusión de un compuesto de la invención durante períodos de una hora diaria durante 5 días y el tratamiento se repite cada tres semanas.

En otro programa de dosificación particular, a un paciente se le da una infusión durante 30 minutos a 1 hora seguida de infusiones de mantenimiento de duración variable, por ejemplo, 1 a 5 horas, por ejemplo, 3 horas.

15

En un programa de dosificación particular adicional, a un paciente se le da una infusión continua durante un período de 12 horas a 5 días, y en particular una infusión continua de 24 horas a 72 horas.

20 En última instancia, sin embargo, la cantidad de compuesto de la invención administrada y el tipo de composición usada serán proporcionales a la naturaleza de la enfermedad o afección fisiológica que se está tratando y estarán a discreción del médico.

Se apreciará que el compuesto de la invención puede usarse como un único agente o en combinación con otros agentes terapéuticos. Se pueden realizar experimentos de combinación, por ejemplo, como se describe en Chou TC, 25 Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regulat* 1984; 22: 27-55.

30 Cuando el compuesto de la invención se administra en terapia de combinación con uno, dos, tres, cuatro o más otros agentes terapéuticos (preferiblemente uno o dos, más preferiblemente uno), los agentes se pueden administrar simultánea o secuencialmente. En este último caso, los dos o más agentes se administrarán dentro de un período y en una cantidad y manera que sea suficiente para asegurar que se logra un efecto ventajoso o sinérgico. Cuando se administran secuencialmente, se pueden administrar a intervalos estrechamente espaciados (por ejemplo, durante un período de 5-10 minutos) o a intervalos más largos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más horas de diferencia, o incluso períodos más largos de separación cuando sea necesario), siendo el régimen de dosificación preciso proporcional a las 35 propiedades del agente o agentes terapéuticos. Estas dosificaciones se pueden administrar, por ejemplo, una vez, dos veces o más por plan de tratamiento, que se pueden repetir, por ejemplo, cada 7, 14, 21 o 28 días.

Se apreciará que el procedimiento preferido y el orden de administración y las cantidades y regímenes de dosificación respectivos para cada componente de la combinación dependerán del otro agente medicinal y compuesto particular 40 de la invención que se administra, su vía de administración, el tumor particular que se está tratando y el hospedador particular que se está tratando. Los expertos en la materia pueden determinar fácilmente el procedimiento, el orden de administración y las cantidades y el régimen de dosificación óptimos usando procedimientos convencionales y en vista de la información expuesta en el presente documento.

45 La relación en peso del compuesto de la invención y el uno o más otros agentes terapéuticos cuando se dan como una combinación puede ser determinada por el experto en la materia. Dicha relación y la dosificación y frecuencia de administración exactas dependen del compuesto particular de la invención y del otro o los otros agentes terapéuticos usados, la afección particular que se está tratando, la gravedad de la afección que se está tratando, la edad, el peso, el género, la dieta, el tiempo de administración y la condición física general del paciente en particular, el modo de 50 administración, así como otros medicamentos que el individuo puede estar tomando, como es bien conocido por los expertos en la materia. Además, es evidente que la cantidad diaria efectiva puede reducirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe el compuesto de la presente invención. Una relación en peso particular para el compuesto de la invención y otro agente terapéutico puede variar de 1/10 a 10/1, más en particular de 1/5 a 5/1, incluso más en particular de 1/3 a 3/1.

55

EJEMPLOS

La invención se ilustrará ahora, pero sin limitación, mediante referencia a las realizaciones específicas descritas en los siguientes ejemplos. Los compuestos se nombran usando un paquete de nomenclatura automatizado (ChemDraw) 60 o son como los nombra el proveedor de productos químicos.

Se proporcionan los siguientes procedimientos sintéticos para ilustrar los procedimientos usados; para una preparación o etapa dada, el precursor usado puede no derivar necesariamente del lote individual sintetizado según la etapa en la descripción dada.

65

Procedimientos analíticos

Cuando los ejemplos y preparaciones citan datos analíticos, se usaron los siguientes procedimientos analíticos a menos que se especifique lo contrario:

5 LCMS

Sistema: LCMS Agilent 1100 (bomba cuaternaria); espectrómetro de masas: Waters Micromass ZQ Columna: XBridge C18 4,6 x 50 mm, 5 µm.

- 10 Disolvente: A = agua; B = acetonitrilo, C = formiato de amonio 10 mM en agua; D = ácido fórmico al 0,05 % en acetonitrilo Temperatura de columna: 25 °C, volumen de inyección: 5 µl

Procedimiento LCMS A: procesamiento ácido de 4,5 minutos

Tiempo (min)	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	Flujo (ml/min)
0	95	0	0	5	2,0
3,5	0	95	0	5	2,0
4,5	0	95	0	5	2,0
4,6	95	0	0	5	2,0

15

Procedimiento LCMS B: procesamiento tamponado de 4,5 minutos

Tiempo (min)	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	Flujo (ml/min)
0	0	5	95	0	2,0
3,5	0	95	5	0	2,0
4,5	0	95	5	0	2,0
4,6	0	5	95	0	2,0

20 RMN

Los detalles de RMN se registraron en un Oxford Instruments AS400.

MS

25

Cuando se reseñan los datos de MS, para compuestos de peso molecular grande se observa típicamente la relación masa/carga (m/z).

Abreviaturas

30

Cuando se han usado las siguientes abreviaturas, se aplican los siguientes significados:

Ahx es aminohexilo;

Alloc es aliloxycarbonilo;

35 ac. es acuoso;

Boc es terc-butiloxycarbonilo;

s a es un singlete ancho;

CDCl₃ es deuterocloroformo;

resina CTC es resina de cloruro de clorotritilo;

40 d es doblete;

Dab es ácido 2,4-diaminobutírico;

DCM es diclorometano;

Dde es (1,(4,4-dimetil-2,6-dioxiclohex-1-iliden)-3-etilo);

DIPEA es diisopropiletilamina;

45 DMF es dimetilformamida;

DMSO es dimetilsulfóxido;

DMSO-d₆ es DMSO deuterado;

ES es una técnica de ionización por electropulverización;

EtOAc es acetato de etilo;

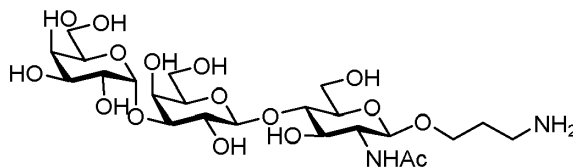
50 Fmoc es 9-fluorenilmetoxycarbonilo;

g es gramo;

- Gly es glicina;
 HATU es hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio;
 HBTU es hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio;
 HCl es ácido clorhídrico;
- 5 HOBT es hidroxibenzotriazol;
 HPLC es cromatografía líquida de alta resolución
 KHCO₃ es hidrogenocarbonato de potasio;
 l es litro;
 LCMS es cromatografía líquida-espectrometría de masas;
- 10 Leu es leucina;
 m es múltiplo;
 mg es miligramo;
 M es molar;
 MeCN es acetonitrilo;
- 15 MeOH es metanol;
 MgSO₄ es sulfato de magnesio;
 MHz es megahercio,
 ml es mililitro;
 mmol es milimol;
- 20 MS es espectrometría de masas;
 NaHCO₃ es hidrogenocarbonato de sodio;
 NaOH es hidróxido de sodio;
 NH₃ es amoníaco;
 RMN es resonancia magnética nuclear;
- 25 Pd/C es paladio sobre carbono;
 Pd(PPh₃)₄ es tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0);
 Pd(PPh₃)₂Cl₂ es dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II);
 Phe es fenilalanina;
 PhSiH₃ es fenilsilano;
- 30 psi es libras por pulgada cuadrada;
 Tr es tiempo de retención;
 s es simplete;
 t es triplete;
 TBTU es tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio;
- 35 TEA es trietilamina;
 Thr es treonina;
 TIS es triisopropilsilano;
 TFA es ácido trifluoroacético;
 µl es microlitro y
- 40 v es volumen.

Cuando se hace referencia a alfa-Gal, se aplica el siguiente intermedio: 3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-pirano-2-il)oxi)tetrahidro-2H-pirano-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-pirano-2-il)oxi)propil)amina

45



Este intermedio se puede preparar según los procedimientos descritos por Bovin et al (Mendeleev Communications (2002), (4), 143-145).

50

Síntesis de intermedios peptídicos

Los armazones PM B se construyeron según la síntesis de péptidos en fase sólida (SPFS) estándar usando aminoácidos apropiadamente protegidos y resina CTC. Se eligieron cualquiera de resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC, resina Fmoc-Thr(OtBu)-CTC o resina Fmoc-Leu-CTC como puntos de partida adecuados, y los armazones se ciclaron en un lugar apropiado en la síntesis. Todos los aminoácidos protegidos y los materiales de partida del ligador están comercialmente disponibles o se preparan según las referencias citadas en el presente documento.

55

Usando SPFS, se emplearon tres estrategias alternativas de armazón de polimixina:

60

Procedimiento 1: en el que el armazón de polimixina se sintetiza sin ligador

Procedimiento 2: en el que el armazón de polimixina se sintetiza con la adición de un ligador en fase de solución después de la escisión de la resina

Procedimiento 3: en el que el armazón de polimixina se sintetiza con la adición de un ligador como una etapa adicional en resina

5

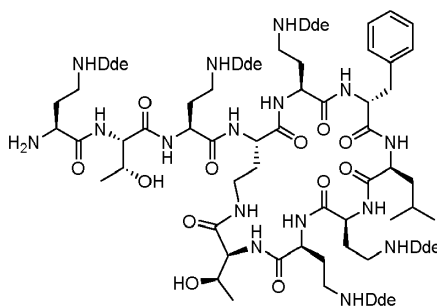
Los aminoácidos protegidos se eligieron de: Fmoc-Leu-OH, Fmoc-[D-Phe]-OH, Fmoc-Dab(Dde)-OH, Fmoc-Dab(Alloc)-OH, Fmoc-Thr-(OtBu)-OH, Fmoc-[D-Ser(OtBu)]-OH y Boc-Dab(Dde)-OH.

Los materiales de partida del ligador se eligieron de Boc-PEG₃-OH, Boc-Ahx-Ahx-OH (documento WO2008123844),
10 Boc-[L-octilGly]-OH, Fmoc-[L-octilGly]-OH o combinaciones de los mismos. Adicionalmente, algunos armazones peptídicos se terminaron con ácido nonanoico.

Los armazones peptídicos se analizaron usando HPLC: Agilent 1260 LCMS: Agilent 1200+6410 MS.

15 Preparación 1

H₂N-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



20

Procedimiento 1

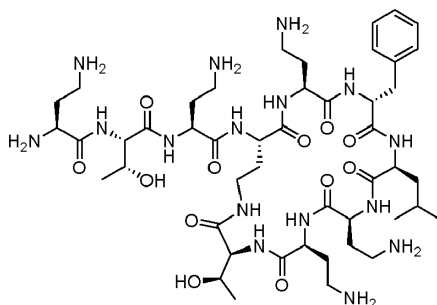
La cadena peptídica se alargó en resina CTC comenzando con Fmoc-Leu-OH [se añadió DIPEA (4,0 eq) a la resina CTC (1 mmol, 1 g, 1,0 mmol/g) y Fmoc-Leu-OH (0,353 g, 1,0 mmol, 1,0 eq.) en DCM (10,0 ml) y la reacción se mezcló durante 2 horas. Se añadió MeOH (1,0 ml) y la reacción se tapó y se mezcló durante 30 minutos]. Se usó piperidina al 20 % en DMF para el desbloqueo, y se construyó la secuencia de aminoácidos deseada usando HBTU y DIPEA en DMF para todos los residuos excepto para Fmoc-Dab(Alloc)-OH, que se acopló usando HATU y DIPEA en DMF para procurar Boc-Dab(Dde)-Thr(OtBu)-Dab(Dde)-Dab(Alloc)-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-O-CTC-resina. En este punto, la resina se trató con Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,1 eq) y PhSiH₃ (10 eq) en DCM seguido de lavado de resina con DMF y MeOH para efectuar la desprotección de Alloc. Luego, el péptido se alargó adicionalmente como anteriormente con los aminoácidos restantes necesarios. El péptido se escindió de la resina con TFA al 1 % en DCM durante 2 minutos y se ajustó a pH=7 con DIPEA en DCM. Luego se añadieron TBTU (2 eq) y HOBt (2 eq) y la reacción se agitó durante 1 hora para efectuar la ciclación. La reacción se lavó con HCl acuoso al 5 % y se concentró a vacío procurando Boc-Dab(Dde)-Thr(OtBu)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OtBu)*. El péptido bruto se trató con TFA/agua (95 % de TFA, 5 % de agua, 20 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se trató con éter isopropílico frío y se centrifugó tres veces. El residuo se secó a vacío y se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa (HPLC: Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en H₂O, B: TFA al 0,1 % en MeCN; Flujo: 1,0 ml/min T= 50 °C; Columna: YMC-Pack ODS-A 150*4,6mm, 5 µm; Instrumento: HPLC Agilent 1200 (5-521) seguido de liofilización procurando el compuesto del título (80 mg).El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

40

Preparación 2

H₂N-Dab-Thr(OH)-Dab-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr(OH)*

45

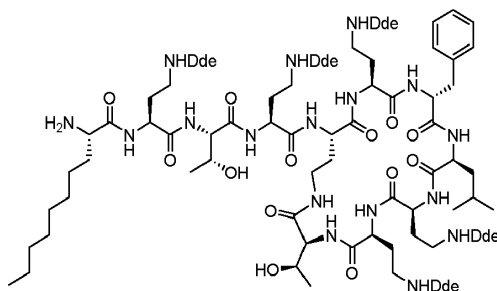


Después de la desprotección global de los grupos protectores Dde de la Preparación 1 (hidrazina al 3 %/MeOH), se obtuvieron los siguientes datos:

5 Tr= 14,23 minutos, ES⁺ MS m/z 1063,4 [M+1] y 532,2 [M+2]/2; masa teórica: 1062,6.

Preparación 3

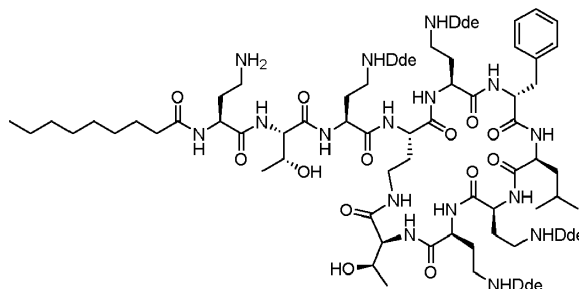
10 **H₂N-L-octilGly-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)***



El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 1 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC o resina Fmoc-Leu-CTC como puntos de partida junto con Boc-[L-octilGly]-OH. El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

Preparación 4

20 **Nonanamida-Dab(NH₂)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)***

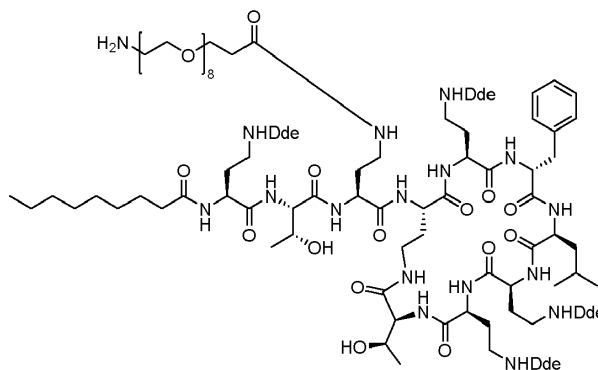


El compuesto del título se preparó según el procedimiento 1 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC o resina Fmoc-Leu-CTC como puntos de partida junto con ácido nonanoico.

25 El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

Preparación 5

30 **Nonanamida-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(PEG₈NH₂)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)***



Procedimiento 2

35

La cadena peptídica se alargó en resina CTC comenzando con Fmoc-Thr(OtBu)-OH [se añadió DIPEA (4,0 eq) a la resina CTC (0,5 mmol, 0,5 g, 1.0 mmol/g) y Fmoc-Thr(OtBu)-OH (200 mg, 0,5 mmol, 1,0 eq.) en DCM (5,0 ml) y la reacción se mezcló durante 2 horas. Se añadió MeOH (0,5 mL) y la reacción se tapó y se mezcló durante 30 minutos]. Se utilizó piperidina al 20 % en DMF para el desbloqueo y se construyó la secuencia de aminoácidos deseada usando HATU (2,85 eq) y DIPEA (6,0 eq) en DMF (2,0 mL) procurando nonanamida-Dab(Dde)-Thr(OtBu)-Dab(Boc)-Dab(Alloc)-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-O-CTC-resina. En este punto, la resina se trató con Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,1 eq) y PhSiH₃ (10 eq) en DCM seguido de lavado de resina con DMF y MeOH para efectuar la desprotección de Alloc y se secó bajo nitrógeno durante la noche. El péptido se alargó adicionalmente como anteriormente con los aminoácidos restantes requeridos. El péptido se escindió de la resina con TFA al 1%/DCM (2 x 5 ml) durante 2 minutos y se ajustó a pH=7 con DIPEA en DCM. Se añadieron TBTU (2 eq) y HOBt (2 eq) seguido de DIPEA (2 eq), y la mezcla se agitó durante 1 hora para efectuar la ciclación. La reacción se lavó con HCl acuoso al 5 % y se concentró a vacío procurando nonanamida-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(Boc)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*. El péptido bruto se trató con 95 % de TFA/1,5 % de H₂O/2,5 % de TIS (5 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. La reacción se precipitó con éter isopropílico frío (50 ml) y se centrifugó (3 min a 3000 rpm). El péptido bruto se lavó con éter isopropílico (2 x 50 ml), se centrifugó y se purificó usando HPLC preparativa (fase móvil A: TFA al 0,1 % en H₂O, B: H₂O) seguido de liofilización procurando el armazón sin el ligador.

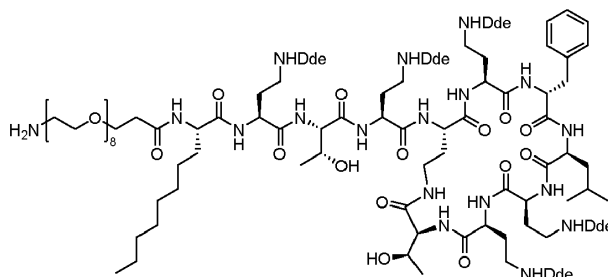
A una solución del péptido en DCM, se añadió Boc-PEG₈-OH (1,,2 eq.) y HBTU (1,2 eq.) seguido de DIPEA (2 eq.) y la reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. La reacción se lavó con HCl al 5 % (ac.) dos veces y se concentró a vacío. El residuo se trató con TFA al 20 %/DCM durante 20 minutos y se concentró a vacío. El residuo se purificó usando HPLC preparativa (fase móvil A: TFA al 0,1 % en H₂O, B: H₂O) y se liofilizó procurando el compuesto del título.

ES⁺ MS m/z 1142,6 [M+2]/2 y 762,1 [M+3]/3; masa teórica: 2283,8

25

Preparación 6

H₂N-PEG₈-[L-octilGly]-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



30

Procedimiento 3

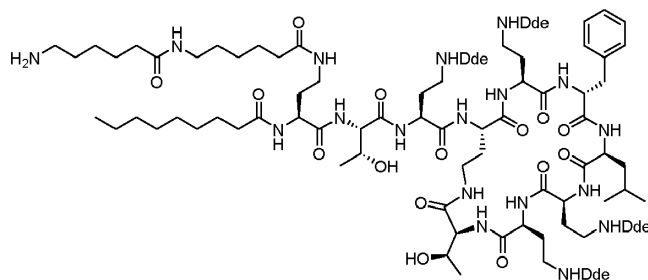
La cadena peptídica se alargó en resina CTC comenzando con Fmoc-Dab(Dde)-OH [se añadió DIPEA (4,0 eq) a la resina CTC (2 mmol, 2 g, 1,0 mmol/g) y Fmoc-Dab(Dde)-OH (1,08 g, 2 mmol, 1,0 eq.) en DCM (30 ml) y la reacción se mezcló durante 2 horas. Se añadió MeOH (2 ml) y la reacción se tapó y se mezcló durante 30 minutos]. Se usó piperidina al 20 % en DMF para el desbloqueo y se construyó la secuencia de aminoácidos deseada usando HATU (2,85 eq) y DIPEA (6,0 eq) en DMF (10 ml) procurando Boc(PEG₈)-[L-octilGly]-Dab(Dde)-Thr(OtBu)-Dab(Dde)-Dab(Alloc)-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-O-CTC-resina. En este punto, la resina se trató con Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,1 eq) y PhSiH₃ (10 eq) en DCM seguido de lavado de resina con DMF y MeOH para efectuar la desprotección de Alloc y se secó bajo nitrógeno durante la noche. El péptido se alargó adicionalmente como anteriormente con los aminoácidos restantes requeridos. El péptido se trató con TFA al 1 %/DCM (2 x 20 ml) durante 2 minutos, se ajustó a pH= 7 con DIPEA y se diluyó con DCM. Se añadieron TBTU (2 eq) y HOBt (2 eq) seguido de DIPEA (2 eq), y la mezcla se agitó durante 1 hora para efectuar la ciclación. La reacción se lavó con HCl acuoso al 5 % y se concentró a vacío procurando Boc(PEG₈)-[L-octilGly]-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*.

El péptido bruto se trató con 95 % de TFA/1,5 % de H₂O/2,5 % de TIS (5 ml) a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. La reacción se precipitó con éter isopropílico frío (300 ml) y se centrifugó (3 min a 3000 rpm). El péptido bruto se lavó con éter isopropílico (2 x 100 ml), se centrifugó y se purificó usando HPLC preparativa (fase móvil A: TFA al 0,1 % en H₂O, B: H₂O) seguido de liofilización procurando el compuesto del título.

Tr= 10,6-11,9 minutos, ES⁺ MS m/z 1239,2 [M+2]/2 y 826,4 [M+3]/3; masa teórica: 2477,0

55 Preparación 7

Nonanamida-Dab(Ahx-Ahx-NH₂)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



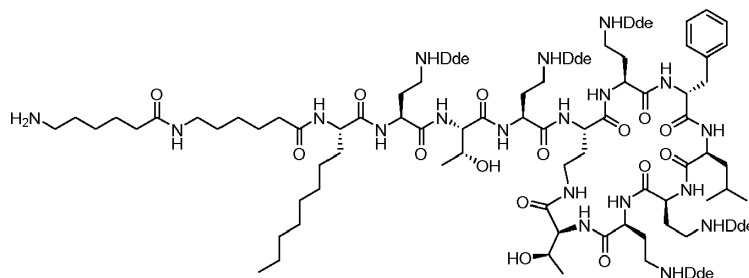
El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 2 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC como punto de partida junto con ácido nonanoico y Boc-Ahx-Ahx-OH.

Tr= 8,2-9,3 minutos, ES⁺ MS m/z 1043,7 [M+2]/2 y 696,3 [M+3]/3; masa teórica: 2086,6

Preparación 8

10

H₂N-Ahx-Ahx-[L-octilGly]-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



15

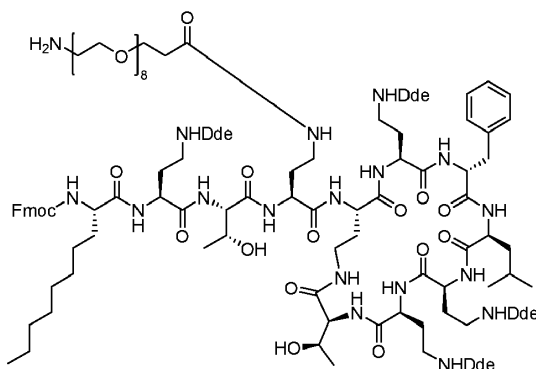
El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 3 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC como punto de partida junto con Boc-Ahx-Ahx-OH y Fmoc-[L-octilGly]-OH.

Tr= 11,9-12,9 minutos, ES⁺ MS m/z 1140,2 [M+2]/2 y 760,7 [M+3]/3; masa teórica: 2279,9

20

Preparación 9

Fmoc-[L-octilGly]-Dab(Dde)-Thr(OH)-Dab(PEG₈NH₂)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



25

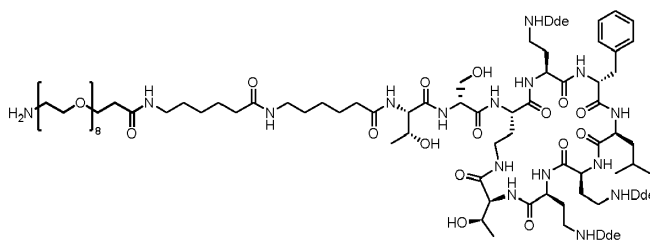
El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 2 usando resina Fmoc-Thr(OtBu)-CTC como punto de partida junto con Boc-PEG₈-OH y Fmoc-[L-octilGly]-OH.

30 El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

Preparación 10

H₂N-PEG₈-Ahx-Ahx-Thr(OH)-[D-Ser(OH)]-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*

35



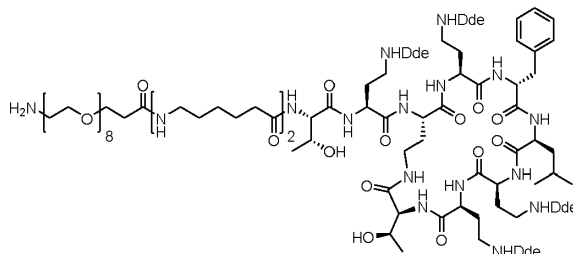
El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 2 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC como punto de partida junto con Boc-PEG₈-OH y Boc-Ahx-Ahx-OH.

5

El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

Preparación 11

10 H₂N-PEG₈-Ahx-Ahx-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 2 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC como punto de partida junto con Boc-PEG₈-OH y Boc-Ahx-Ahx-OH.

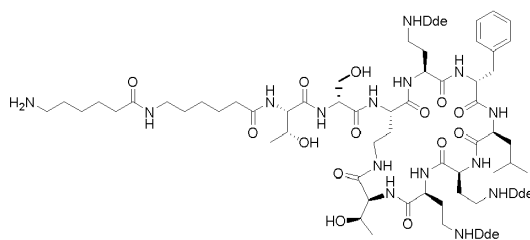
15

El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

Preparación 12

20

H₂N-Ahx-Ahx-Thr(OH)-[D-Ser(OH)]-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*

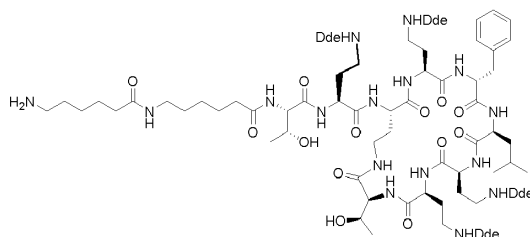


El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 3 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC como punto de partida junto con Boc-Ahx-Ahx-OH.

El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

30 Preparación 13

H₂N-Ahx-Ahx-Thr(OH)-Dab(Dde)-Dab*-Dab(Dde)-[D-Phe]-Leu-Dab(Dde)-Dab(Dde)-Thr(OH)*



35

El compuesto del título se puede preparar según el procedimiento 3 usando resina Fmoc-Dab(Dde)-CTC como punto de partida junto con Boc-Ahx-Ahx-OH.

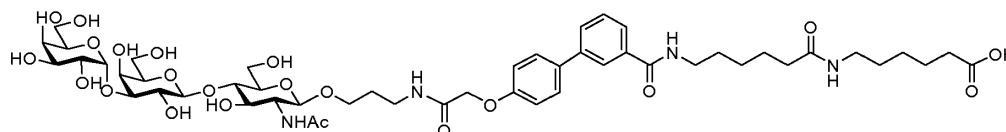
El intermedio se llevó directamente a la siguiente etapa.

5

Síntesis de intermedios de alfa-Gal

Preparación 14

- 10 **Ácido 6-(6-(4'-(2-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-ilcarboxamido)hexanamido)hexanoico**



15

- A una solución de la Preparación 15 (30 mg, 0,035 mmol) y 6-(6-amino)hexanoato de bencilo (JACS 136 (52) 18034-18043 (2014) 14,1 mg, 0,042 mmol) en DMF (600 μ l) se le añadió trietilamina (17 μ l, 0,123 mmol) seguido de HATU (16 mg, 0,042 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se concentró a vacío, se disolvió en DMSO y se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 7-60 %/agua con amoníaco al 0,1 % procurando el intermedio bencílico protegido deseado (19,8 mg, 48 %).

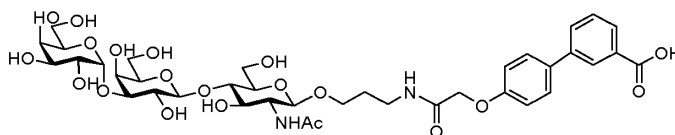
LCMS (procedimiento B) Tr= 2,45 minutos; ES⁺ MS m/z 1173,9 [M+H]⁺

- 25 El intermedio aislado se disolvió en MeOH/agua (1:1 v/v, 10 ml) y se añadió Pd/C (10 %, 10 mg). La reacción se colocó en una atmósfera de hidrógeno (50 psi, 345 kPa) y se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un filtro de jeringa y el disolvente se retiró a presión reducida procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (20,4 mg, >99 %).

- 30 LCMS (procedimiento B) Tr= 1,70 minutos; ES⁻ MS m/z 1081,8 [M-H]⁻

Preparación 15

- 35 **Ácido 4'-(2-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico**



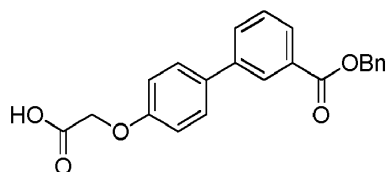
- 40 Al ácido 2-((3'-(benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)oxi)acético (Preparación 16, 55 mg, 152 μ mol) en DMF (7,5 mL) se le añadió TEA (63,4 μ l, 455 μ mol) seguido de una solución de alfa-Gal (119 mg, 197 μ mol) en DMSO (500 μ l). Se añadió HATU (86,6 mg, 228 μ mol) como una solución en DMF (500 μ l) y la reacción se dejó agitar durante 16 horas bajo nitrógeno a temperatura ambiente. El disolvente se retiró a vacío y el residuo se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 7-60%/agua con NH₃ al 0,1 % procurando el intermedio bencílico protegido deseado como un sólido incoloro (93,5 mg, 65 %).

LCMS (procedimiento B) Tr= 2,54 minutos, ES⁺ MS m/z 947,6 [M+H]⁺

- 50 El intermedio aislado se disolvió en MeOH/agua (1:1 v/v, 5 ml), y a la solución se añadió Pd/C (10 %, 10 mg). La reacción se colocó en una atmósfera de hidrógeno (50 psi, 345 kPa) y se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. El catalizador se retiró mediante filtración a través de un filtro de jeringa y el disolvente se retiró a vacío. El residuo se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 5-40 %/agua con 0,1% de NH₃ procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (71,6 mg, 84 %).

- 55 LCMS (procedimiento A) Tr= 1,83 minutos, ES⁺ MS m/z 857,6 [M+H]⁺

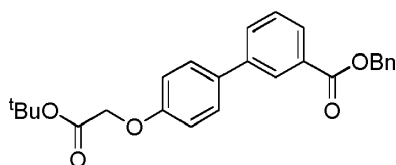
Preparación 16

Ácido 2-((3'-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)oxi)acético

5 Se agitó una solución de 4'-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo (Preparación 17, 7,80 g, 18,6 mmol) en DCM/TFA/agua (10:10:1 v/v/v, 80 ml) durante 2 horas a temperatura ambiente. La reacción se concentró a vacío, se mezcló azeotrópicamente con dioxano/tolueno (1:1, v/v, 80 ml), se trituró con tolueno, se filtró y se secó en un horno de vacío procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (6,11 g, 90 %).

10 LCMS (procedimiento B) Tr= 2,43 minutos, ES⁺ MS m/z 363,2 [M+H]⁺

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 13,00 (1H, s), 8,15 (1H, t), 7,95-7,90 (2H, m), 7,65-7,55 (3H, m), 7,50-7,45 (2H, m), 7,45-7,30 (3H, m), 7,05-7,00 (2H, m), 5,40 (2H, s), 4,70 (2H, s).

15 Preparación 17**4'-(2-(Terc-butoxi)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo**

20

Al 4'-hidroxi-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo (Preparación 18, 15 g, 49,3 mmol) disuelto en DMF (150 ml) se le añadieron bromoacetato de terc-butilo (10,9 ml, 73,9 mmol) y carbonato de potasio (20,4 g, 148 mmol). La suspensión resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La reacción se concentró a vacío y el residuo se disolvió en agua (150 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (150 ml), NaOH (acuoso 2 M, 150 ml), se secaron en MgSO₄ y se concentraron a vacío. El residuo se purificó usando cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 5-40 %/heptano procurando el compuesto del título como un aceite incoloro (17,8 g, 86 %).

25

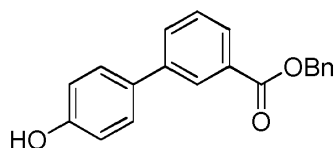
LCMS (procedimiento B) Tr= 4,14 minutos, no se observaron iones de masa.

30

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,25 (1H, s), 8,00 (1H, d), 7,70 (1H, d), 7,55 (2H, d), 7,50-7,25 (6H, m), 7,00 (2H, d), 5,40 (2H, s), 4,55 (2H, s), 1,50 (9H, s).

Preparación 18

35

4'-Hidroxi-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo

40 Se desoxigenó una mezcla de 3-bromobenzoato de bencilo (Preparación 19, 15 g, 51,5 mmol), carbonato de sodio (19,1 g, 180 mmol) y ácido (4-hidroxifenil)borónico (8,53 g, 61,8 mmol) disuelto en dioxano/agua (5:1 v/v, 450 ml) durante 30 minutos bajo nitrógeno. Se añadió Pd(PPh₃)₄ (5,95 g, 5,15 mmol) y la reacción se calentó hasta 100 °C durante 90 minutos bajo nitrógeno. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se añadieron EtOAc (450 ml) y agua (450 ml) y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 450 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (450 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a vacío procurando un residuo negro. El residuo se filtró a través de una almohadilla de lavado de sílice con EtOAc/heptano (1:1 v/v, 2 l) y se concentró a vacío. El residuo se trituró con tolueno (75 ml) y se filtró. El sólido resultante se lavó con tolueno adicional (25 ml) y se secó a presión reducida procurando el compuesto del título como un sólido tostado (12,7 g, 81 %).

50

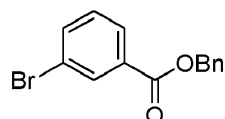
LCMS (procedimiento B) Tr= 3,39 minutos, ES⁻ MS m/z 303,3 [M-H]⁻

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,25 (1H, s), 8,00 (1H, d), 7,70 (1H, d), 7,50-7,30 (8H, m), 6,90 (2H, d), 5,40 (2H, s), 5,00 (1H, s a).

Preparación 19

5

3-Bromobenzoato de bencilo



10 A una solución de ácido 3-bromobenzoico (20 g, 99,5 mmol) disuelto en DMF (100 ml) se le añadió KHCO₃ (9,96 g, 99,5 mmol). Se añadió bromuro de bencilo (11,8 ml, 99,5 mmol) gota a gota y la reacción se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante la noche. La reacción se concentró a vacío. El residuo se dividió entre EtOAc (200 ml) y agua (200 ml). Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con ácido cítrico (1 M, 200 ml), NaHCO₃ (saturado, acuoso, 200 ml) y salmuera (200 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a
15 presión reducida procurando el compuesto del título como un aceite amarillo pálido (28,3 g, 97 %).

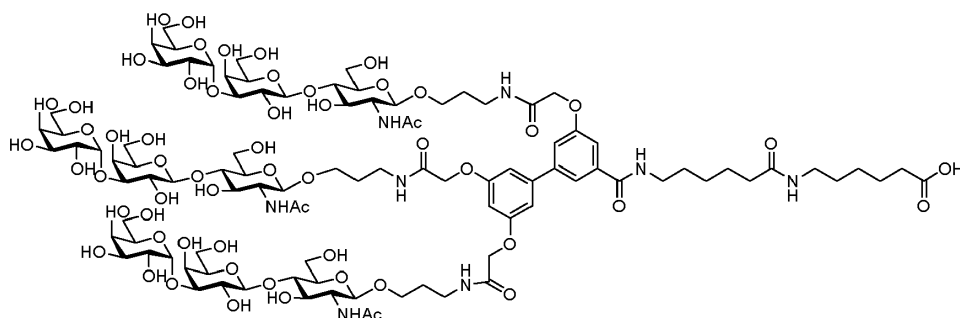
LCMS (procedimiento B) Tr= 3,80 minutos, no se observó ionización.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,20 (1H, s), 8,00 (1H, s), 7,65 (1H, s), 7,50-7,25 (6H, m), 5,35 (2H, s).

20

Preparación 20

15 **Ácido 6-(6-(3',5,5'-tris(2-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxamido)hexanamido)hexanoico**

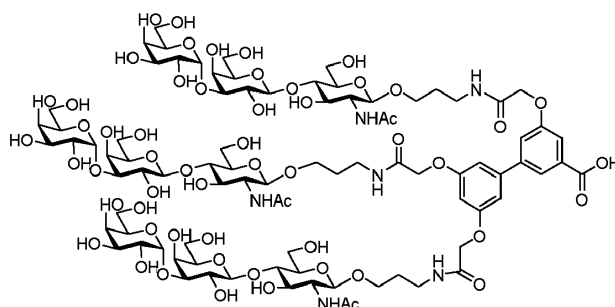


30 El compuesto del título se preparó usando la Preparación 21 y 6-(6-aminohexanamido)hexanoato de bencilo (JACS 136 (52) 18034-18043 (2014)) según la Preparación 14.

LCMS (procedimiento B) Tr= 1,47 minutos, ES⁺ MS m/z 1201,3 [M+2H]⁺/2; masa teórica: 2400,0

35 Preparación 21

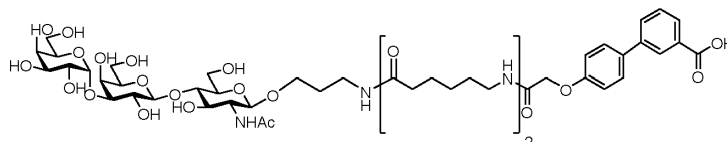
40 **Ácido 3',5,5'-tris(2-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico**



El compuesto del título se preparó usando alfa-Gal y ácido 2,2',2''-((5'-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-3,3',5-tril)tris(oxi)triacético (documento WO2017060729) según la Preparación 14. LCMS (procedimiento B) Tr= 1,27 minutos, ES⁺ MS m/z 1088,4 [M+2H]⁺/2, masa teórica: 2174,0.

5 Preparación 22

Ácido 4'-(2-((6-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico

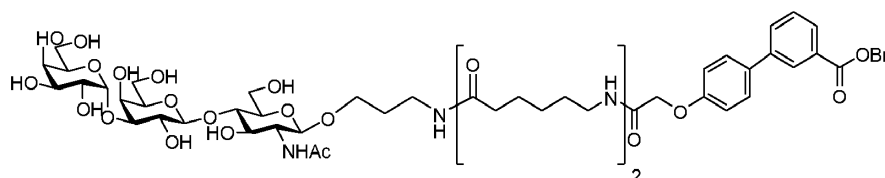


Se disolvió 4'-(2-((6-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6- (hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo (Preparación 23, 215 mg) en una solución de TEA y agua (1:1 v/v, 10 ml) y se agitó durante la noche. La reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 1-30 %/agua con 0,1 % de NH₃. El residuo resultante que contenía el material de partida se trató adicionalmente con una solución de TEA y agua (1:1 v/v, 10 ml) y se agitó durante 5 días. La reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 1-30 %/agua con 0,1% de NH₃ seguido de MeCN al 1-20 %/agua con 0,1% de NH₃ procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (total= 172 mg, 87 %).

LCMS (procedimiento B) Tr= 1,65 minutos, ES⁺ MS m/z 1083,9 [M+H]⁺

Preparación 23

4'-(2-((6-((3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-Acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo

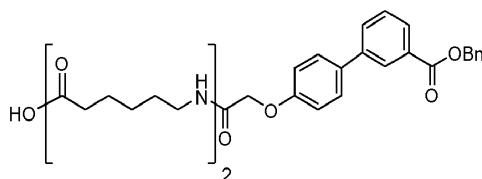


A una solución de ácido 6-(6-(2-((3'-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)oxi)acetamido)hexanamido)hexanoico (Preparación 24, 110 mg, 187 μmol) disuelto en DMF (2,2 ml) se le añadieron HATU (106 mg, 280 μmol) y TEA (80 μl, 560 μmol). Se añadió una solución de alfa-Gal (146 mg, 243 μmol) en DMSO (1 ml) y la reacción se agitó durante 1 hora. La reacción se purificó directamente usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 10-70% en agua con 0,1 % de NH₃ procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (215 mg, 98 %).

LCMS (procedimiento B) Tr= 2,62 minutos, ES⁺ MS m/z 1173,7 [M+H]⁺

Preparación 24

Ácido 6-(6-(2-((3'-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)oxi)acetamido)hexanamido)hexanoico



Se disolvió 4'-(2-((6-((6-(terc-butoxi)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo (Preparación 25, 320 mg, 496 μmol) en una solución de DCM, TFA y agua (10:10:1 v/v/v, 10 ml) y se agitó

durante 3 horas. La reacción se concentró a vacío y el residuo se mezcló azeotrópicamente con dioxano/tolueno (1:1 v/v, 3 x 24 ml). El material bruto se purificó usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 10-80 %/agua con 0,1 % de ácido fórmico procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (168 mg, 66 %).

5 LCMS (procedimiento B) Tr= 2,81 minutos, ES⁻ MS m/z 589,2 [M]⁻

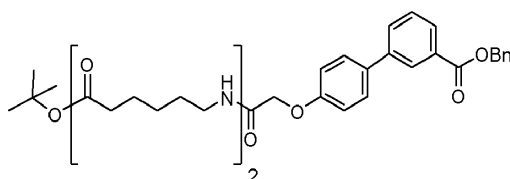
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,25 (1H, s), 8,02 (1H, d), 7,72 (1H, d), 7,59 (2H, d), 7,52-7,45 (3H, m), 7,42-7,35 (3H, m), 7,00 (2H, d), 6,74 (1H, s a), 5,71 (1H, s a), 5,40 (2H, s), 4,56 (2H, s), 3,44-3,39 (2H, m), 3,32-3,28 (2H, m), 2,37 (2H, t), 2,15 (2H, t), 1,68-1,51 (6H, m), 1,41-1,33 (6H, m) ppm.

10

Preparación 25

4'-(2-((6-((Terc-butoxi)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxilato de bencilo

15



A una solución de ácido 2-((3'-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)oxi)acético (Preparación 16, 150 mg, 414 μmol, 1 eq.) disuelto en DMF (3 ml) se le añadieron TEA (173 μl, 1,2 mmol) y una solución de 6-(6-aminohexanamido)hexanoato de terc-butilo (Preparación 31, 162 mg, 538 μmol) en DMF (2 ml). Luego se añadió HATU (236 mg, 621 μmol) y la reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se purificó directamente usando cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0-100 % en heptanos procurando el compuesto del título como un aceite incoloro (320 mg, >100 %).

25 LCMS (procedimiento B) Tr= 3,70 minutos, ES⁻ MS m/z 645,3 [M]⁻

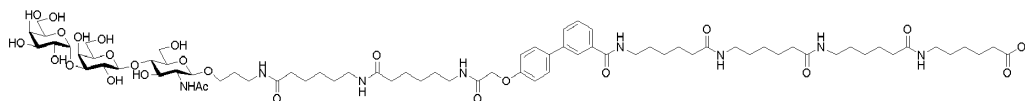
RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 8,25 (1H, s), 8,05-8,00 (1H, m), 7,75-7,70 (1H, m), 7,60 (2H, d), 7,50-7,45 (3H, m), 7,40-7,35 (3H, m), 7,00 (2H, d), 6,70 (1H, s a), 5,60 (1H, s a), 5,40 (2H, s), 4,55 (2H, s), 2,25-2,10 (4H, m), 1,70-1,55 (9H, m), 1,55-1,45 (3H, m), 1,45 (9H, s), 1,40-1,30 (4H, m) ppm.

30

Preparación 26

Ácido 1-(4'-(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)-1,8,15,22-tetraoxo-2,9,16,23-tetraazanonacosan-29-oico

35



40 A una solución de 1-(4'-(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)-1,8,15,22-tetraoxo-2,9,16,23-tetraazanonacosan-29-oato de bencilo (Preparación 27, 50 mg, 30 μmol) en MeOH (5 ml) y agua (5 ml) se le añadió Pd al 5 %/C (5 mg). La reacción se desgasificó y se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (balón) durante la noche. La reacción se filtró a través de un filtro de jeringa y la solución se concentró al vacío procurando el compuesto del título como un sólido gris pálido (26 mg, 60 %).

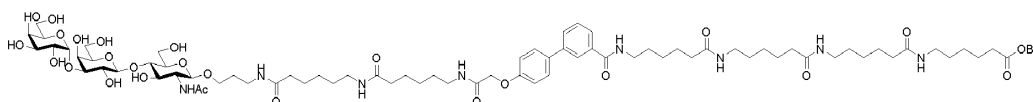
45

LCMS (procedimiento B) Tr= 1,88 minutos, ES⁻ MS m/z 1537,4 [M]⁻

50 Preparación 27

1-(4'-(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-Acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)-1,8,15,22-tetraoxo-2,9,16,23-tetraazanonacosan-29-oato de bencilo

55

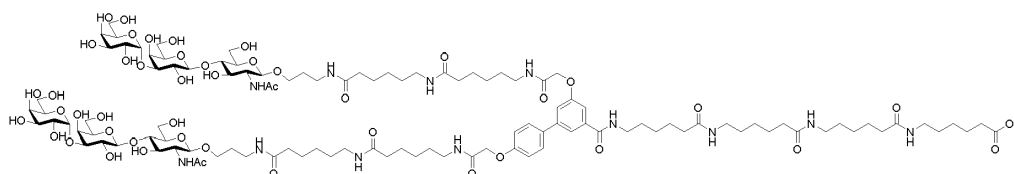


- A una solución de ácido 4'-(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico (Preparación 22, 50 mg, 46 μ mol) en DMF (2 ml) se le añadió HATU (26 mg, 69 μ mol) y TEA (19 μ l, 138 μ mol). Se añadió una solución de clorhidrato de 6-(6-(6-(6-aminohexanamido)hexanamido)hexanoato de bencilo (documento WO2017060729, 36 mg, 60 μ mol) en DMF (2 ml) y TEA (13 μ l, 92 μ mol) procurando una solución amarilla y la reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente.
- 10 La reacción se purificó directamente usando cromatografía en columna de fase inversa eluyendo con MeCN al 2-70 % en agua con 0,1 % de NH_3 procurando el compuesto del título como un sólido incoloro (50 mg, 66 %).

LCMS (procedimiento B) Tr= 2,41 minutos, ES⁺ MS m/z 1627,5 [M+H]⁺

15 Preparación 28

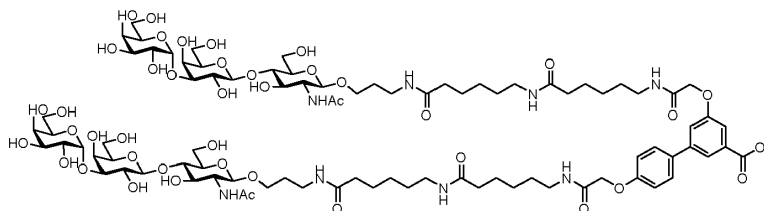
- Ácido 1-(4',5-bis(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-il)-1,8,15,22-tetraoxo-2,9,16,23-tetraazanonacosan-29-oico**
- 20



- El compuesto del título se preparó según los procedimientos descritos para la Preparación 27 y 26 usando ácido 4',5-bis(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico (Preparación 29) y 6-(6-(6-(6-aminohexanamido)hexanamido)hexanoato de bencilo (documento WO2017060729). LCMS (procedimiento B) Tr= 1,72 minutos, ES⁺ MS m/z 1211,7 [M+2H]²⁺; masa teórica: 2420,7
- 25
- 30

Preparación 29

- Ácido 4',5-bis(2-((6-((3-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)propil)amino)-6-oxohexil)amino)-6-oxohexil)amino)-2-oxoetoxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico**
- 35

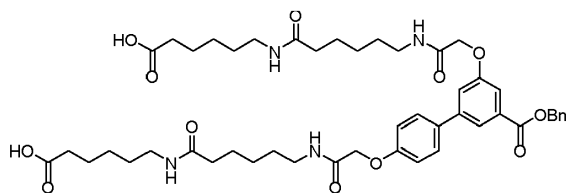


- 40 El compuesto del título se preparó según los procedimientos descritos para la Preparación 22 y 23 usando ácido 6,6'-((6,6'-((2,2'-((5-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-3,4'-diil)bis(oxi))bis(acetil))bis(azanodiil))bis(hexanoil))bis(azanodiil))dihexanoico (Preparación 30) y alfa-Gal.

- 45 LCMS (procedimiento B) Tr= 1,55 minutos, ES⁻ MS m/z 1967,3 [M-H]⁻

Preparación 30

- Ácido 6,6'-((6,6'-((2,2'-((5-((benciloxi)carbonil)-[1,1'-bifenil]-3,4'-diil)bis(oxi))bis(acetil))bis(azanodiil))bis(hexanoil))bis(azanodiil))dihexanoico**
- 50



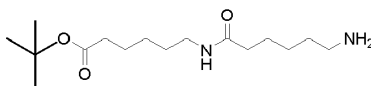
El compuesto del título se preparó según los procedimientos descritos para la Preparación 25 y 24 usando 6-(6-aminohexanamido)hexanoato de terc-butilo (Preparación 31) y ácido 2,2'-((5-((benciloxi)carbonyl)-[1,1'-bifenil]-3,4-dil)bis(oxi))diacético (documento WO2017060729).

LCMS (procedimiento B) Tr= 2,67 minutos, ES- MS m/z 889,5 [M-H]⁻

Preparación 31

10

6-(6-Aminohexanamido)hexanoato de terc-butilo



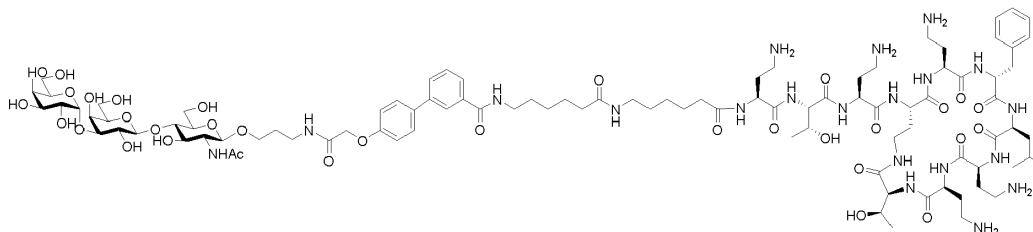
15 El compuesto del título se preparó según los procedimientos descritos para la Preparación 27 y 26 usando 6-aminohexanoato de terc-butilo y ácido 6-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]hexanoico. RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 5,71 (1H, s a), 3,30-3,20 (2H, m), 2,80-2,70 (2H,

m), 2,28-2,07 (4H, m), 1,72-1,29 (21H, m).

20

Ejemplos de síntesis

Ejemplo 1



25

A una solución de la Preparación 14 (1,2 mg, 0,0011 mmol) en DMF (0,5 ml) se añadieron DIPEA (4,0 eq) y una solución de la Preparación 1 (2,5 mg, 0,0024 mmol) en DMF (200 ml). Luego se añadió HATU (1,2 eq) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa (C-18, 4 g, MeCN al 0-70 %/agua) y se secó a vacío. El residuo se disolvió en hidrazina al 3 %/MeOH (0,5 ml) y la reacción se agitó durante 30 minutos. El material se purificó usando cromatografía en columna HPLC preparativa (columna: Gemini-NX 5u C18 110A 150*4,6mm; Flujo: 1,0 ml/min T= 30 °C; Fase móvil A: TFA al 0,1 en H₂O B: TFA al 0,1 % en MeCN; Instrumento: Agilent 1260 HPLC-(5-521) y se liofilizó procurando el compuesto del título como la sal trifluoroacetato (0,1 mg).

35

HPLC (procedimiento 1) Tr= 15,11-15,76 minutos;

MS m/z 1064,0 [M+2H]⁺/2 y 710 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 2127,0.

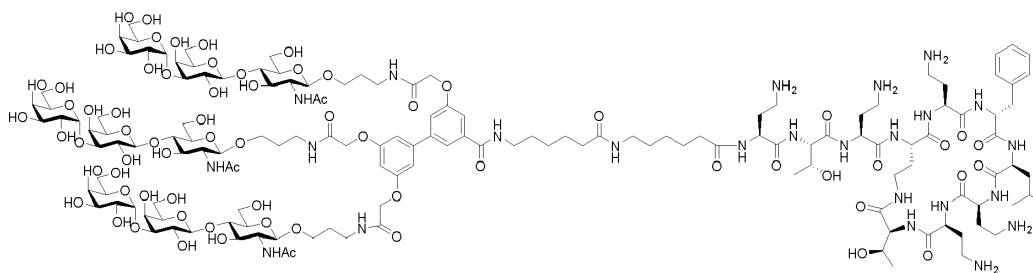
40 Los siguientes ejemplos 2-25 se prepararon usando las Preparaciones adecuadas del presente documento y según el Ejemplo 1 (formación de enlace amida seguida de hidrazinólisis). Los ejemplos se aislaron como sales TFA y se analizaron mediante HPLC como se describe a continuación:

Procedimiento 1: Gemini-NX 5um, C18, 110A, 150x4,6mm; Flujo: 1,0 ml/min. Fase móvil A: TFA al 0,1 % en H₂O B: TFA al 0,1 % en MeCN; Instrumento: HPLC-BE Agilent 1200 (1-614). Gradiente: 0 minutos (85 % de A), 20 minutos (55 % de A), 20,1 minutos (10 % de A), 23 minutos (10 % de A).

Procedimiento 2: XBridge C18, 3,5 um, 2,1x30 mm. Flujo: 1,0 ml/min. Fase móvil A: TFA al 0,1 % en agua; Fase móvil B: MeCN. Gradiente: 0 minutos (5 % de B), 6 minutos (95 % de B), 7 minutos (95 % de B), 8 minutos (5 % de B). Temperatura: 40 °C.

50

Ejemplo 2

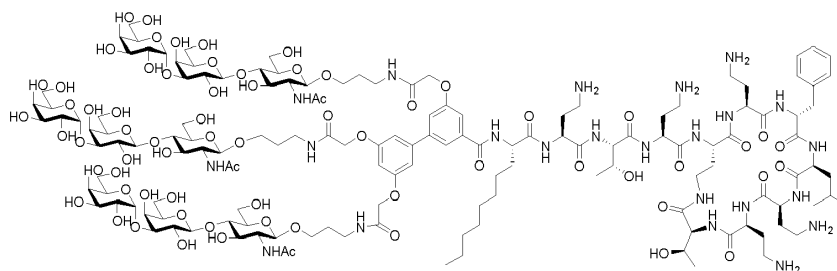


5 El compuesto del Ejemplo 2 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 20 y la Preparación 1.

HPLC (procedimiento 1) Tr= 6,31-7,31 minutos

10 MS m/z 1149,0 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 3445,6

Ejemplo 3

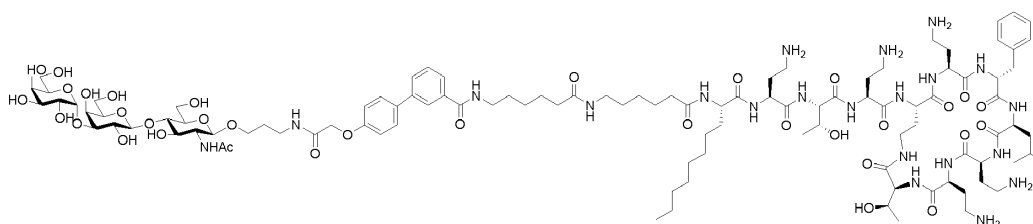


15 El compuesto del Ejemplo 3 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 21 y la Preparación 3.

HPLC (procedimiento 1) Tr= 9,66-10,84 minutos

20 MS m/z 1130 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 3388,6

Ejemplo 4



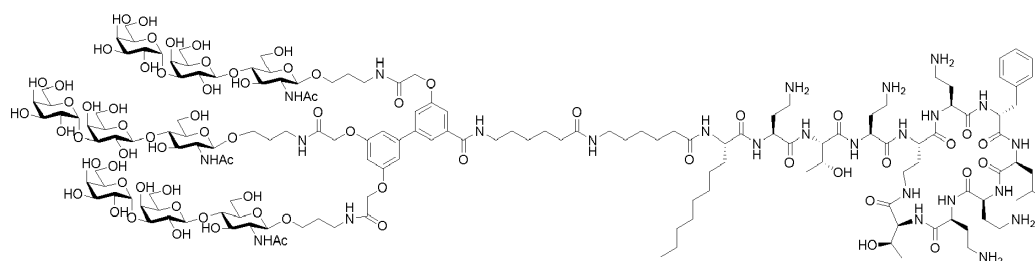
25 El compuesto del Ejemplo 4 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 14 y la Preparación 3.

30 HPLC (procedimiento 1) Tr= 9,82-10,24 minutos

MS m/z 1149,0 [M+2H]⁺/2, masa teórica: 2297,7

Ejemplo 5

35



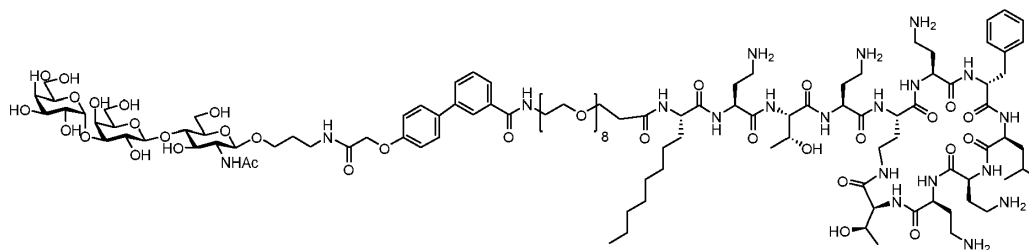
El compuesto del Ejemplo 5 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 20 y la Preparación 3.

5

HPLC (procedimiento 1) Tr= 10,23-10,81 minutos

MS m/z 904,0 [M+4H]⁺/4, masa teórica: 3614,9

10 Ejemplo 6



El compuesto del Ejemplo 6 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 6.

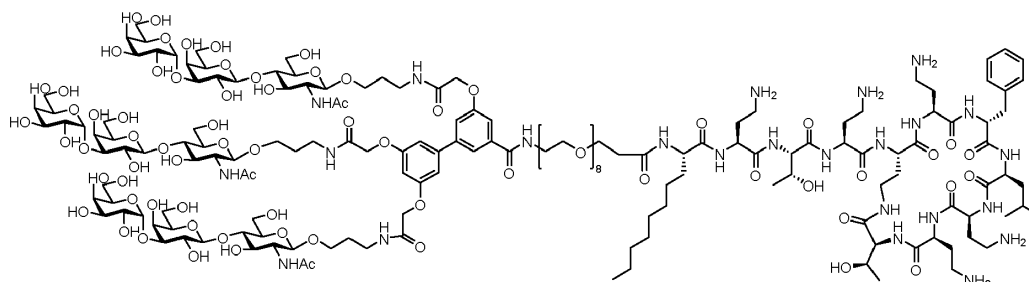
HPLC (procedimiento 1) Tr= 9,71-10,55 minutos

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,953 minutos

20

MS m/z 832 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 2493,0

Ejemplo 7



25

El compuesto del Ejemplo 7 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 21 y la Preparación 6.

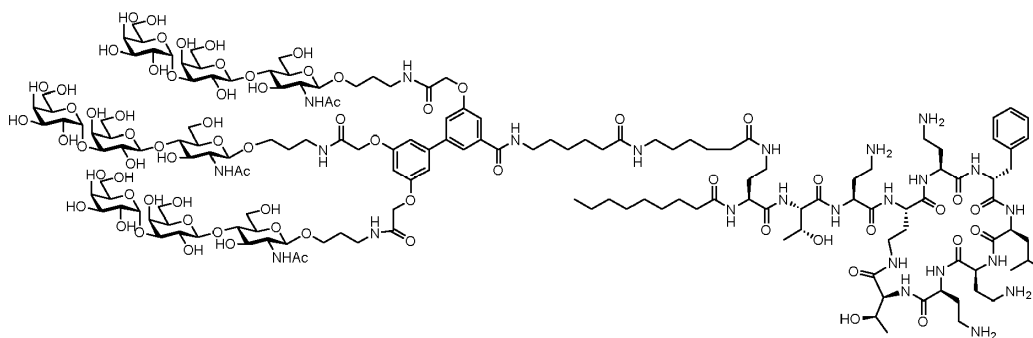
30 HPLC (procedimiento 1) Tr= 10,06-10,98 minutos

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,640 minutos

MS m/z 1271 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 3809,0

35

Ejemplo 8



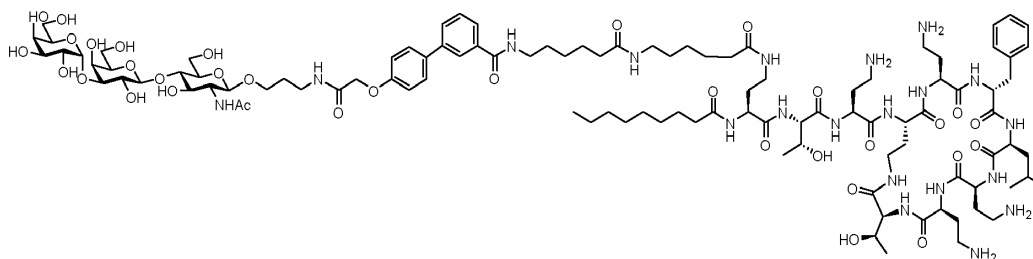
El compuesto del Ejemplo 8 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 20 y la Preparación 4.

5

HPLC (procedimiento 1) Tr= 14,43-15,24 minutos

MS m/z 897 [M+4H]⁺/4, masa teórica: 3585,8

10 Ejemplo 9



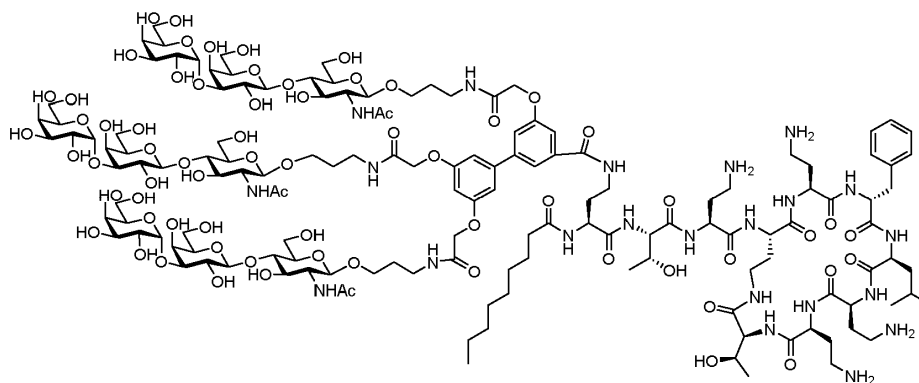
El compuesto del Ejemplo 9 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 14 y la Preparación 4.

HPLC (procedimiento 1) Tr= 17,57-17,84 minutos

MS m/z 1134 [M+2H]⁺/2, masa teórica: 2268,6

20

Ejemplo 10

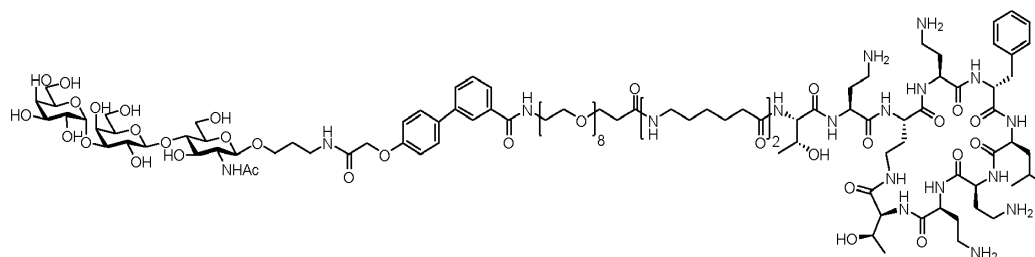


El compuesto del Ejemplo 10 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 21 y la Preparación 4.

HPLC (procedimiento 1) Tr= 13,70-14,50 minutos

30 MS m/z 1120 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 3359,5

Ejemplo 11



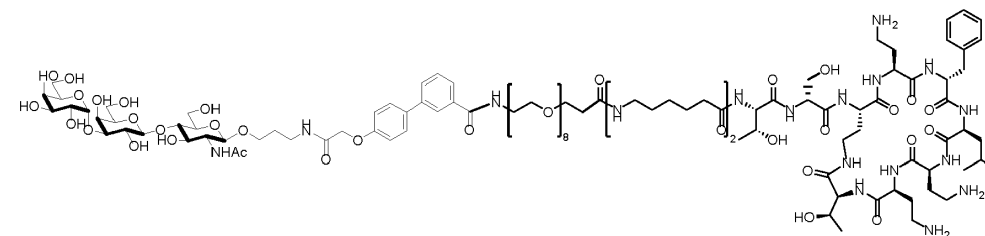
El compuesto del Ejemplo 11 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 11.

5

HPLC (procedimiento 1) Tr= 9,75-10,79 minutos

MS m/z 817,9 [M+3H]⁺/3, masa teórica: 2450,3

10 Ejemplo 12



El compuesto del Ejemplo 12 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 10.

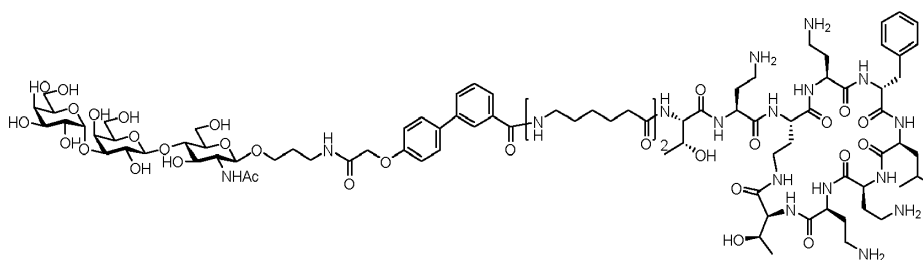
HPLC (procedimiento 1) Tr= 10,77-11,23 minutos

HPLC (procedimiento 2) Tr= 3,065 minutos

20

MS m/z 1219,8 [M+2H]⁺/2, masa teórica: 2437,3

Ejemplo 13



25

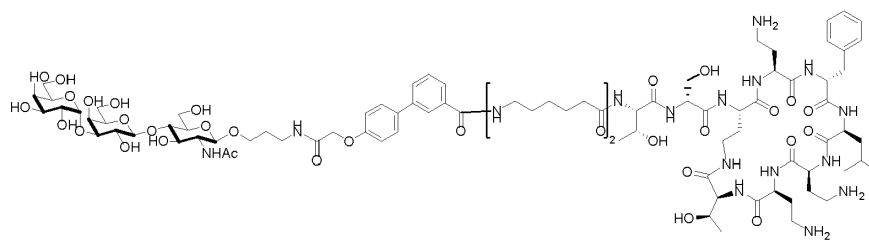
El compuesto del Ejemplo 13 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 13.

30 HPLC (procedimiento 1) Tr= 8,77-11,14 minutos

MS m/z 1014,0 [M+2H]⁺/2, masa teórica: 2026,0

Ejemplo 14

35



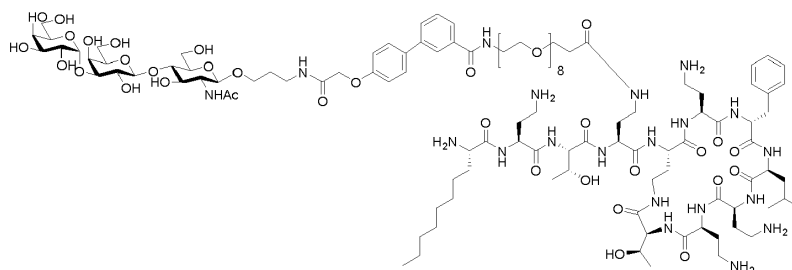
El compuesto del Ejemplo 14 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 12.

5

HPLC (procedimiento 1) Tr= 10,71-11,64 minutos

MS m/z 1007,8 [M+2H]⁺/2, masa teórica: 2013,6

10 Ejemplo 15



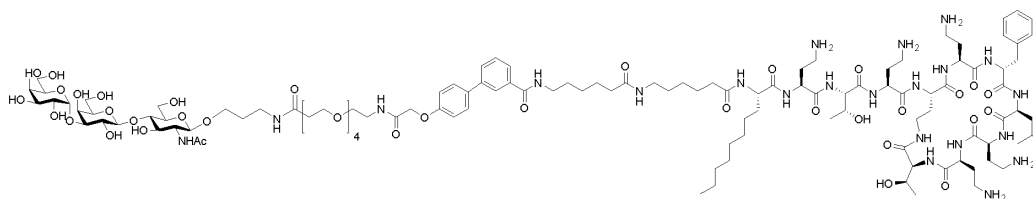
El compuesto del Ejemplo 15 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 9.

HPLC (procedimiento 2) Tr= 8,390 minutos

MS m/z 1248,3 [M+2H]⁺/2, 832,3 [M+3H]⁺/3 masa teórica: 2493,3

20

Ejemplo 16



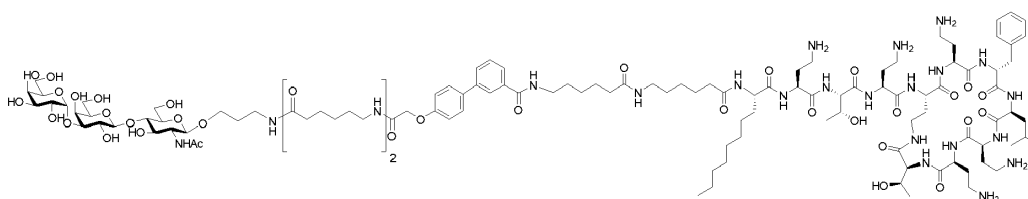
25 El compuesto del Ejemplo 16 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando ácido 4'-((22-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-2,18-dioxo-6,9,12,15-tetraoxa-3,19-diazadocasil)oxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico (documento WO2017060729) y Preparación 8.

30

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,944 minutos

MS m/z 1273,0 [M+2H]⁺/2, 849,1 [M+3H]⁺/3; masa teórica: 2543,4

35 Ejemplo 17



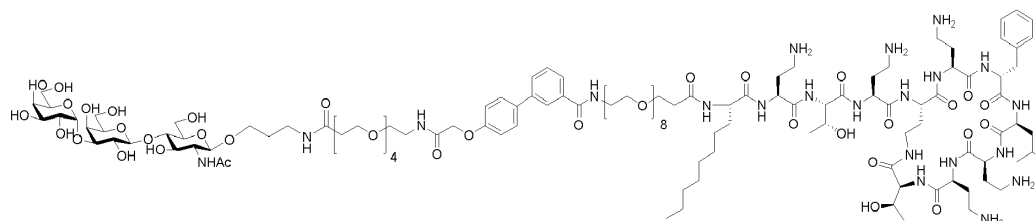
El compuesto del Ejemplo 17 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 22 y la Preparación 8.

5 HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,964 minutos

MS m/z 1262,5 [M+2H]⁺/2, 841,9 [M+3H]⁺/3; masa teórica: 2522,41

Ejemplo 18

10



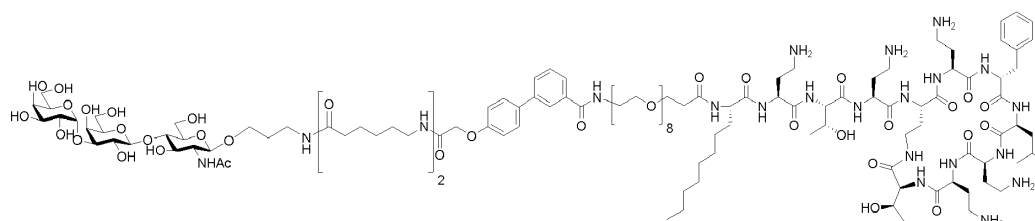
El compuesto del Ejemplo 18 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando ácido 4'-((22-((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6- (hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)-2,18-dioxo-6,9,12,15-tetraoxa-3,19-diazadocasil)oxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico (documento WO2017060729) y Preparación 6.

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,963 minutos

20

MS m/z 914,9 [M+3H]⁺/3, 686,3 [M+4H]⁺/4; masa teórica: 2740,5

Ejemplo 19



25

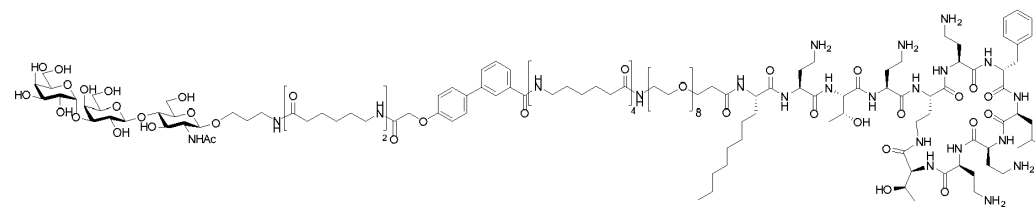
El compuesto del Ejemplo 19 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 22 y la Preparación 6.

30 HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,998 minutos

MS m/z 1361,6 [M+2H]⁺/2, 907,9 [M+3H]⁺/3; masa teórica: 2719,49

Ejemplo 20

35



El compuesto del Ejemplo 20 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 26 y la Preparación 6.

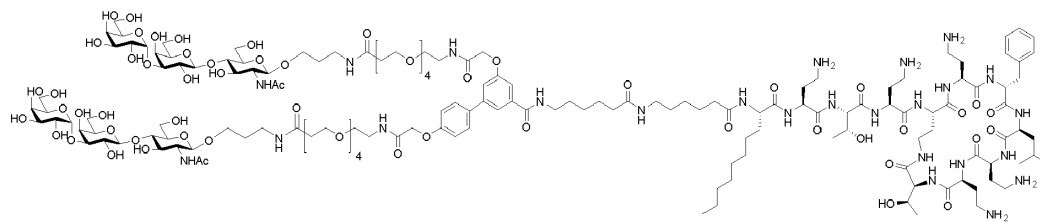
40

HPLC (procedimiento 2) Tr= 3,033 minutos

MS m/z 1058,7 [M+3H]⁺/3, 794,1 [M+4H]⁺/4; masa teórica: 3173,82

Ejemplo 21

45



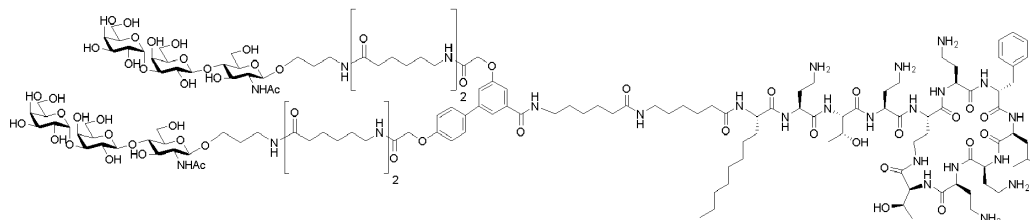
El compuesto del Ejemplo 21 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando ácido 5' 4',5-bis((22-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-5-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-4-((2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-pirán-2-il)oxi)tetrahidro-2H-pirán-2-il)oxi)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-pirán-2-il)oxi)-2,18-dioxo-6,9,12,15-tetraoxa-3,19-diazadocosil)oxi)-[1,1'-bifenil]-3-carboxílico (documento WO2017060729) y Preparación 8.

10 HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,761 minutos

MS m/z 1151,3 [M+3H]⁺/3, 863,6 [M+4H]⁺/4; masa teórica: 3448,8

Ejemplo 22

15



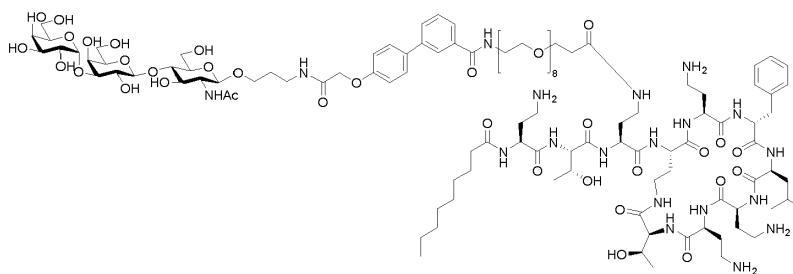
El compuesto del Ejemplo 22 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 29 y la Preparación 8.

20

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,791 minutos

MS m/z 1137,1 [M+3H]⁺/3, 853,2 [M+4H]⁺/4; masa teórica: 3406,8

Ejemplo 23



El compuesto del Ejemplo 23 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 15 y la Preparación 5.

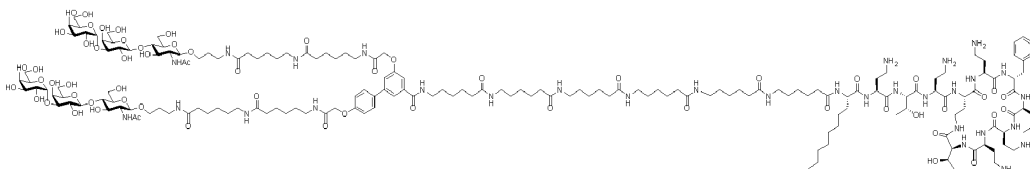
30

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,983 minutos

MS m/z 1233,7 [M+2H]⁺/2, 822,7 [M+3H]⁺/3; masa teórica: 2464,30

35

Ejemplo 24



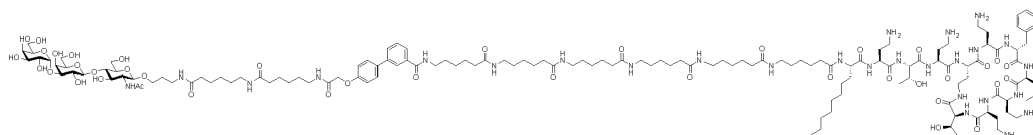
El compuesto del Ejemplo 24 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 28 y la Preparación 8.

5 HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,852 minutos

MS m/z 1287,6 [M+3H]⁺/3, 966,3 [M+4H]⁺/4; masa teórica: 3861,5

Ejemplo 25

10



El compuesto del Ejemplo 25 se preparó de manera análoga al procedimiento descrito en el Ejemplo 1 usando la Preparación 26 y la Preparación 8.

15

HPLC (procedimiento 2) Tr= 2,990 minutos

MS m/z 993,0 [M+3H]⁺/3, 745,1 [M+4H]⁺/4; masa teórica: 2976,6

20 Ensayos biológicos

Unión de compuestos a LPS purificado

La unión de compuestos a LPS de bacterias gramnegativas se evalúa midiendo el desplazamiento de LPS de un derivado dansilado de polimixina B en un ensayo establecido (J. Pharm. Sci. (2016), 105(2), 1006-10; Antimicrob Agents Chemother. (1986), 29(3), 495-550; Anal. Biochem (2011), 409 (2), 273-283). La polimixina B dansilada se tituló en una solución de LPS y se midió la intensidad fluorescente (exc 485 nm, em 535 nm). La titulación de la concentración creciente de conjugados principales o polimixina B en solución que contiene LPS y polimixina B dansilada correspondiente al 95 % de ocupación de sonda dio como resultado una disminución de la emisión de fluorescencia por desplazamiento de polimixina B dansilada por el candidato.

30

Las actividades de unión a lipopolisacárido (LPS) de los péptidos derivados de polimixina sintética y los Ejemplos en el presente documento se evalúan midiendo el desplazamiento de dansil-polimixina B (DPMB) unida a LPS de *E. coli* y LPS de *P. aeruginosa*.

35

Materiales

Se compró el LPS de *Escherichia coli* en Sigma Aldrich, n° cat L3024. Se compró el LPS de *Pseudomonas aeruginosa* en Sigma Aldrich, n° cat L9143. Se compró el sulfato de polimixina B (PMB_std) en Alfa Aesar, n° cat J63074. Se compró el clorhidrato de nonapéptido de polimixina B (PMB_nona) en Sigma Aldrich, n° cat P2076. Se compró agua libre de nucleasa en Qiagen, n° cat 129114.

40

Protocolo de ensayo

Se preparó LPS bacteriano a 20 µg/ml en agua libre de nucleasa. La DPMB se elaboró a 4 µM en agua libre de nucleasa. Se equilibró LPS bacteriano a 20 µg/ml (40 µl) o un control negativo de agua (40 µl) con DPMB 4 µM (20 µl) mediante retención durante 5 minutos a temperatura ambiente con agitación (450 rpm), en una placa negra sólida de 96 pocillos. Se añadieron titulaciones de compuestos de prueba a una concentración de ensayo final 4x (20 µl) a LPS y DPMB, la placa de ensayo se mantuvo durante 10 minutos a temperatura ambiente con agitación (450 rpm). La intensidad de fluorescencia se capturó en un lector de placas multimarcaje Envision 2102 (Em340, Ex485). El compuesto del Ejemplo 1 se probó en el ensayo de unión mencionado anteriormente y los resultados se muestran en las Figuras 1 y 2.

50

Ensayo de reclutamiento de anticuerpos mediante citometría de flujo usando anticuerpo IgM anti-alfa-galactosilo

55

Se usó citometría de flujo para demostrar la unión de L (como un péptido antimicrobiano catiónico) a *E. coli* y F (como la molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano). Se usó un anticuerpo secundario IgM anti-humano marcado con FITC para detectar la unión de anti-alfa-galactosilo al compuesto.

60

Procedimiento 1

- Los ensayos se llevaron a cabo en placas de fondo en U de 96 pocillos de poliestireno (Costar). Las placas de 96 pocillos se bloquearon previamente con tampón de bloqueo de caseína (Thermo Fisher 37528) y luego se lavaron tres veces con (HBSS+/+) (Life Technologies 14025-050) antes del ensayo. Se cultivaron K12 de *E. coli* (Public Health England, NCTC 10538) en caldo LB (Fisher BP1426-500) hasta la fase exponencial tardía. Posteriormente, las bacterias se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos y se resuspendieron en HBSS+/+ a una densidad bacteriana de 2×10^9 UFC/ml. Se añadió tinte bacteriana rojo BacLight (ThermoFisher B35001) a las bacterias a una concentración final de $1 \mu\text{M}$ y se incubó a temperatura ambiente durante 10 min. Las bacterias se centrifugaron (10.000 rpm, 5 minutos) y se resuspendieron en HBSS+/+ a una concentración de 2×10^9 UFC/ml. Luego se incubaron 1×10^8 UFC con $20 \mu\text{M}$ de los Ejemplos 2-14 (véase la Tabla 1) o tampón solo, a temperatura ambiente, agitando a 450 rpm durante 1 hora. Las bacterias se lavaron con $3 \times 200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+ (centrifugado a 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir $50 \mu\text{l}$ de anticuerpo IgM M86 humano anti-alfa galactosilo (anticuerpo absoluto Ab00532) a $25 \mu\text{g/ml}$ en HBSS+/+. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora agitando a 450 rpm. Las bacterias se lavaron con $3 \times 200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+ (centrifugado durante 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir $100 \mu\text{l}$ de anticuerpo IgM-FITC anti-humano (Biolegend 314506) a dilución 1:10 en HBSS+/+ y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora agitando a 450 rpm. Después de un lavado final de $3 \times 200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+, las bacterias se resuspendieron en $200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+ y se evaluaron en un FC500 (Beckman Coulter). Las bacterias se regularon en vivo en el canal FL-4 y se registró la mediana de desplazamiento fluorescente en el canal FL-1. Los datos de todas las muestras se analizaron en el paquete de software Kaluza (Beckman Coulter). El experimento se repitió dos veces.
- 20 La Tabla 1 demuestra la captura de anticuerpos IgM anti-alfa-galactosilo en la superficie de las bacterias usando el ensayo de citometría de flujo descrito anteriormente. El desplazamiento en veces frente al fondo se calculó dividiendo la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en presencia de Ejemplos $20 \mu\text{M}$ entre la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en ausencia de Ejemplos. El desplazamiento en la intensidad de fluorescencia (FITC) ocurre debido al evento de unión en cada extremo de la molécula.

25

Tabla 1

Nº Ejemplo	de Reclutamiento de IgM anti-alfa-galactosilo a $20 \mu\text{M}$ (mediana del desplazamiento en veces frente al vehículo)	Número de pruebas (n)
1	3	n= 2
2	5	n= 1
3	7	n= 2
4	14	n= 2
5	17	n= 2
6	24	n= 2
7	28	n= 2
8	10	n= 2
9	21	n= 4
10	2	n= 2
14	1	n= 2
13	2	n= 2
11	1	n= 2
12	1	n= 2

Procedimiento 2

- 30 Los ensayos se llevaron a cabo en placas de fondo en U de 96 pocillos de poliestireno (Costar). Se cultivaron K12 de *E. coli* (Public Health England, NCTC 10538) en caldo LB (Fisher BP1426-500) hasta la fase exponencial tardía. Posteriormente, las bacterias se lavaron una vez con HBSS+/+ por centrifugando a 10.000 rpm durante 5 minutos y se resuspendieron en HBSS+/+. Las bacterias se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos y se resuspendieron en HBSS+/+ a una densidad bacteriana de 2×10^9 UFC/mL. Luego se incubaron 1×10^8 UFC con $20 \mu\text{M}$ de los Ejemplos 15-25 (véase la Tabla 2) o tampón solo, a temperatura ambiente, agitando a 450 rpm durante 1 hora. Las bacterias se lavaron con $3 \times 200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+ (centrifugado a 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir $50 \mu\text{l}$ de anticuerpo IgM M86 humano anti-alfa galactosilo (anticuerpo absoluto Ab00532) a $25 \mu\text{g/ml}$ en HBSS+/+. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora agitando a 450 rpm. Las bacterias se lavaron con $3 \times 200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+ (centrifugado durante 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir $100 \mu\text{l}$ de anticuerpo IgM-FITC anti-humano (Biolegend 314506) a dilución 1:10 en HBSS+/+ y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora agitando a 450 rpm. Después de un lavado final de $3 \times 200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+, las bacterias se resuspendieron en $200 \mu\text{l}$ de HBSS+/+ y se evaluaron en un Cytoflex (Beckman Coulter). Se recogieron 50.000 recuentos de bacterias. Se registró la mediana del

desplazamiento fluorescente en el canal FITC-A. Los datos de todas las muestras se analizaron en el paquete de software Kaluza (Beckman Coulter). El experimento se repitió dos veces.

La Tabla 2 demuestra la captura de anticuerpos IgM anti-alfa-galactosilo en la superficie de las bacterias usando el ensayo de citometría de flujo descrito anteriormente. El desplazamiento en veces frente al fondo se calculó dividiendo la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en presencia de Ejemplos 20 μM entre la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en ausencia de Ejemplos. El desplazamiento de la intensidad de fluorescencia (FITC) ocurre debido al evento de unión en cada extremo de la molécula.

10

Tabla 2

Nº de Ejemplo	Reclutamiento de IgM anti-alfa-galactosilo a 20 μM (mediana del desplazamiento en veces frente al vehículo)	Número de pruebas (n)
15	248	n= 4
16	70	n= 2
17	213	n= 2
18	65	n= 2
19	109	n= 2
20	145	n= 2
21	158	n= 2
22	149	n= 2
23	28	n= 2
24	269	n= 4
25	104	n= 4

Ensayo de reclutamiento de anticuerpos mediante citometría de flujo usando anticuerpo IgG anti-alfa-galactosilo

15 Se usó citometría de flujo para demostrar la unión de L (como un péptido antimicrobiano catiónico) a *E. coli* y F (como la molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano). Se usó un anticuerpo secundario IgG anti-humano marcado con FITC para detectar la unión de alfa-galactosilo al compuesto.

Los ensayos se llevaron a cabo en placas de fondo en U de 96 pocillos de poliestireno (Costar). Las placas de 96 pocillos se bloquearon previamente con tampón de bloqueo de caseína (Thermo Fisher 37528) y luego se lavaron tres veces con (HBSS+/-) (Life Technologies 14025-050) antes del ensayo. Se cultivaron K12 de *E. coli* (Public Health England, NCTC 10538) en caldo LB (Fisher BP1426-500) hasta la fase exponencial tardía. Posteriormente, las bacterias se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos y se resuspendieron en HBSS+/- a una densidad bacteriana de 2×10^9 UFC/ml. Se añadió tinte bacteriana rojo Baclight (ThermoFisher B35001) a las bacterias a una concentración final de 1 μM y se incubó a temperatura ambiente durante 10 min. Las bacterias se centrifugaron (10.000 rpm, 5 minutos) y se resuspendieron en HBSS+/- a una concentración de 2×10^9 UFC/ml. Luego se incubaron 1×10^8 UFC con 20 μM de los Ejemplos 1-10 (véase la Tabla 3) o tampón solo, a temperatura ambiente, agitando a 450 rpm durante 1 hora. Las bacterias se lavaron con 3 x 200 μl de HBSS+/- (centrifugado a 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir 50 μl de anticuerpo IgG anti-alfa galactosilo. (El anticuerpo anti-alfa-galactosilo se purificó a partir de IVIG humana (Gammagard) mediante purificación por afinidad usando una columna de sefarosa con alfa-galactosil-ASH (albúmina sérica humana) de Rockland Immunochemicals Inc.) a 42 $\mu\text{g/ml}$ en HBSS+/-). La placa se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora agitando a 450 rpm. Las bacterias se lavaron con 3 x 200 μl de HBSS+/- (centrifugado durante 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir 100 μl de anticuerpo anti-IgG-FITC humano (Biolegend 409310) a dilución 1:20 en HBSS+/- y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora agitando a 450 rpm. Después de un lavado final de 3 x 200 μl de HBSS+/-, las bacterias se resuspendieron en 200 μl de HBSS+/- y se evaluaron en un FC500 (Beckman Coulter). Las bacterias se regularon en vivo en el canal FL-4 y se registró la mediana de desplazamiento fluorescente en el canal FL-1. Los datos de todas las muestras se analizaron en el paquete de software Kaluza (Beckman Coulter). El experimento se repitió dos veces.

40 La Tabla 3 demuestra la captura de anticuerpos IgG anti-alfa-galactosilo en la superficie de las bacterias usando el ensayo de citometría de flujo descrito anteriormente. El desplazamiento en veces frente al fondo se calculó dividiendo la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en presencia de Ejemplos 20 μM entre la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en ausencia de Ejemplos. El desplazamiento de la intensidad de fluorescencia (FITC) ocurre debido al evento de unión en cada extremo de la molécula.

45

Tabla 3

Nº Ejemplo	de Reclutamiento de IgG anti-alfa-galactosilo a 20 µM (mediana del desplazamiento en veces frente al vehículo)	Número de pruebas (n)
1	1	n= 1
2	2	n= 1
3	3	n= 2
4	8	n= 2
5	6	n= 2
6	7	n= 2
7	6	n= 2
8	3	n= 2
9	5	n= 2
10	1	n= 2

Ensayo de deposición del complemento Citometría de flujo

- Los ensayos se llevaron a cabo en placas de fondo en U de 96 pocillos de poliestireno (Costar). Se cultivaron K1:O18ac:H7 de *E. coli* (ATCC 700973) en caldo LB (Fisher BP1426-500) hasta la fase exponencial tardía. Posteriormente, las bacterias se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos y se resuspendieron en PBS (Sigma D8537-500 ml). Las bacterias se centrifugaron (10.000 rpm, 5 minutos) y se resuspendieron en PBS con BSA al 1 % (Sigma A2153-50G) a una concentración de 2×10^9 UFC/ml. Luego se incubaron 1×10^8 UFC con 20 µM y/o 10 µM de los Ejemplos 4-7, 9 y 15-25 (véase la Tabla 4 y la Figura 3) o tampón solo, a 4 °C durante 45 min. Las bacterias se lavaron con 1×200 µl de HBSS+/+ (centrifugado a 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir 100 µl de suero humano agrupado (Innovate Research IPLA-CSER) en PBS + 1 % de BSA a una concentración sérica final del 25 %. Las bacterias se incubaron a 37 °C durante 20 min. Se añadieron 100 µ de PBS enfriado con hielo a cada pocillo. La placa se centrifugó a 4000 rpm durante 5 minutos a 4 °C y se descartó el sobrenadante. Las bacterias se lavaron otras 2 veces con 200 µl de HBSS+/+ (centrifugado durante 4000 rpm, 5 minutos), antes de añadir 100 µl de anticuerpo anti-C3b/C3bi-PE humano (Biolegend 846104) a dilución 1:50 en PBS + 1 % de BSA y se incubaron a 4 °C durante 45 min. Después de un lavado final de 3×200 µl de HBSS+/+, las bacterias se resuspendieron en 200 µl de HBSS+/+ y se evaluaron en un Cytoflex (Beckman Coulter). La mediana de intensidad fluorescente se registró en el canal de PE. Los datos de todas las muestras se analizaron en el paquete de software Kaluza (Beckman Coulter).
- 20 La Tabla 4 demuestra la deposición de C3b del suero humano en la superficie de las bacterias usando el ensayo de citometría de flujo descrito anteriormente. El desplazamiento en veces frente al fondo se calculó dividiendo la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en presencia de Ejemplos 20 µM entre la Intensidad Fluorescente Mediana obtenida en ausencia de Ejemplos. El desplazamiento en la intensidad de fluorescencia (PE) ocurre debido al reclutamiento de C3b en la superficie de la bacteria.

25

Tabla 4

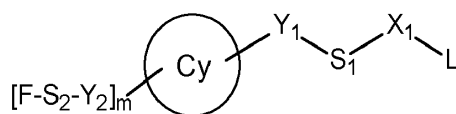
Ejemplo	Reclutamiento de C3b a 10 µM (mediana del desplazamiento en veces frente al vehículo)	Número de pruebas (n)
4	95	n= 4
5	17	n= 2
6	170	n= 4
7	4	n= 2
9	44	n= 4
15	6	n= 2
16	47	n= 4
17	93	n= 4
18	49	n= 4
19	59	n= 4
20	14	n= 4
21	17	n= 4
22	16	n= 4

Ejemplo	Reclutamiento de C3b a 10 μM (mediana del desplazamiento en veces frente al vehículo)	Número de pruebas (n)
23	5	n= 2
24	105	n= 2
25	113	n= 2

La Figura 3 demuestra el reclutamiento de C3b del suero humano en la superficie de *E. coli* en presencia del Ejemplo 4 (Figura 3A), Ejemplo 5 (Figura 3B), Ejemplo 6 (Figura 3C) Ejemplo 7 (Figura 3D) y Ejemplo 9 (Figura 3E) a 20 μ M. El desplazamiento en la intensidad de fluorescencia (PE) se produce debido al reclutamiento de C3b del suero en la superficie bacteriana.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5 (I)

en el que:

- L representa un resto de unión seleccionado de un péptido antimicrobiano catiónico ligado a X₁ por una amina;
- 10 S₁ representa un enlace o un espaciador seleccionado de un grupo -(CH₂)_a- o -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d, en el que uno a cinco de dichos grupos -CH₂- pueden estar opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)-; a representa un número entero seleccionado de 1 a 40; b representa un número entero seleccionado de 0 a 25; c representa un número entero seleccionado de 1 a 20; d representa un número entero seleccionado de 1 a 15;
- 15 S₂ representa un espaciador seleccionado de un grupo -(CH₂)_e- o -(CH₂)_f-(CH₂-CH₂-O)_g-(CH₂)_h-, en el que uno a tres de dichos grupos -CH₂- pueden estar opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- o -NHC(O)-; e representa un número entero seleccionado de 1 a 20; f representa un número entero seleccionado de 1 a 10; g representa un número entero seleccionado de 1 a 15; h representa un número entero seleccionado de 1 a 5; X₁ representa un enlace o -C(O)-; Y₁ e Y₂ representan independientemente un enlace, grupo -O-, -S-, -NH-, -C(O)-, -NHC(O)- o -C(O)NH-; F representa una molécula de carbohidrato capaz de unirse a un anticuerpo anti-alfa-galactosilo humano;
- 20 m representa un número entero seleccionado de 1 a 5; y Cy representa fenilo, bifenilo o trifenilo, de tal modo que cuando Cy representa bifenilo o trifenilo, dicho grupo -Y₁-S₁-X₁-L puede estar presente en cualquiera de dichos anillos fenilo y dicho grupo o grupos [F-S₂-Y₂]_m pueden estar presentes en cualquiera de dichos anillos fenilo.
- 30 2. El compuesto como se define en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que S₁ representa un enlace o un espaciador seleccionado de:
- (CH₂)_a-, en el que uno o cinco de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅ o -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-); o
- 35 -(CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d-, en el que dos de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-, -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅- o -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅-CONH-(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-);
- 40 o S₁ representa un espaciador seleccionado de:
- (CH₂)_a-, en el que uno de dichos grupos -CH₂- está sustituido por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅); o
- (CH₂)_b-(CH₂-CH₂-O)_c-(CH₂)_d- (tal como -(CH₂CH₂O)₈-(CH₂)₂-);
- 45 o S₁ representa un espaciador seleccionado de: -(CH₂)_a-, en el que uno de dichos grupos -CH₂- está sustituido por un grupo -C(O)NH- (tal como -(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₅).
3. El compuesto como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:
- 50 a representa un número entero seleccionado de: 1 a 35; o 10 a 35; o 11 o 35; o 11; y/o b representa un número entero seleccionado de 0 a 24; o 0 o 24; o 0; y/o c representa un número entero seleccionado de 1 a 15; o 1 a 10; u 8; y/o d representa un número entero seleccionado de 1 a 3; o 1 o 2; o 2; y/o
- 55 Y₁ representa -C(O)NH- o -C(O)-; o -C(O)NH-.
4. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que S₂ representa un separador seleccionado de:
- 60 -(CH₂)_e-, en el que uno o tres de dichos grupos -CH₂- están opcionalmente sustituidos por un grupo -NHC(O)- (tal

como $-(\text{CH}_2)_3\text{-NHCO-CH}_2-$ o $-(\text{CH}_2)_3\text{-NHCO-(CH}_2)_5\text{-NHCO-(CH}_2)_5\text{-NHCO-CH}_2-$; o $-(\text{CH}_2)_r\text{-(CH}_2\text{-CH}_2\text{-O)}_9\text{-(CH}_2)_n-$, en el que dos de dichos grupos $-\text{CH}_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-\text{NHC(O)-}$ (tal como $-(\text{CH}_2)_3\text{-NHCO-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_4\text{-(CH}_2)_2\text{-NHCO-CH}_3$; o S_2 representa un espaciador seleccionado de $-(\text{CH}_2)_e-$, en el que tres de dichos grupos $-\text{CH}_2-$ están opcionalmente sustituidos por un grupo $-\text{NHC(O)-}$ (tal como $-(\text{CH}_2)_3\text{-NHCO-(CH}_2)_5\text{-NHCO-(CH}_2)_5\text{-NHCO-CH}_2-$).

5. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

10 e representa un número entero seleccionado de 1 a 17; o 5 a 17; o 5 o 17; o 17; y/o

f representa un número entero seleccionado de 1 a 8; o 2 a 6; o 4; y/o

g representa un número entero seleccionado de 1 a 5; o 1 a 4; o 4; y/o

h representa un número entero seleccionado de 1 a 4; o 4; y/o

X_1 representa $-\text{C(O)-}$; y/o

15 Y_2 representa $-\text{O-}$; y/o

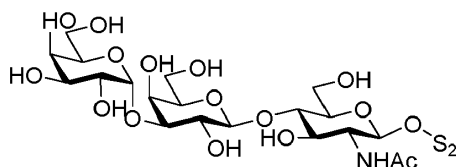
m representa un número entero seleccionado de 1 a 4; o 1, 2 o 3; o 1 o 2; o 1.

6. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que C_y representa fenilo o bifenilo.

20

7. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que F se selecciona de galactosil-alfa-1,3-galactosil-beta-1,4-N-acetilglucosamina, alfa-1,3-galactobiosa, alfa-1,3-beta-1,4-galactotriosa o galilipentasacárido.

25 8. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que F tiene una estructura como se muestra en la siguiente fórmula:

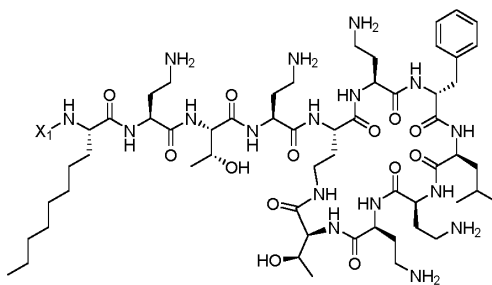


30 en la que S_2 se refiere al punto de unión al grupo S_2 .

9. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que L representa un lipopéptido, tal como una polimixina seleccionada de polimixina B, polimixina B_2 , nonapéptido de polimixina, colistina A, colistina B, CB-182,204 (Cubist Pharmaceuticals), 5a (Pfizer), 5x (Pfizer), CA 14 (Cantab Anti-Infectives) CA824 (Cantab Anti-Infectives), NAB739 (Northern Antibiotics), NAB741 (Northern Antibiotics), NAB7061 (Northern Antibiotics), 38 (University of Queensland), FADDI-002 (Monash University), FADDI-100 (Monash University).

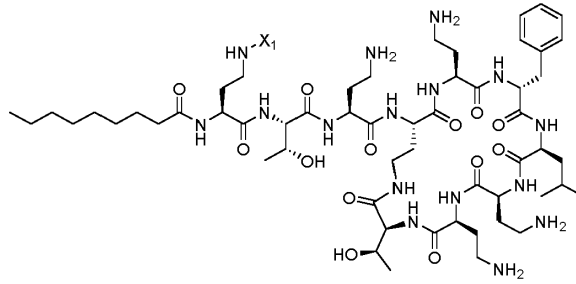
10. El compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que L representa un lipopéptido; o un derivado de polimixina B; o un derivado de polimixina B seleccionado de una de las siguientes estructuras:

$\text{H}_2\text{N-[L-octilGly]-Dab-Thr-Dab-Dab*}-\text{Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*}$

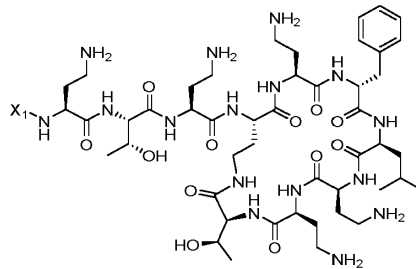


45

nonanamida-Dab(NH_2)-Thr-Dab-Dab*}-\text{Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*}

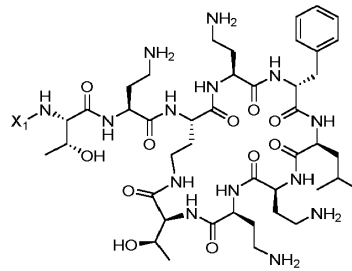


H₂N-Dab-Thr-Dab-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*



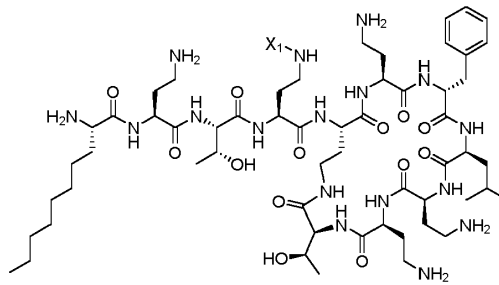
5

H₂N-Thr-Dab-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*

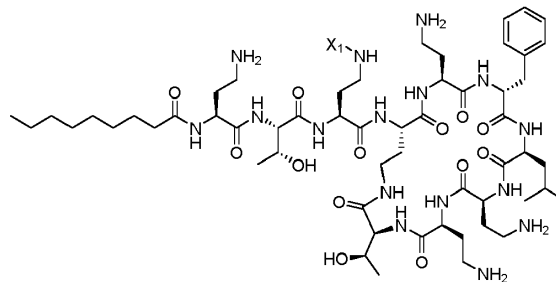


10

H₂N-[L-octilGly]-Dab-Thr-Dab(NH₂)-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*

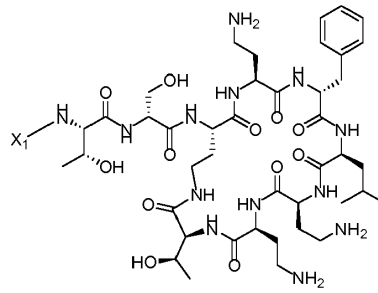


15 nonanamida-Dab-Thr-Dab(NH₂)-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*



20 H₂N-Thr-[D-Ser]-Dab*-Dab-[D-Phe]-Leu-Dab-Dab-Thr*

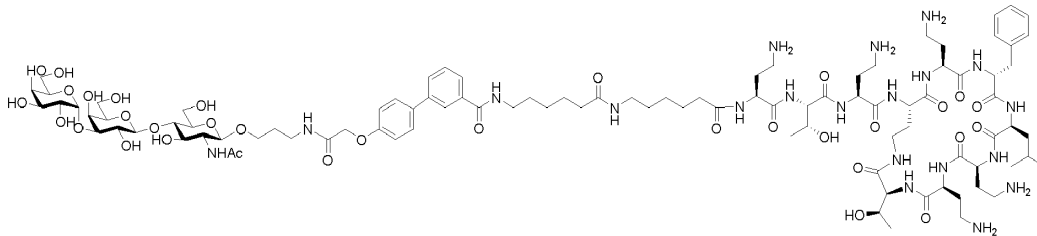
20



en el que X₁ se refiere al punto de unión al grupo X₁.

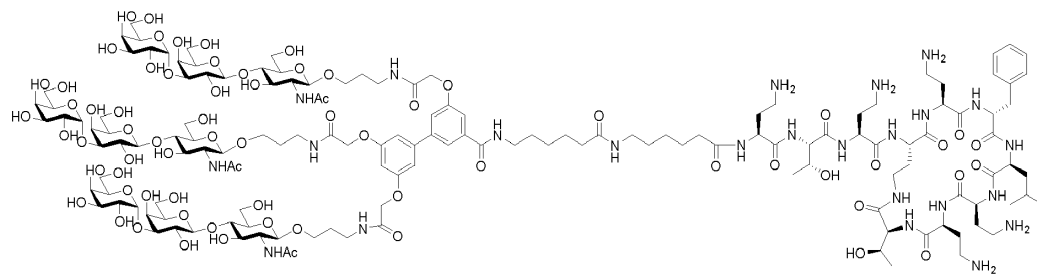
- 5 11. El compuesto como se define en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que se selecciona de uno cualquiera de los Ejemplos 1-25:

Ejemplo 1



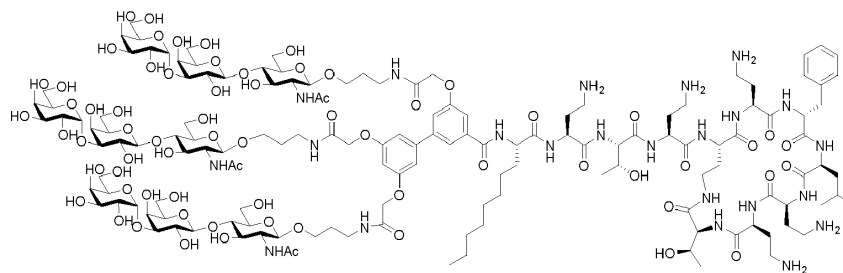
10

Ejemplo 2

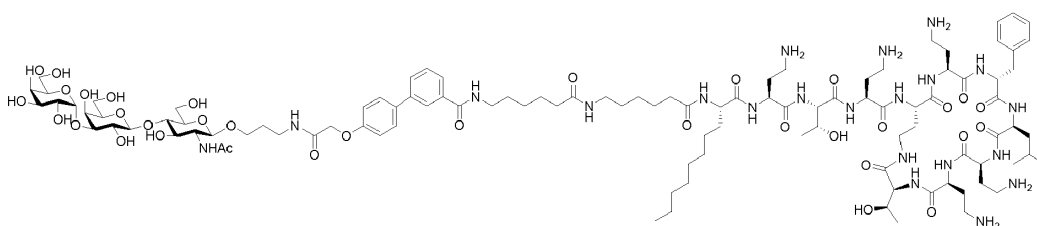


15

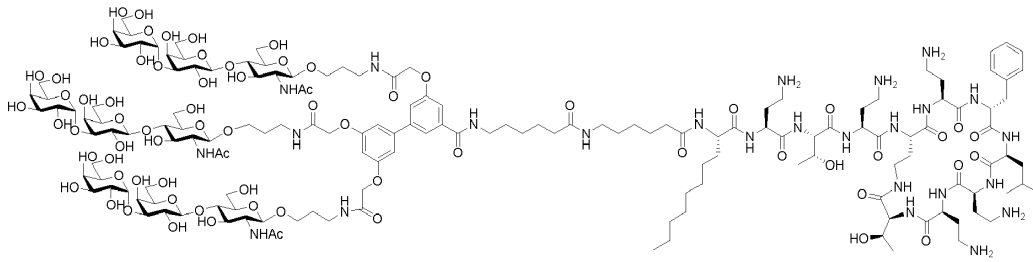
Ejemplo 3



20 **Ejemplo 4**

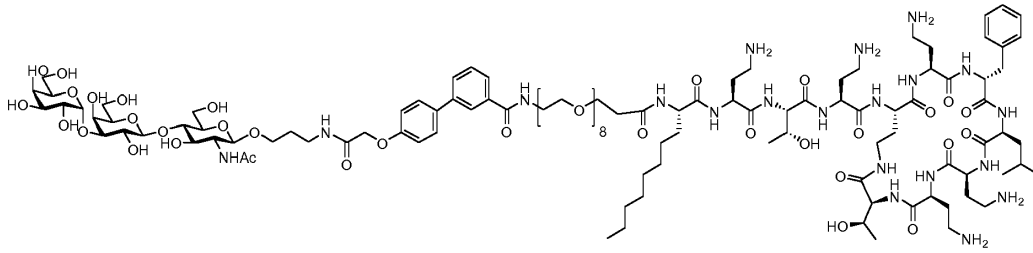


Ejemplo 5



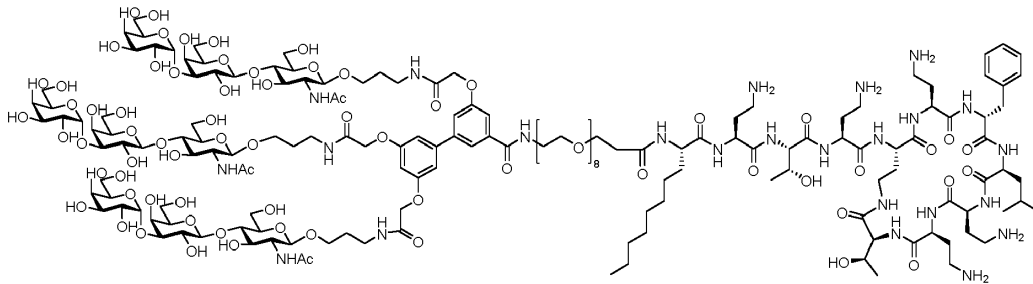
Ejemplo 6

5



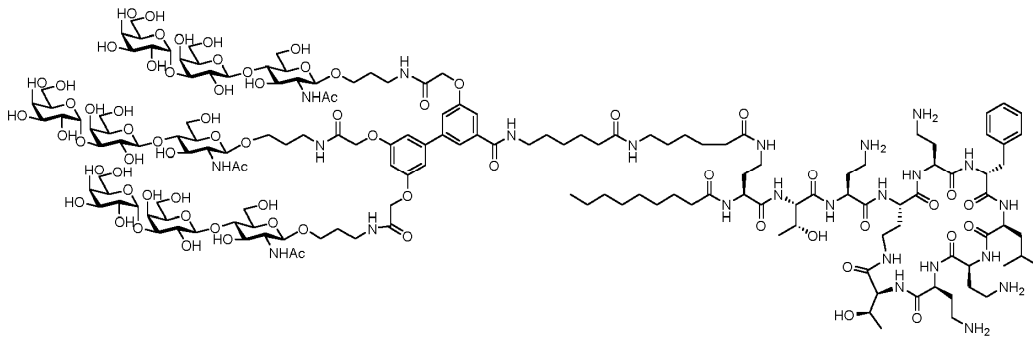
Ejemplo 7

10



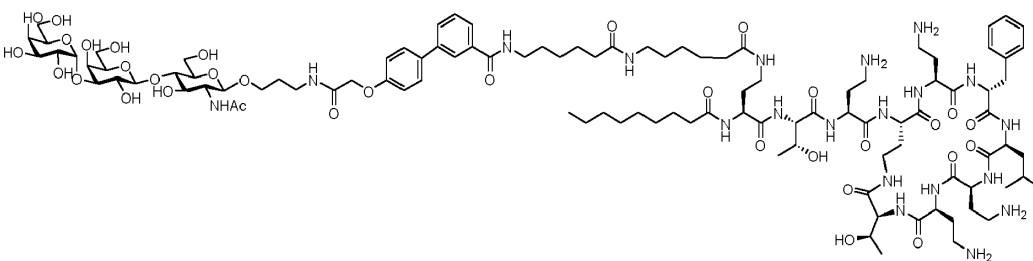
Ejemplo 8

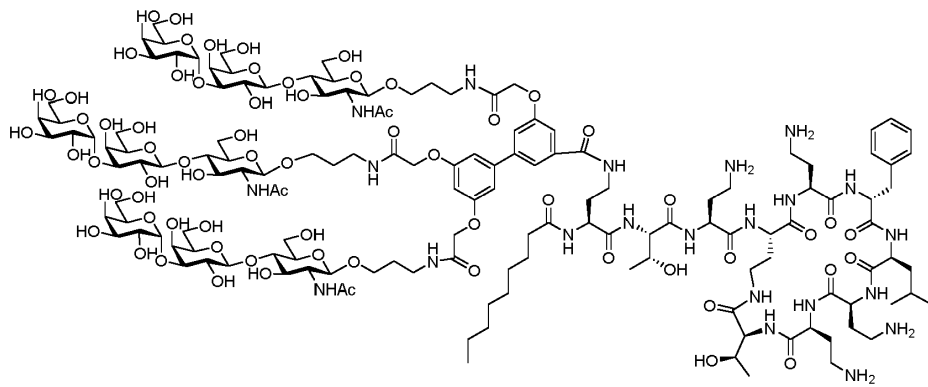
15



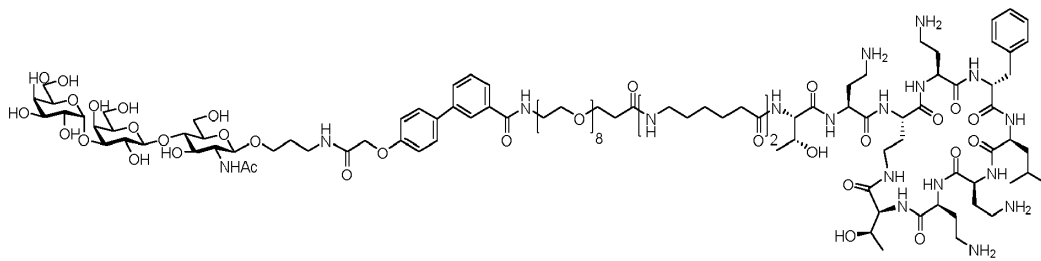
Ejemplo 9

20 **Ejemplo 10**



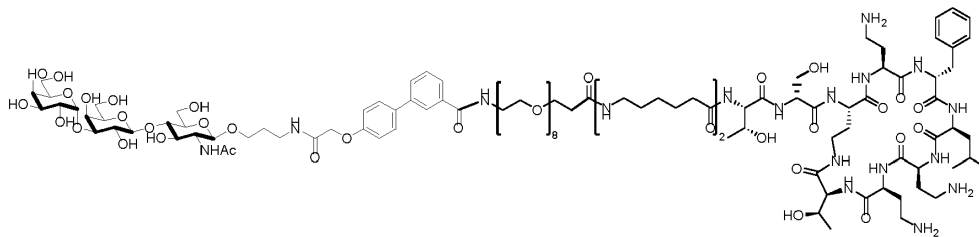


Ejemplo 11



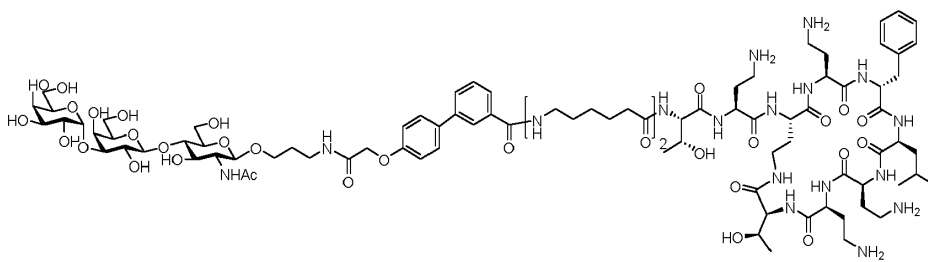
5

Ejemplo 12

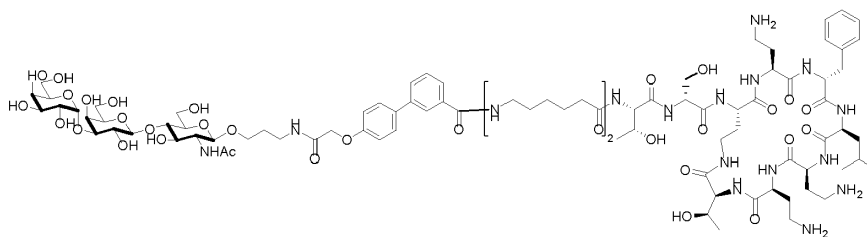


10

Ejemplo 13

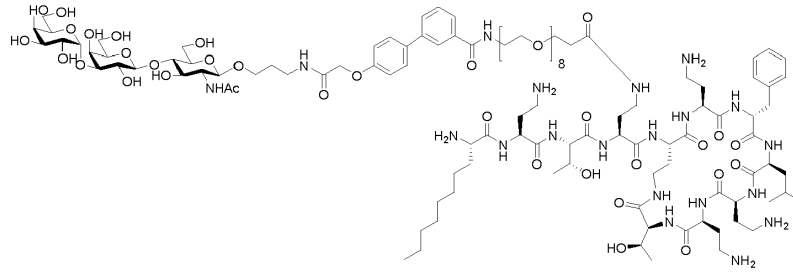


15 Ejemplo 14

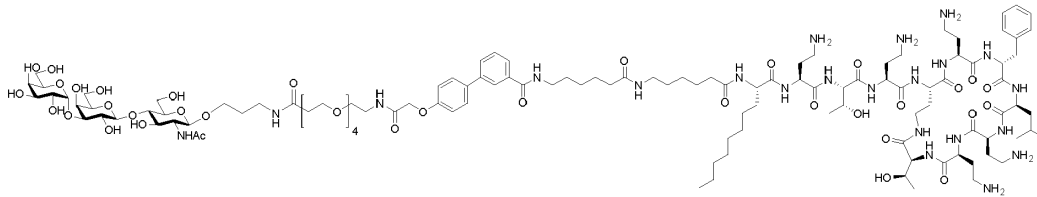


Ejemplo 15

20

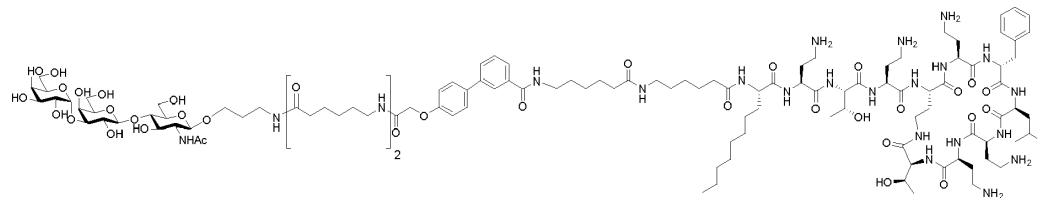


Ejemplo 16



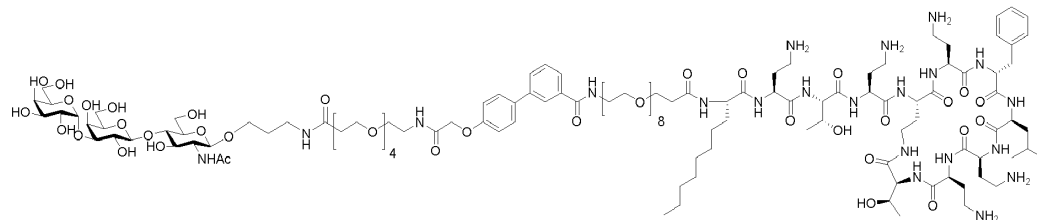
5

Ejemplo 17

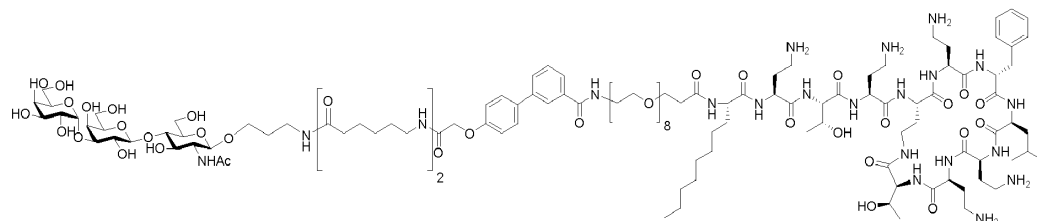


10

Ejemplo 18

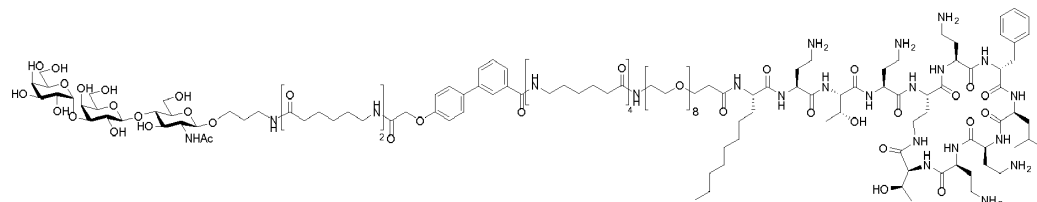


15 Ejemplo 19



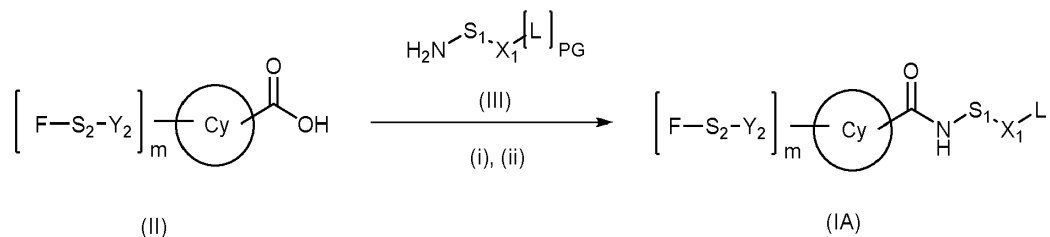
Ejemplo 20

20



Ejemplo 21

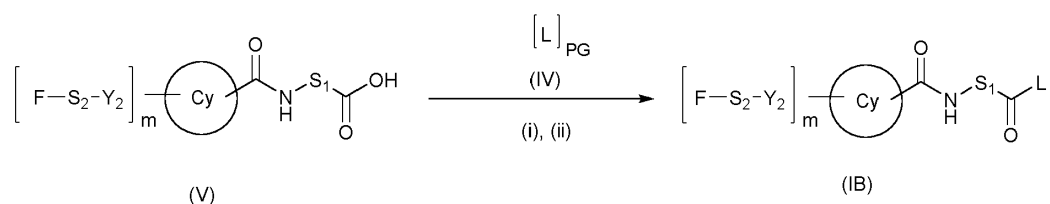
desprotección adecuada:



5 en la que S₂, Y₂, m, Cy, S₁, X₁, L y F son como se define en la reivindicación 1 y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

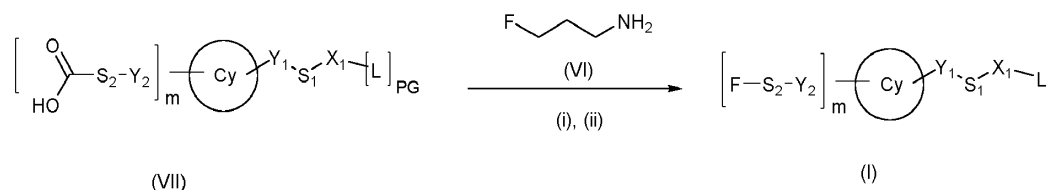
(b) preparar un compuesto de fórmula (I) en la que Y₁ representa -CONH- y X₁ representa -C(O)- (es decir, un compuesto de fórmula (IB)) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IV) con un compuesto de fórmula (V) seguido de una etapa de desprotección adecuada:

10



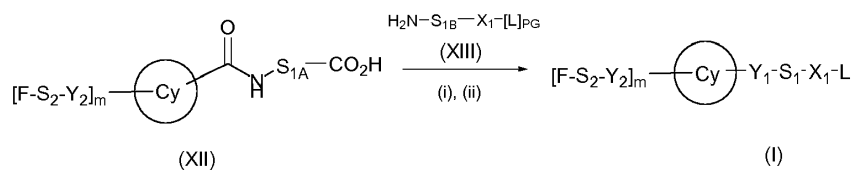
en la que S₂, Y₂, m, Cy, S₁, L y F son como se define en la reivindicación 1 y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

15 (c) preparar un compuesto de fórmula (I) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un compuesto de fórmula (VII) seguido de una etapa de desprotección adecuada:



20 en la que S₂, Y₂, m, Cy, S₁, X₁, L y F son como se define en la reivindicación 1, PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

(d) preparar un compuesto de fórmula (I) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XII) con un compuesto de fórmula (XIII) seguido de una etapa de desprotección adecuada, en la que Y₁ representa un grupo CONH:



25

en la que S₂, Y₂, m, Cy, X₁, L y F son como se define anteriormente en el presente documento, S_{1A} y S_{1B} forman juntos un grupo S₁ y PG es un grupo protector de péptido adecuado tal como Dde; o

(e) interconversión de un compuesto de fórmula (I) o derivado protegido del mismo a un compuesto adicional de fórmula (I) o derivado protegido del mismo.

30

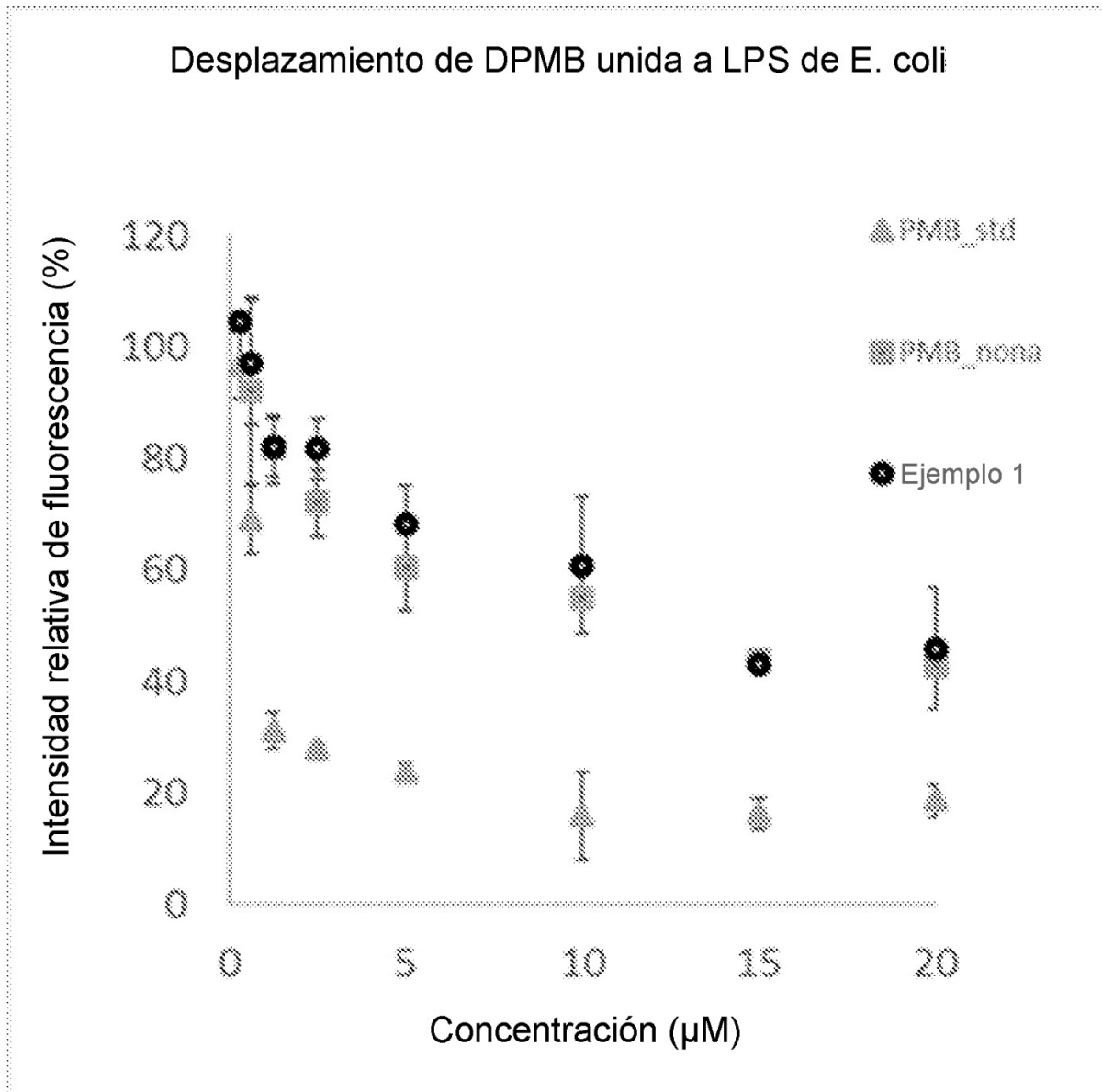


FIGURA 1

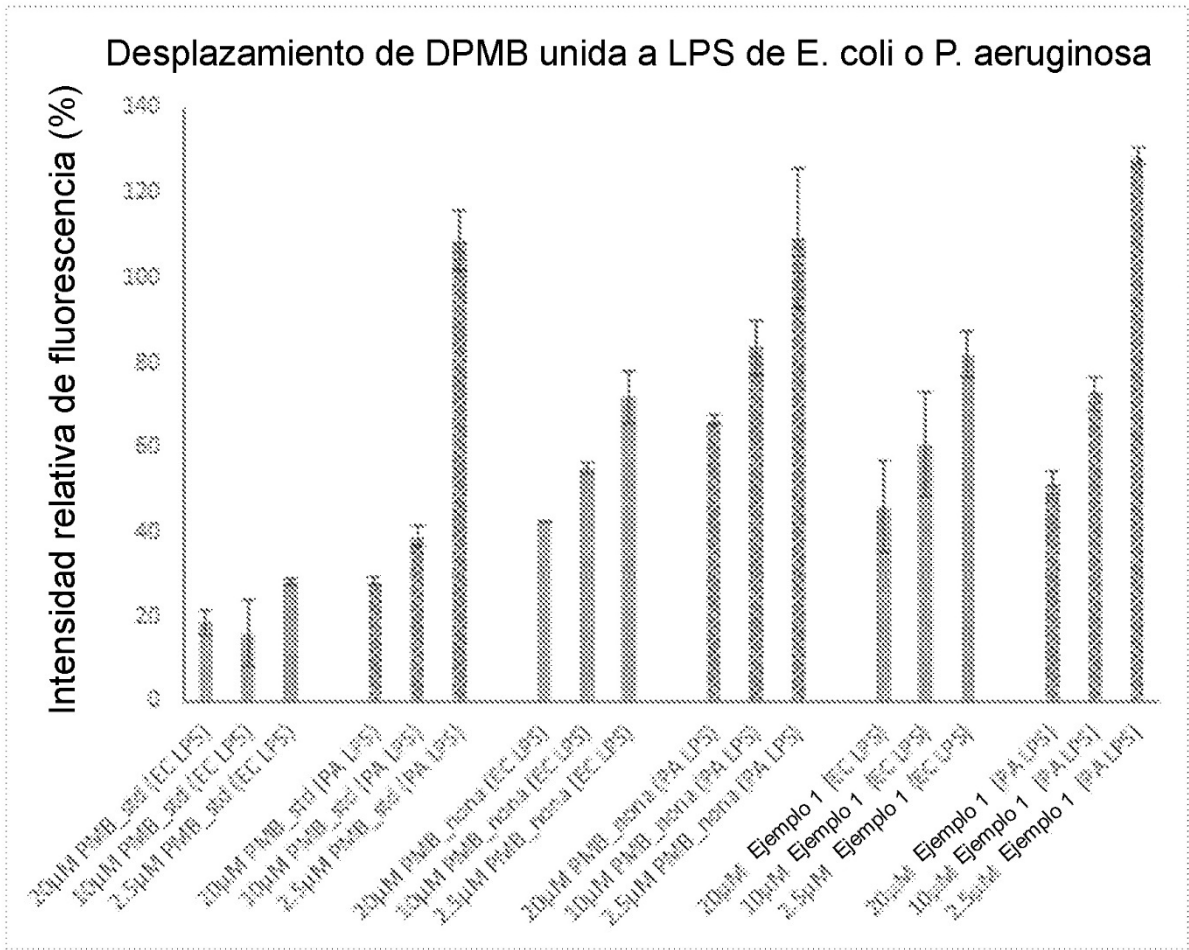
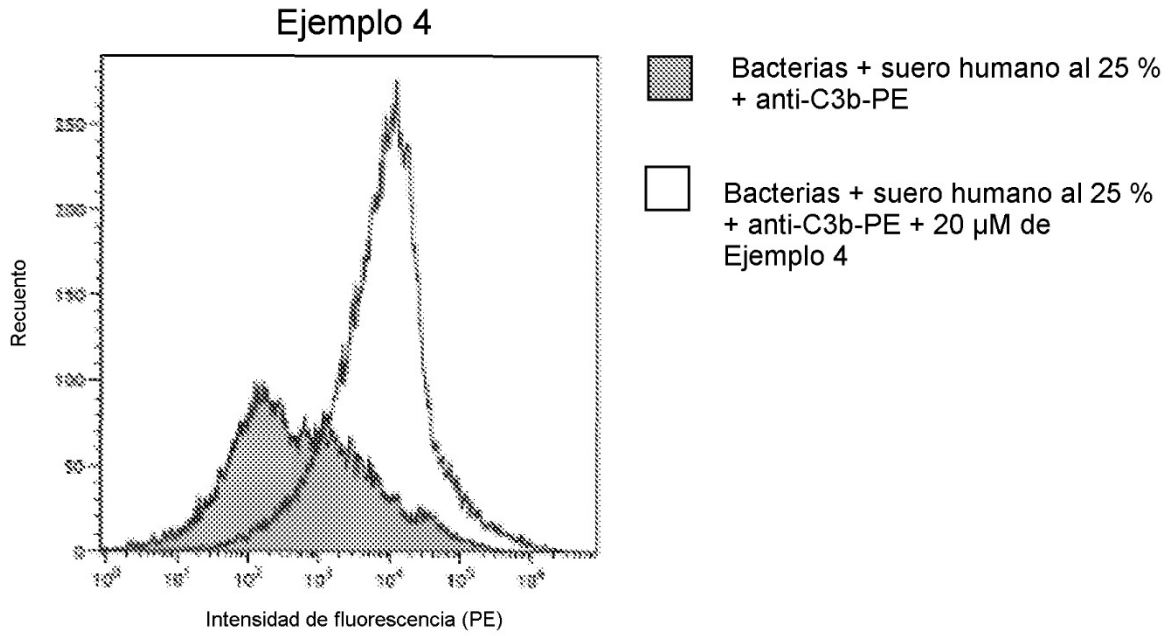


FIGURA 2

A



B

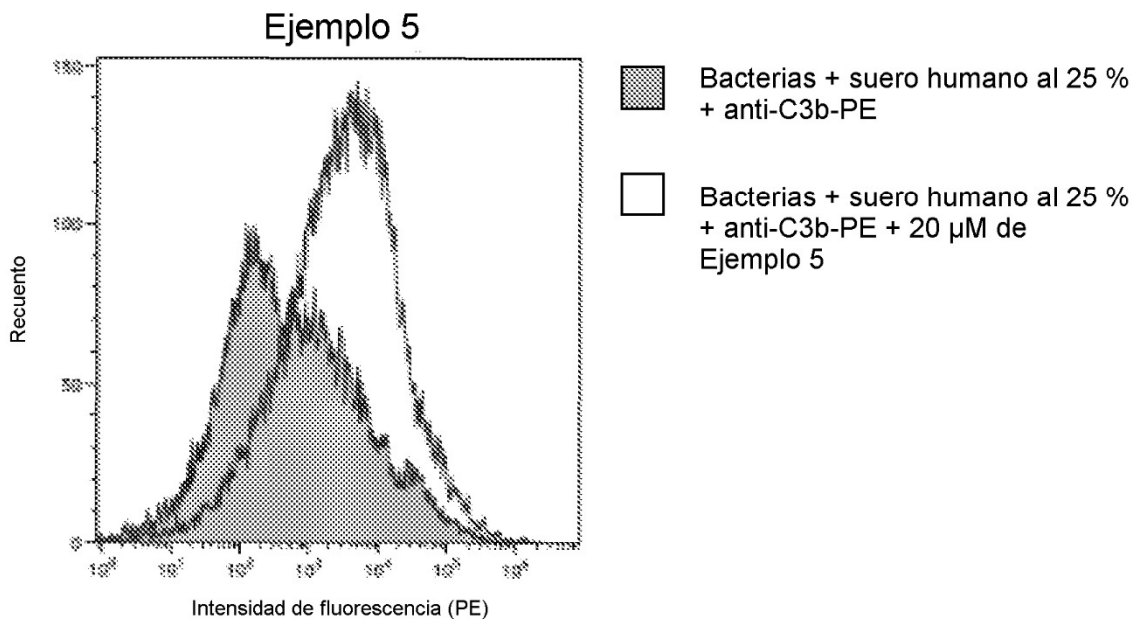
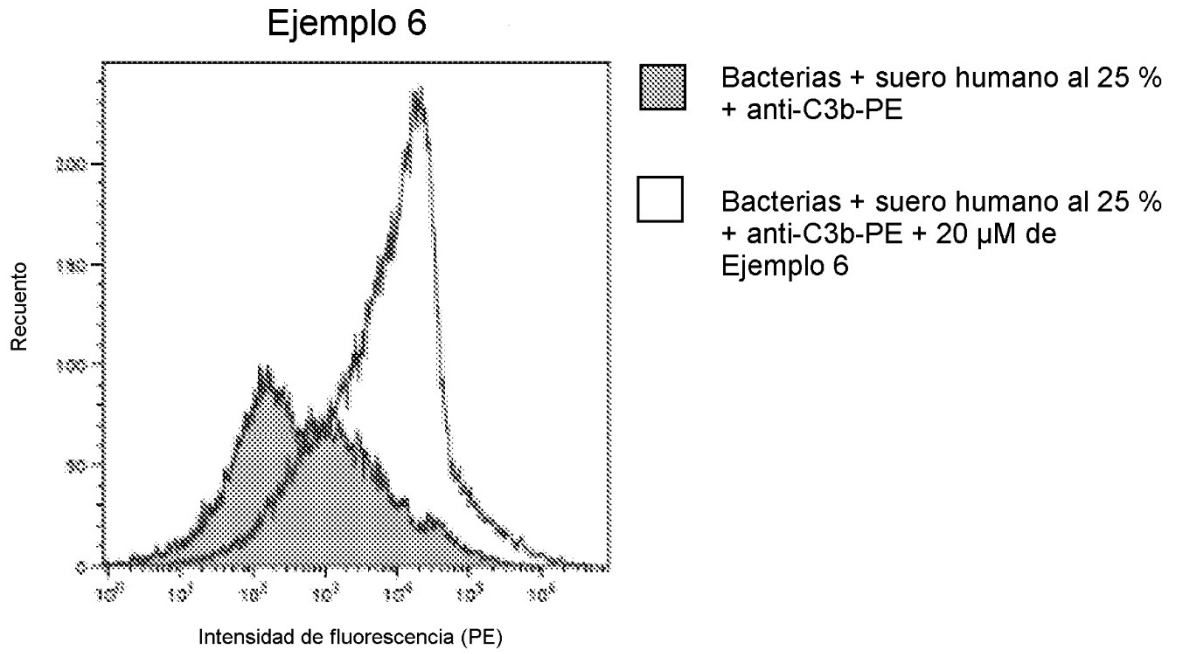


FIGURA 3

C



D

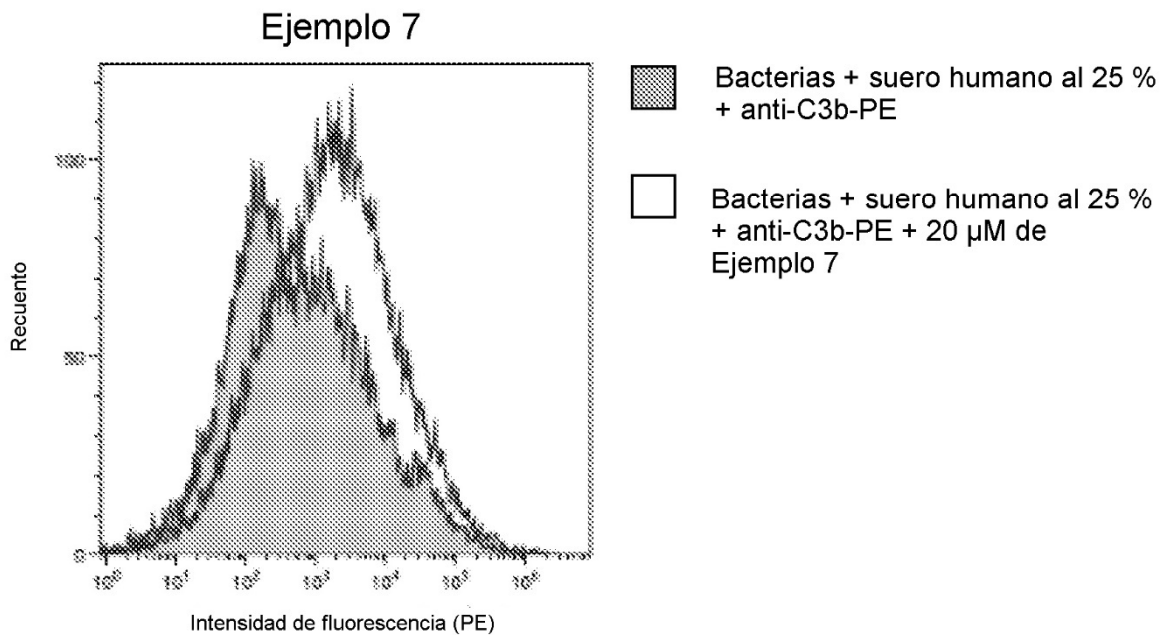


FIGURA 3 (continuación)

E

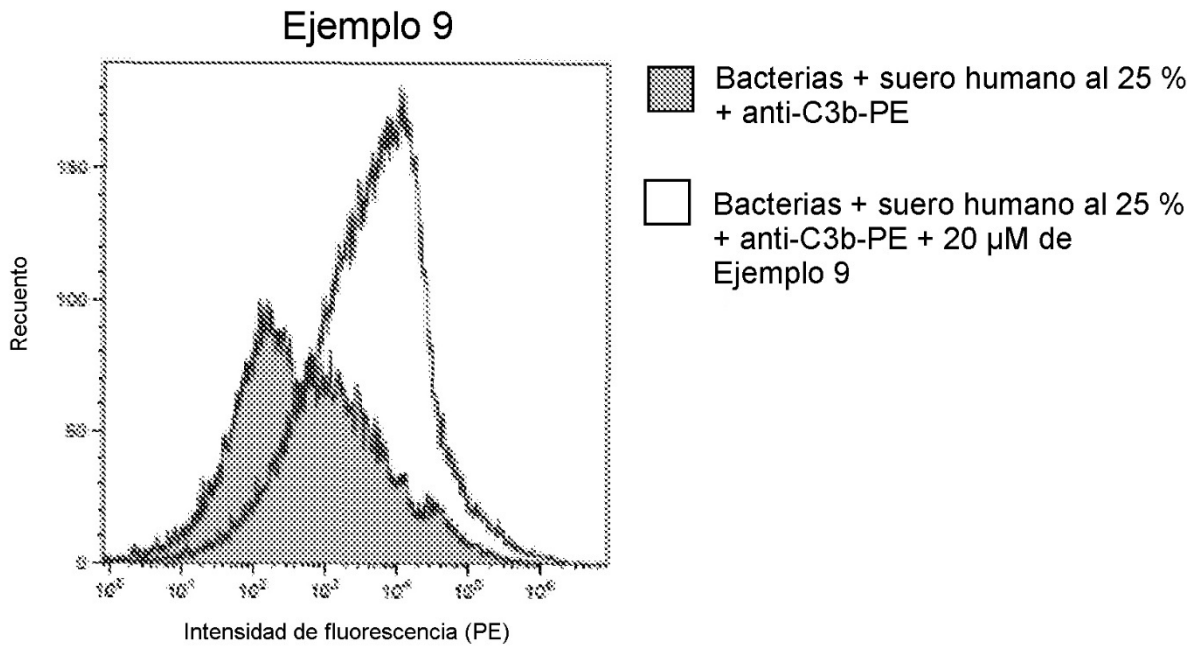


FIGURA 3 (continuación)