

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 407**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.05.2005 PCT/GB2005/002084**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2005 WO05117984**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2005 E 05746563 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 1755684**

54 Título: **Conjugados unidos a albúmina que comprenden un ácido graso y PEG**

30 Prioridad:

01.06.2004 GB 0412181

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

14.03.2017

73 Titular/es:

**UCB BIOPHARMA SPRL (100.0%)
Allée de la Recherche 60
1070 Brussels, BE**

72 Inventor/es:

**EATON, MICHAEL ANTHONY WILLIAM;
NORMAN, TIMOTHY JOHN y
PORTER, JOHN ROBERT**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 605 407 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

Conjugados unidos a albúmina que comprenden un ácido graso y PEG

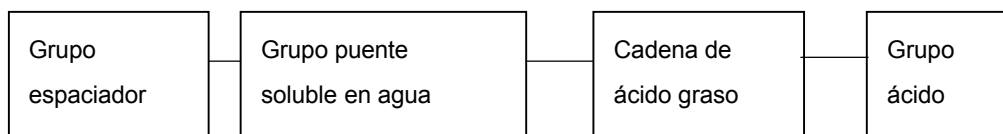
Descripción

5 La presente invención se refiere a compuestos capaces de unirse a albúmina para su uso en la prolongación de la vida media sérica *in vivo* de proteínas o péptidos a los que se unen. Más específicamente la invención se refiere a moléculas que comprenden una o más moléculas biológicamente activas a las que se unen una o más cadenas de ácidos grasos capaces de unirse a la albúmina. Se proporcionan también los métodos para la producción de tales moléculas, y composiciones farmacéuticas que las contienen,.

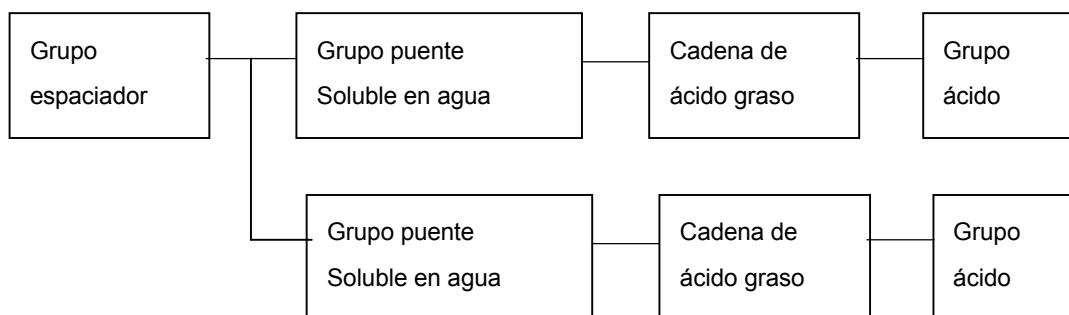
10 El uso de ácidos grasos que se unen a la albúmina para incrementar la vida media *in vivo* de la insulina fue descrito por Kurtzhals y colaboradores 1995. *Biochem. J.*, 312, 725-731. Los derivados de insulina con afinidad por la albúmina se produjeron por acilación de la insulina con ácidos grasos.

La unión de los ácidos grasos a los anticuerpos se ha descrito en el documento de Patente WO00/26256 y en el documento de Patente WO03/049684. Los conjugados fármaco-oligómero se describieron en el documento de Patente WO03/022210.

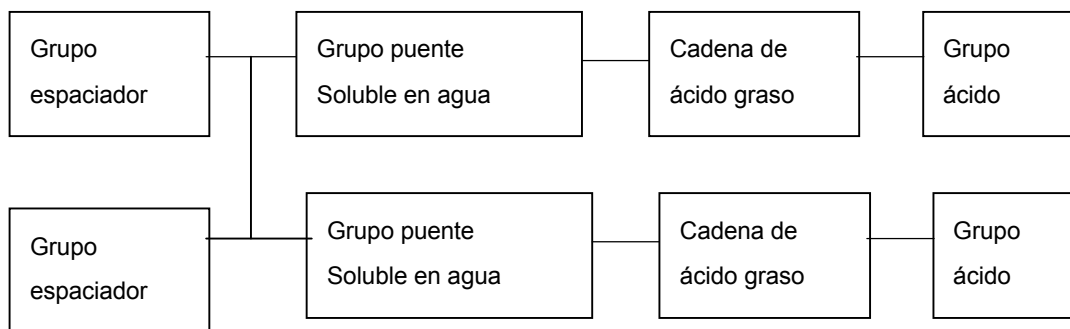
15 La presente invención proporciona nuevos compuestos que son capaces de unirse a la albúmina para su uso en la prolongación de la vida media de moléculas biológicamente activas a las que están unidas. Así, la presente invención proporciona compuestos unidos a la albúmina que consisten esencialmente en los siguientes elementos: un grupo espaciador, un grupo puente soluble en agua, una cadena de ácido graso y un grupo ácido. Los compuestos se caracterizan en que el grupo ácido está unido al extremo distal de la cadena de ácido graso. Cada uno de los elementos están así definidos aquí abajo. En un ejemplo la presente descripción proporciona compuestos unidos a la albúmina que consisten esencialmente en:



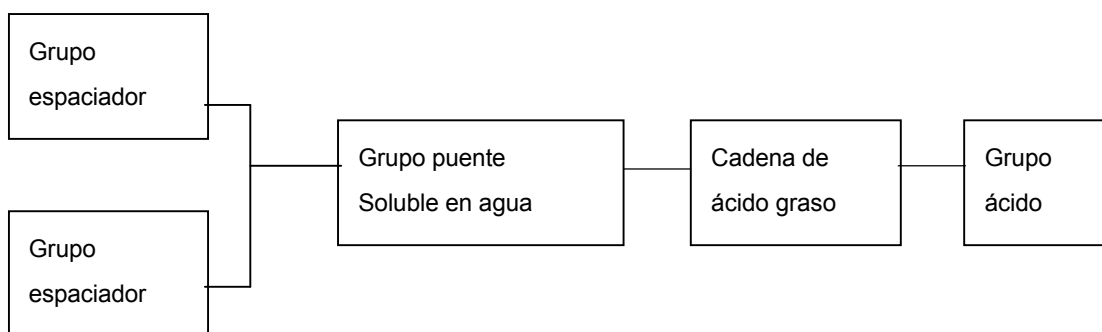
En otro ejemplo la presente descripción proporciona compuestos unidos a la albúmina que consisten esencialmente en:



25 En otro ejemplo la presente descripción proporciona compuestos unidos a la albúmina que consisten esencialmente en:



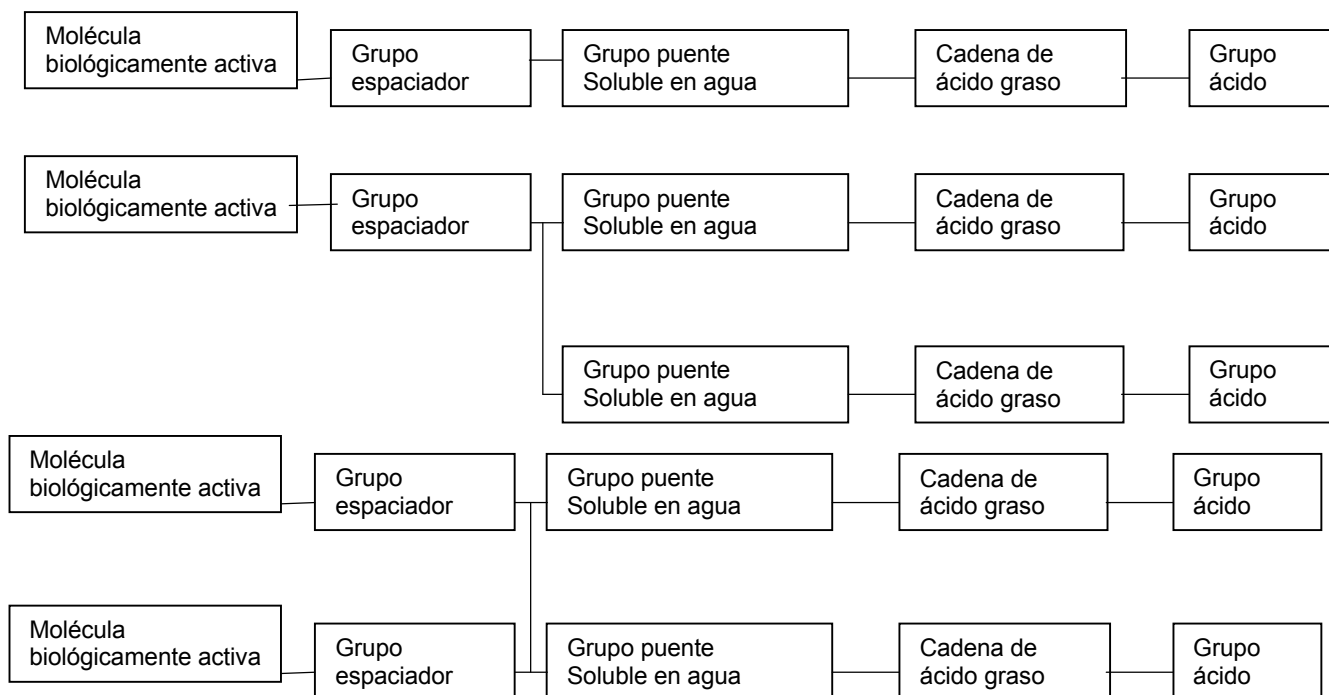
En otro ejemplo la presente descripción proporciona compuestos unidos a la albúmina que consisten esencialmente en:



5 Se apreciará por personas expertas en la técnica que cada uno de los elementos componentes puede estar unido juntos usando los grupos enlazadores o enlaces adecuados, que incluyen por ejemplo aquellos que se describen aquí abajo.

También se proporcionan en la presente descripción compuestos unidos a albúmina unidos a una o más moléculas biológicamente activas. Por tanto los ejemplos de la presente descripción incluyen compuestos que consisten esencialmente en:

10



15



B, B¹ y B² están ausentes o representan independientemente -CONH-, -NHCO-, -CO-, -OC(O)N(R²)-, -N(R²)C(O)O- o -NH-CONH-;

V¹ y V² representan independientemente un enlace covalente o -(CH₂)_v-;

5 X¹ y X² representan independientemente CR¹ o N;

M¹ representa un enlace covalente o -(CH₂)_m-;

W¹ y W² representan independientemente un enlace covalente o -(CH₂)_w-;

A¹ y A² representan independientemente -CONH-, -NHCO-, -CO-, -OC(O)N(R²), -N(R²)C(O)O- o -NHCONH-;

10 E, E¹ y E² representan independientemente un enlace covalente o -(CH₂)_e-;

P, P¹ y P² son restos poliméricos que comprenden la repetición de la unidad [OCH₂CH₂]_n donde n está entre 5 y 100;

T, T¹ y T² representan independientemente un enlace covalente o un grupo enlazador;

15 F, F¹ y F² representan independientemente un ácido graso de cadena lineal de entre 14 y 24 átomos de carbono;

Q, Q¹ y Q² representan independientemente un grupo ácido;

R¹ representa un hidrógeno o un alquilo C₁₋₄;

R² representa un hidrógeno o un alquilo C₁₋₄;

e es 1, 2, 3 o 4;

20 v es 1, 2, 3 o 4;

w es 1, 2, 3 o 4;

y es 1, 2, 3, 4, 5 o 6; y

m es 1, 2 o 3.

25 Como se usa aquí, el término "alquilo C₁₋₄" se refiere a grupos alquilo de cadena lineal o ramificados que contienen de 1 a 4 átomos de carbono. Tales grupos son metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *tert*-butilo.

30 Como se usa aquí, el término "cadena de ácido graso" se refiere a ácidos grasos de esqueleto hidrocarbonado (excluyendo el grupo ácido terminal) que contienen de 2 a 40 átomos de carbono. Se apreciará que la longitud de la cadena del ácido graso puede ser seleccionada en función del uso previsto del producto y la vida media de circulación requerida. Los ácidos grasos para uso en la presente invención pueden ser saturados o pueden contener una o más unidades de insaturación.

35 Ácidos grasos adecuados para uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, *n*-dodecanoato (C₁₂, laurato), *n*-tetradecanoato (C₁₄, miristato), *n*-hexadecanoato (C₁₆, palmitato), *n*-octadecanoato (C₁₈, estearato), *n*-eicosanoato (C₂₀, araquidato), *n*-docosanoato (C₂₂, behenato), *n*-tetracosanoato (C₂₄), *n*-triacontanoato (C₃₀), *n*-tetracontanoato (C₄₀), *cis*-Δ⁹-octadecanoato (C₁₈, oleato) y todos los *cis*-Δ^{5,8,11,14}-eicosatetraenoato (C₂₀, arachinodato).

Preferiblemente la cadena del ácido graso para uso en la presente invención es una cadena lineal de 14 a 24 átomos de carbono. En una realización la cadena del ácido graso es una cadena lineal de 17 átomos de carbono. En otra realización la cadena del ácido graso es una cadena lineal de 23 átomos de carbono.

40 Como se usa aquí, el término "resto" se entenderá que se refiere a esa parte de un resto biológicamente activo que permanece después de haber experimentado una reacción de sustitución tal como es familiar para el experto en la técnica.

- Como se usa aquí, el término “grupos puente solubles en agua” se refiere a un resto sustancialmente soluble en agua familiar para el experto en la técnica que es capaz de formar un puente entre el grupo espaciador y la cadena del ácido graso. En particular, el grupo puente soluble en agua, P, P¹ o P² comprenderá adecuadamente cualquier resto sustancialmente soluble en agua familiar para el experto en la técnica que sea capaz de formar un puente entre E, E¹ y E² y T, T¹ y T² respectivamente.
- Ejemplos de grupos puente solubles en agua incluyen oligo- y polipéptidos solubles en agua que comprenden aminoácidos tales como ácido aspártico y/o ácido glutámico; mono-, di- y oligosacáridos solubles en agua tales como glucosa, glucosamina, lactosa, sucrosa o maltosa; ciclodextrinas; ácidos urónicos; y polisacáridos ramificados y no ramificados, p.ej., un homo- o heteropolisacárido tal como amilasa, dextrano o glicógeno.
- Otros ejemplos de grupos puente solubles en agua incluyen cualquier forma sintética o natural sustancialmente soluble en agua, polímero o copolímero sustancialmente no-antigénico, incluyendo, por ejemplo, cadena de polialquileño lineal o ramificada opcionalmente sustituida, polialquilenilo, o polímeros de polioxialquileño o el polímero N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA). Sustituyentes opcionales particulares que pueden estar presentes en los polímeros sintéticos arriba mencionados incluyen uno o más grupos hidroxilo, metilo o metoxi.
- Ejemplos particulares de polímeros sintéticos incluyen cadenas lineales o ramificadas opcionalmente sustituidas de poli(etilenglicol), poli(propilenglicol), poli(alcohol vinílico) o derivados de los mismos, especialmente poli(etilenglicol) opcionalmente sustituido.
- Preferiblemente el grupo puente soluble en agua para uso en la presente invención es un polímero, preferiblemente un óxido de polialquileño tal como el polietileno glicol (PEG). En lo que respecta a la unión de las moléculas PEG en general, se hace referencia en “Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications”, 1992, J. Milton Jarris (ed), Plenum Press, New York; “Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications”, 1997, J. Milton Harris and S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC; and “Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences”, 1998, M. Aslam and A. Dent, Grove Publishers, New York. Los pesos moleculares adecuados para las moléculas PEG para uso en la presente invención oscilan desde 500 a 5.000. Las moléculas PEG en particular incluyen t-Boc-PEG-NHS, PM 3.400; NHS-PEG-MAL, PM 3.400; y NHS-PEG-MAL, PM 2.000 (asequible desde Nektar, anteriormente Shearwater).
- El grupo puente soluble en agua, P, P¹ y P² en los compuestos de fórmula (I), (II), (III) y (IV) anteriores será adecuadamente un polímero sustancialmente soluble en agua, sustancialmente no-antigénico. Polímeros típicos de los que P, P¹ y P² son ejemplos incluyen óxidos de polialquileño tales como los polietilenglicoles (PEGs).
- Preferiblemente P, P¹ y P² son restos poliméricos que comprenden unidades repetidas de [OCH₂CH₂]_n donde n está entre 5 y 100. En una realización n está entre 5 y 15, preferiblemente o 5 o 12. En otra realización n está entre 40 y 100, preferiblemente entre 40 y 80. Las unidades repetidas pueden estar separadas por uno o más grupos de conexión, ejemplos de los cuales incluyen -CH₂CONH-, -CONHCH₂-, -(CH₂)₂NHCO-, -NHCO-, -NHCOCH₂-, -CONH- y -(CH₂)₂NHCONH-.
- Adecuadamente, P¹ y P² son idénticos.
- El término “resto biológicamente activo” como se usa aquí se refiere a un compuesto biológicamente activo que tiene un resto disponible para la unión a los compuestos de la presente invención. Compuestos biológicamente activos para uso en la presente invención son compuestos adecuados para uso medicinal o de diagnóstico en el tratamiento de animales, incluyendo humanos.
- Ejemplos de restos biológicamente activos pueden incluir citotoxinas o agentes citotóxicos que incluyen cualquier agente que sea perjudicial para las células (p.ej., mata). Los ejemplos incluyen taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxil antracina diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-dehidrotosterona, glucocorticoides, procaina, tetracaina, lidocaina, propanolol, y puromicina y análogos u homólogos de los mismos.
- Restos biológicamente activos también incluyen, pero no se limitan a, antimetabolitos (p.ej., metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbacina), agentes alquilantes (p.ej., mecloroetamina, tioepa clorambucil, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclotosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C, y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) (cisplatino), antraciclinas (p.ej., daunorubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (p.ej., dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), calicheamicinas o duocamicinas), y agentes anti-mitóticos (p.ej., vincristina y vinblastina).
- Otros restos biológicamente activos pueden incluir radionúclidos tales como ¹¹¹In y ⁹⁰Y, Lu¹⁷⁷, Bismuto²¹³, Californio²⁵², Iridio¹⁹² y Tungsteno¹⁸⁸/Renio¹⁸⁸, o fármacos tales como alquilfosfolinas, inhibidores de topoisomerasa I, taxoides y suramina.
- Otra alternativa de restos biológicamente activos incluyen proteínas, péptidos y enzimas. Enzimas de interés incluyen, enzimas proteolíticas, liasas, hidrolasas, liasas, isomerasas, transferasas. Proteínas, polipéptidos y péptidos de interés incluyen, pero no se limitan a, inmunoglobulinas, toxinas tales como abrina, ricina A, exotocina de

- pseudomonas, o toxina diftérica, una proteína tal como insulina, factor de necrosis tumoral, α -interferón, β -interferón, factor de crecimiento nervioso, plaquetas derivadas del factor de crecimiento o activador tisular de plasminógeno, un agente trombolítico o un agente anti-angiogénico, p.ej., angiostatina o endostatina, o, un modificador de respuesta biológica tal como una lincocina, interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), interleucina-6 (IL-6), factor estimulante de colonias de macrófagos granulocíticos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de crecimiento nervioso (NGF) u otro factor de crecimiento e inmunoglobulinas.
- Restos biológicamente activos típicos de los que Z^1 , Z^2 y Z^3 son restos incluyen anticuerpos y fragmentos de anticuerpo. Así, los restos Z , Z^1 y Z^2 incluyen restos de anticuerpos enteros y fragmentos funcionalmente activos o derivados de los mismos y pueden ser, pero no se limitan a, policlonales, monoclonales, multivalente, multi-específico, anticuerpos humanizados o quiméricos, anticuerpos de cadena única, fragmentos Fab, Fab' y $F(ab')_2$ y fragmentos de epítomos de unión de cualquiera de los anteriores.
- Los anticuerpos incluyen moléculas de inmunoglobulina y partes activas inmunológicamente de moléculas de inmunoglobulina, es decir moléculas que contienen un sitio de unión al antígeno que une específicamente un antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina de la invención pueden ser de cualquier clase (p.ej., IgG, IgE, IgM, IgD o IgA) o subclase de la molécula de inmunoglobulina.
- Anticuerpos monoclonales se pueden preparar por un método conocido en la técnica tal como la tecnología de hibridoma (Kohler & Milstein, Nature, 1975, 256, 495-497), tecnología trioma, tecnología de hibridoma de células B humanas (Kozbor y colaboradores, Immunology Today, 1983, 4, 72) y la tecnología de EBV-hibridoma (Cole y colaboradores, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy", pp. 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985).
- Anticuerpos para uso en la invención se pueden generar también usando métodos de anticuerpo de linfocitos únicos por clonación y expresión de cDNAs de región variable de inmunoglobulinas generados desde linfocitos únicos seleccionados para la producción de anticuerpos específicos para, por ejemplo, los métodos descritos por Babcook, J. y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93(15), 7843-7848, WO 92/02551, WO2004/051268 y WO2004/106377.
- Anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especies no-humanas que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) de especies no humanas y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, el documento de Patente US 5,585,089).
- Anticuerpos quiméricos son aquellos anticuerpos codificados por genes de inmunoglobulina que han sido genéticamente modificados para que los genes de cadena ligera y pesada estén compuestos de segmentos genéticos de inmunoglobulina pertenecientes a diferentes especies. Estos anticuerpos quiméricos es probable que sean menos antigénicos. Anticuerpos bivalentes se pueden hacer por métodos conocidos en la técnica (Milstein y colaboradores, 1983, 305, 537-539; WO 93/08829; Traunecker y colaboradores, EMBO J., 1991, 10, 3655-3659). Anticuerpos multivalentes pueden comprender múltiples especificidades o pueden ser mono-específicos (véase, por ejemplo, el documento de Patente WO 92/22853).
- Los anticuerpos para uso en la presente invención se pueden generar también usando varios métodos de visualización de fagos conocidos en la técnica e incluyen aquellos descritos por Brinkman y colaboradores, J. Immunol. Methods 1995, 182, 41-50; Ames y colaboradores, 1995, 184, 177-186; Kettleborough y colaboradores, Eur. J. Immunol., 1994, 24, 952-958; Persic y colaboradores, Gene, 1997, 187, 9-18; y Burton y colaboradores, Advances in Immunology, 1994, 57, 191-280; WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; y WO 95/20401; y US 5.698.426; 5.223.409; 5.403.484; 5.580.717; 5.427.908; 5.750.753; 5.821.047; 5.571.698; 5.427.908; 5.516.637; 5.780.225; 5.658.727; 5.733.743; y 5.969.108. Las técnicas para la producción de anticuerpos de cadena única, tales como aquellos descritos en el documento de Patente US 4,946,778, puede adaptarse también para producir anticuerpos de cadena única. También, ratones transgénicos, u otros organismos, incluyendo otros mamíferos, pueden utilizarse para expresar los anticuerpos humanizados.
- En un ejemplo los fragmentos de anticuerpo son fragmentos Fab' que poseen una región de bisagra natural o modificada. Un número de regiones de bisagra modificadas han sido ya descritas, por ejemplo en US 5.677.425, WO9915549, y WO9825971.
- Fragmentos de anticuerpo particulares también incluyen aquellos descritos en WO2005003169, WO2005003170 y WO2005003171.
- Donde el resto biológicamente activo es un anticuerpo, dicho anticuerpo será en general capaz de unirse selectivamente a un antígeno. El antígeno puede ser cualquier antígeno asociado a una célula, por ejemplo, un antígeno de superficie celular en células tales como células bacterianas, células de levadura, células T, células endoteliales o células tumorales, o puede ser un antígeno soluble. Los antígenos pueden ser también cualquier antígeno médicamente relevante tales como aquellos antígenos regulados positivamente durante la enfermedad o infección, por ejemplo receptores y/o sus correspondientes ligandos. Ejemplos particulares de antígenos de superficie celular incluyen moléculas de adhesión, por ejemplo integrinas tales como integrinas $\beta 1$ p.ej., VLA-4, selectina E, selectina P o selectina L, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD11a, CD11b, CD18, CD19, CD20, CD23, CD25, CD33, CD38, CD40, CD45, CDW52, CD69, antígeno carcinoembrionario (CEA), globulina grasa de la

leche humana (HMFG1 y 2), antígenos MHC de clase I y MHC de clase II, y VEGF, y cuando proceda, receptores de los mismos. Antígenos solubles incluyen interleucinas tales como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16 o IL-17, antígenos virales por ejemplo virus sincitial respiratorio o antígenos de citomegalovirus, inmunoglobulinas, tales como IgE, interferones tales como interferón α , interferón β o interferón γ , factor de necrosis tumoral α , factor de necrosis tumoral β , factores estimulantes de colonias tales como G-CSF o GM-CSF, y plaquetas derivadas de los factores de crecimiento tales como PDGF- α , y PDGF- β y cuando proceda receptores de los mismos.

5

Adecuadamente, Z^1 y Z^2 son idénticos.

Los grupos espaciadores para uso en la presente invención, comprenderán adecuadamente cualquier resto familiar para la persona experta en la técnica que es capaz de formar un puente entre el grupo puente soluble en agua y el resto biológicamente activo. En particular los grupos espaciadores L, L^1 y L^2 comprenderán adecuadamente cualquier resto familiar para la persona experta en la técnica que es capaz de formar un puente entre Y, Y^1 y Y^2 y el resto Z, Z^1 y Z^2 respectivamente. Por ejemplo, donde Z, Z^1 y Z^2 es el resto de un anticuerpo o un fragmento del mismo que contiene un resto de cisteína el correspondiente grupo espaciador L, L^1 y L^2 será adecuadamente una succinimida (es decir, el producto de reacción de un resto de maleimida con el resto polipeptídico Z, Z^1 y Z^2 que contiene cisteína vía unión a un tiol) unida a Y, Y^1 y Y^2 a través de su átomo de nitrógeno.

10

15

Adecuadamente, L^1 y L^2 son idénticos.

La presencia de un grupo ácido distal permite a los compuestos de la presente invención unir la albúmina más efectivamente que los compuestos donde el grupo ácido está ausente por completo; o donde el grupo ácido se incorpora en la estructura de la molécula p.ej., vía un enlace acilo (éster) o un enlace amida, por ejemplo donde la unidad del ácido graso se enfrenta a la dirección opuesta dejando la cadena lipídica (hidrocarbonada) del ácido graso expuesta. Ejemplos de grupos ácidos adecuados para uso en la presente invención incluyen grupos ácidos carboxílico, fosfónico, fosfínico, sulfínico y sulfónico.

20

Q, Q^1 y Q^2 representan por tanto un grupo ácido, preferiblemente grupos ácidos carboxílico, fosfónico, fosfínico, sulfínico y sulfónico.

25

En una realización, Q representa un CO_2H .

En una realización, Q^1 representa un CO_2H .

En una realización, Q^2 representa un CO_2H .

Adecuadamente Q^1 y Q^2 son idénticos.

Los grupos enlazadores T, T^1 y T^2 comprenderán adecuadamente cualquier resto familiar para la persona experta en la técnica que sea capaz de formar un puente entre la cadena F, F^1 y F^2 del ácido graso y el grupo puente soluble en agua P, P^1 y P^2 respectivamente.

30

Ejemplos típicos de T, T^1 y T^2 incluyen un enlace covalente, -CONH-, - OCH_2CONH -, -OCONH-, -NHCO-.

En una realización, T representa un -CONH-. En otra realización, T representa un -NHCO-. En otra realización, T representa un enlace covalente.

35

En otra realización, T representa un - OCH_2CONH -

En una realización, T^1 representa un -CONH-. En otra realización, T^1 representa un -NHCO-. En otra realización T^1 representa un enlace covalente. En una realización preferida, T^1 representa un -OCONH-.

En una realización T^2 representa un -CONH-. En otra realización, T^2 representa un -NHCO-. En otra realización T^2 representa un enlace covalente. En una realización preferida, T^2 representa un -OCONH-.

40

Adecuadamente T^1 y T^2 son idénticos.

En una realización, X^1 representa un CR^1 . En otra realización, X representa un N.

En una realización, X^2 representa un CR^1 . En otra realización, X representa un N.

Adecuadamente X^1 y X^2 son idénticos.

Adecuadamente A^1 representa un -CONH-, -NHCO-, -CO-, - $\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^2)$ -, - $\text{N}(\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{O}$ o -NHCONH-. En una realización, A^1 representa un -CONH-. En otra realización, A^1 representa un -NHCO-.

45

Adecuadamente A^2 representa un -CONH-, -NHCO-, -CO-, - $\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^2)$ -, - $\text{N}(\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{O}$ o -NHCONH-. En una realización, A^2 representa un -CONH-. En otra realización, A^2 representa un -NHCO-.

Adecuadamente A^1 y A^2 son idénticos.

Adecuadamente B representa un $-\text{CONH}-$, $-\text{NHCO}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^2)-$, $-\text{N}(\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{O}-$ o $-\text{NHCONH}-$. En una realización, B representa un $-\text{CONH}-$. En otra realización, B representa un $-\text{NHCO}-$.

- 5 Adecuadamente B^1 representa un $-\text{CONH}-$, $-\text{NHCO}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^2)-$, $-\text{N}(\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{O}-$ o $-\text{NHCONH}-$. En una realización, B^1 representa un $-\text{CONH}-$. En otra realización, B^1 representa un $-\text{NHCO}-$. Donde B^1 representa un $-\text{CONH}-$, X^1 típicamente representa un CH.

Adecuadamente B^2 representa un $-\text{CONH}-$, $-\text{NHCO}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^2)-$, $-\text{N}(\text{R}^2)\text{C}(\text{O})\text{O}-$ o $-\text{NHCONH}-$. En una realización, B^2 representa un $-\text{CONH}-$. En otra realización, B^2 representa un $-\text{NHCO}-$. Donde B^2 representa un $-\text{CONH}-$, X^2 típicamente representa un CH.

Adecuadamente B^1 y B^2 son idénticos.

- 10 En una realización preferida, V^1 representa un enlace covalente. En otra realización, V^1 representa un $-(\text{CH}_2)_v-$ en el que v es como se ha definido anteriormente.

En una realización preferida, V^2 representa un enlace covalente. En otra realización, V^2 representa un $-(\text{CH}_2)_v-$ en el que v es como se ha definido anteriormente.

Adecuadamente V^1 y V^2 son idénticos.

- 15 En una realización W^1 representa un enlace covalente. En otra realización, W^1 representa un $-(\text{CH}_2)_w-$ en el que w es como se ha definido anteriormente.

En una realización W^2 representa un enlace covalente. En otra realización, W^2 representa un $-(\text{CH}_2)_w-$ en el que w es como se ha definido anteriormente.

Adecuadamente, W^1 y W^2 son idénticos.

- 20 Adecuadamente, Y^1 y Y^2 son idénticos.

En una realización, M^1 representa un enlace covalente. En otra realización, M^1 representa un $-(\text{CH}_2)_m-$ en el que m es como se ha definido anteriormente.

En una realización preferida, R^1 es un hidrógeno. En otra realización, R^1 representa un alquilo C_{1-4} , especialmente metilo.

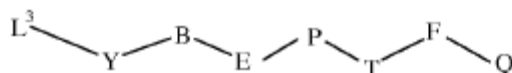
- 25 En una realización preferida, R^2 es un hidrógeno. En otra realización, R^2 representa un alquilo C_{1-4} , especialmente metilo.

En una realización y es 2. En otra realización, y es 4.

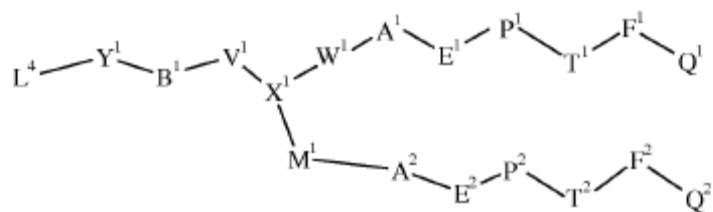
En una realización m es 1. En otra realización, m es 2. En una realización adicional, m es 3. Favorablemente, m es 3.

- 30 En una realización e es 1. En otra realización, e es 2. En otra realización, e es 3.

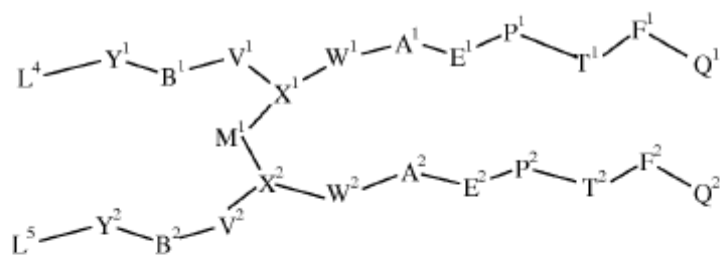
En otro aspecto, la presente invención proporciona nuevos compuestos que son intermedios valiosos para la unión de anticuerpos de los que Z, Z^1 y Z^2 son restos. Así, la invención también proporciona compuestos de fórmula (V), (VI), (VII) y (VIII):



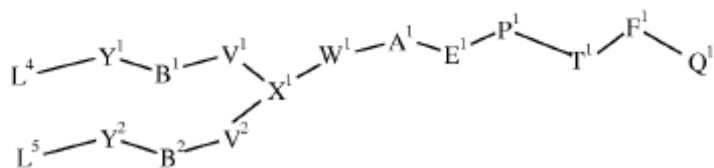
(V)



(VI)



(VII)



(VIII)

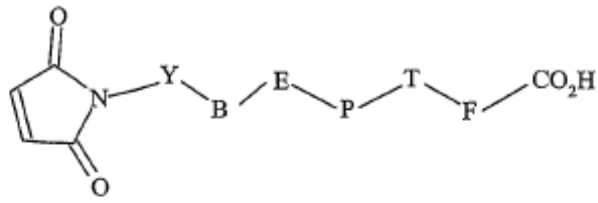
donde

L^3 , L^4 y L^5 representan derivados de maleimida; y

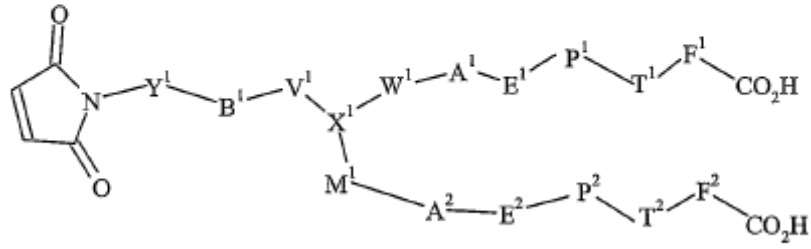
5 cada una de las otras variables está como se definió anteriormente en relación con la fórmula (I), (II), (III) o (IV).

10 Cuando Z, Z^1 o Z^2 es el resto de una molécula polipeptídica (p.ej., un anticuerpo o un fragmento del mismo), el correspondiente grupo L^3 , L^4 o L^5 puede unirse al polipéptido a través de cualquier cadena lateral disponible del aminoácido o el grupo funcional del aminoácido terminal localizado en el fragmento del anticuerpo, por ejemplo, cualquier grupo amino libre, imino, tiol, hidroxilo o carboxilo. Tales aminoácidos pueden ocurrir naturalmente en, por ejemplo, el fragmento del anticuerpo o pueden ser manipulados en el fragmento usando métodos de DNA recombinante (véase, por ejemplo, US 5,677,425 y US 5,219,996). En un aspecto preferido de la invención los dos grupos están covalentemente unidos a través del grupo tiol de un resto de cisteína localizado en el anticuerpo o fragmento del mismo, preferiblemente en la bisagra. El enlace covalente generalmente será un enlace disulfuro o un enlace azufre-carbono, preferiblemente el último. En un ejemplo donde el grupo tiol se usa como el punto de unión de los grupos adecuadamente activados, por ejemplo tiol derivados selectivos tales como derivados de maleimida y cisteína, se pueden utilizar.

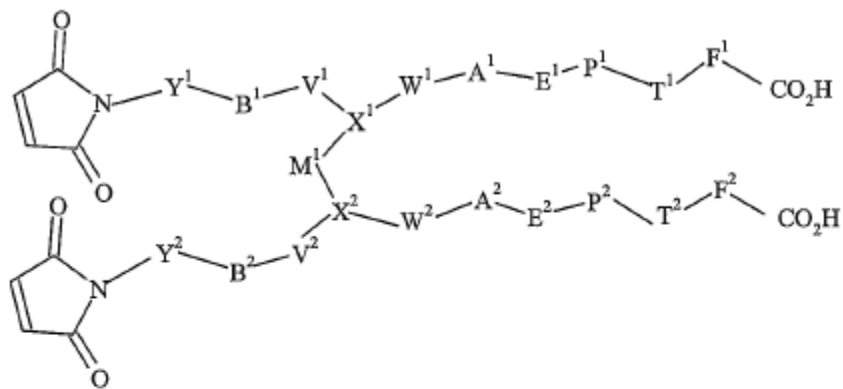
20 En una característica preferida, los grupos L^3 , L^4 y L^5 son idénticos y representan derivados de maleimida unidos al resto de la molécula a través del átomo de nitrógeno de la maleimida. En otra característica, Q, Q^1 o Q^2 son idénticos y representan un CO_2H . Por consiguiente, un subconjunto ilustrativo de los compuestos de fórmula (V), (VI), (VII) y (VIII) anteriores está representado por los compuestos de fórmula (IX), (X), (XI) y (XII):



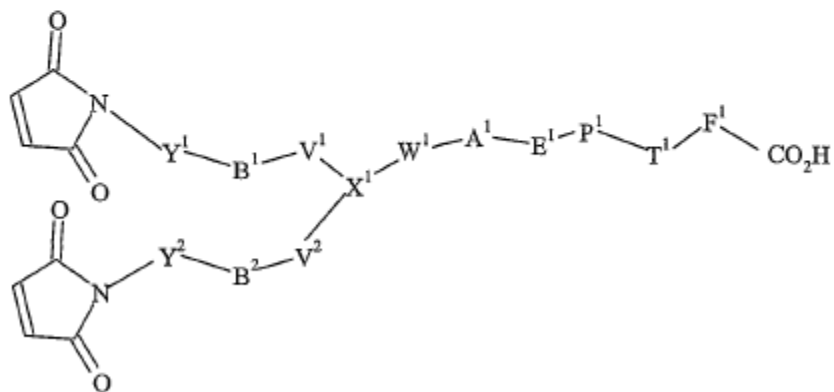
(IX)



(X)



(XI)



(XII)

donde cada una de las variables es como se definió anteriormente.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), (II), (III) o (IV) en asociación con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, excipientes o diluyentes.

5 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden tomar una forma adecuada para la administración oral, bucal, parenteral, nasal, tópica, oftálmica o rectal, o una forma adecuada para administración por inhalación o insuflación.

10 Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, tabletas, pastillas o cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes aceptables farmacéuticamente tales como agentes de unión (p.ej., almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil metil celulosa); rellenos (p.ej., lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato cálcico); lubricantes (p.ej., estereato de magnesio, talco o sílica); desintegrantes (p.ej., almidón de patata o glicolato sódico); o agentes humectantes (p.ej., lauril sulfato sódico). Las tabletas se pueden recubrir por métodos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, soluciones, siropes o suspensiones, o se pueden presentar como un producto seco para la constitución con agua u otro vehículo adecuado para el uso. Tales preparaciones líquidas se pueden preparar por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos o preservativos no acuosos. Las preparaciones pueden contener también sales tampón, agentes aromatizantes, agentes colorantes o edulcorantes, según corresponda.

20 Preparaciones para la administración oral pueden ser adecuadamente formuladas para dar una liberación controlada del compuesto activo.

Para administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de tabletas o pastillas formuladas de manera convencional.

25 Los compuestos de fórmula (I), (II), (III) y (IV) pueden ser formulados para administración parenteral por inyección, p.ej., por inyección del bolo o infusión. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, p.ej., en ampollas de vidrio o contenedores multi-dosis, p.ej., viales de vidrio. Las composiciones para inyección pueden tomar tales formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes, conservantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para la constitución con un vehículo adecuado, p.ej., agua estéril libre de pirógenos, antes de usar.

30 Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos de fórmula (I), (II), (III) y (IV) se pueden formular también como preparaciones de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por implantación o por inyección intramuscular.

35 Para administración nasal o administración por inhalación, los compuestos de acuerdo con la presente invención se suministran convenientemente en forma de una presentación de un pulverizador de aerosol para envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, p.ej., diclorodifluorometano, fluorotriclorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado o mezcla de gases.

La composición puede, si se desea, presentarse en un envase o dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contenga el ingrediente activo. El envase o dispositivo dispensador se puede acompañar de las instrucciones para la administración.

40 Para la administración tópica los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden formular convenientemente en una pomada adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Portadores particulares incluyen, por ejemplo, aceites minerales, petróleo líquido, propilen glicol, polioxietileno, polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden formular en una loción adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Portadores particulares incluyen, por ejemplo, aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, ceras de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, alcohol bencílico, 2-octildodecanol y agua.

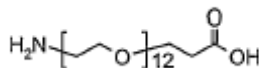
50 Para administración oftálmica los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden formular convenientemente como suspensiones micronizadas en disoluciones salinas esterilizadas y con pH ajustado, o con o sin un preservativo tal como un agente bacteriano o fungicida, por ejemplo nitrato fenilmercúrico, cloruro de bencilalconio o acetato de clorhexidina. Alternativamente, los compuestos para administración oftálmica se pueden formular en una pomada tal como vaselina.

55 Para administración rectal los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden formular convenientemente como supositorios. Estos se pueden preparar mezclando el componente activo con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y por tanto se fundirá en el recto para liberar el componente activo. Tales materiales incluyen, por ejemplo, manteca de cacao, cera de abejas y polietilenglicoles.

J. F. W. McOmie, Plenum Press, 1973; y T. W. Greene & P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Chemistry, John Wiley & Sons, 3rd Edition, 1999. Los grupos protectores pueden ser separados en cualquier etapa posterior conveniente usando métodos conocidos en la técnica.

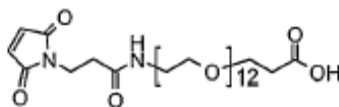
Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

5 Intermedio 1



10 El ácido Fmoc-amino PEG12 propiónico, PM 840 (150 mg) adquirido desde Polypure AS se disolvió en piperidina:DMF 1:4 (3ml) y luego después de 10 min se separó el disolvente. El resto se disolvió en agua (30ml) y se lavó con Et₂O (4x30ml) y DCM (4x30ml). La fase acuosa se acidificó después con HCl 0,1M y se lavó una vez más con DCM (3x30ml). El agua fue separada, el resto se disolvió en DCM, se secó sobre MgSO₄ y se separó el disolvente para dar el compuesto deseado como un aceite/goma incoloro, 105mg, 90%. Para eliminar las trazas finales de piperidina y liberar la amina, la sal HCl se disolvió en DCM (3ml) y se le añadió 3 ml de trietilamina seca. El disolvente fue después separado y el procedimiento se repitió tres veces para dar el producto final como una sal parcial de trietilamina. m/z (LCMS ES+, 70V) 618,1 (MH+).

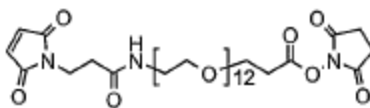
15 Intermedio 2



20 Al intermedio 1 (105mg, 0,16mmol) en DCM (6ml) se le añadió Et₃N (65mg, 0,64mmol) y éster NHS del ácido maleimidopropiónico (64mg, 0,24mmol). Después de 1 hora se separó el disolvente, el resto se disolvió en HCl 0,1M (25ml), se lavó con Et₂O (4x25ml) y se extrajo con DCM (10x30ml). Las fracciones combinadas de DCM se redujeron a 30ml, se extrajeron con agua (10x50ml) y se separó el agua. El resto se disolvió en DCM, se secó sobre MgSO₄ y se separó el disolvente para dar 94mg del producto, 76% como un aceite/goma incoloro. m/z (LCMS ES+, 70V) 769,0 (MH+).

δ_H (CDCl₃) 6,64 (2H, s), 6,59 (1H, ancho), 3,76 (2H, t, J7,1Hz), 3,69 (2H, t, J6,3Hz), 3,57 (44H, ancho), 3,47 (2H, t, J4,9Hz), 3,34 (2H, ancho), 2,53 (2H, t, J6,3Hz), 2,54 (2H, t, J7,1Hz).

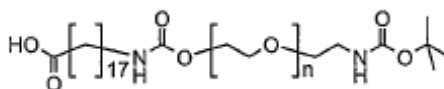
25 Intermedio 3



30 Al intermedio 2 (94mg, 0,12mmol) en DCM (8ml) se añadió NHS (21mg, 0,18mmol) y EDC (35mg, 0,18mmol). Después de 4,5 horas la reacción se diluyó hasta 50ml con DCM y se lavó con HCl 0,1M (3x30ml). El DCM se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se separó para rendir el éster NHS como un aceite viscoso, amarillo pálido 94mg, 89%. m/z (LCMS ES+, 70V) 866,1 (MH+).

δ_H (CDCl₃) 6,63 (2H, s), 6,58 (1H, ancho), 3,78 (4H, m), 3,57 (44H, m), 3,46 (2H, t, J5,0Hz), 3,34 (2H, ancho), 2,83 (2H, t, J6,4Hz), 2,75 (4H, s), 2,54 (2H, t, J7,2Hz).

Intermedio 4

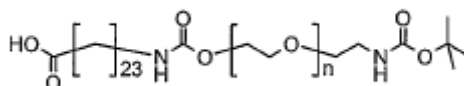


35 Una suspensión del intermedio 23 (22mg, 0,075mmol) y Et₃N (25mg, 0,25mmol) en DMF (10ml) se calentó rápidamente hasta que una disolución clara fue obtenida. A la disolución se le añadió t-Boc-PEG-NHS, PM 3.400 (206mg, 0,06mmol) adquirido desde Shearwater y se dejó enfriar la disolución. Después de 2 horas se añadió resina

del ácido MP-*p*-toluensulfónico (0,5g, 1,43mmol/g) y se filtró después de 1 hora. El disolvente fue separado, el resto se disolvió en HCl 0,1M (30ml) y se lavó con Et₂O (4x40ml). La disolución acuosa se extrajo después con DCM (4x40ml), el cual se lavó después con HCl 0,1M (3x30ml), se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se separó para dar el compuesto deseado, 208mg, 96% como un sólido ceroso incoloro.

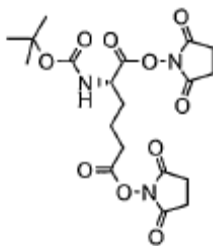
- 5 δ_H (CDCl₃) 4,87 (1H, ancho), 4,22 (2H, t), 3,81 (2H, t, J4,9Hz), 3,64 (~336H, s ancho), 3,54 (2H, t, J5,2Hz), 3,46 (2H, t, J4,9Hz), 3,31 (2H, t, J5,1Hz), 3,15 (2H, t, J6,8Hz), 2,32 (2H, t, J7,5Hz), 1,63 (2H, t), 1,48 (2H, t), 1,44 (9H, s), 1,26 (26H, s ancho).

Intermedio 5



- 10 El método como para el Intermedio 4, reemplazando el Intermedio 23 por el Intermedio 19. Rendimiento 294mg, 79%.

Intermedio 6

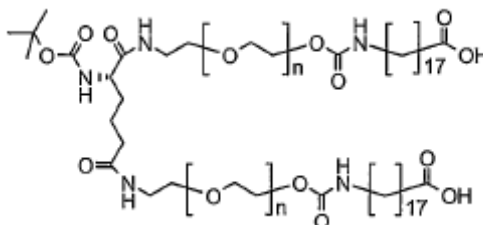


- 15 A una disolución/suspensión agitada de ácido L-2-aminoadípico (460mg, 2,85mmol) en metanol (75ml) se añadió Et₃N (866mg, 8,56mmol) seguido por (BOC)₂O (934mg, 4,28mmol). La reacción se dejó durante la noche con una disolución clara que se obtuvo después de 45 min aproximadamente. El disolvente fue separado, el resto se disolvió en DCM, y el disolvente se separó otra vez. La adición y separación del DCM se repitió 5 veces más para asegurarse de la completa separación del metanol. El resto se disolvió luego en DCM (25ml), a este se añadió NHS (493mg, 4,28mmol) y EDC (821mg, 4,28mmol) y la reacción se dejó durante la noche. La disolución se lavó con
- 20 agua (3x40ml), se secó sobre MgSO₄ y se separó el disolvente. El resto se purificó por cromatografía en columna de sílica eluyendo con EtOAc en Hexano 50-75% para rendir el compuesto deseado como un sólido incoloro 256mg, 20%.

m/z (LCMS ES+, 70V) 478,1 (MNa+).

δ_H (CDCl₃) 4,97 (1H, ancho), 4,61 (1H, ancho), 2,74 (8H, s), 2,61 (2H, m), 2,01 (1H, m), 1,85 (3H, m), 1,37 (9H, s).

- 25 Intermedio 7



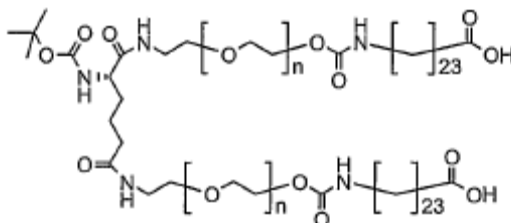
- El Intermedio 4 (0,045mmol) se disolvió en TFA:DCM 9:1 (3ml) y el disolvente se separó después de 0,5 horas. El resto se disolvió en DCM (3ml) y se añadió Et₃N (11mg, 0,113) y el Intermedio 6 (8,5mg, 0,019mmol) y la reacción se dejó durante 3 días. La reacción se diluyó hasta 20ml con DCM y se añadió la resina PS-TSCI. Después de 1,5
- 30 horas se filtró la resina, el filtrado se lavó con HCl 0,1M (3x30ml), se secó sobre MgSO₄ y se separó el disolvente para rendir el material deseado, 124mg, 81%, como un sólido ceroso blanquecino.

m/z (LCMS ES-, 70V) para n=82, 2.679 ((M-3H⁺)³⁻).

ES 2 605 407 T3

δ_H (CDCl₃) 6,88 (1H, t), 6,48 (1H, ancho), 5,30 (1H, m), 4,85 (2H, ancho), 4,08 (1H, m), 3,75-3,30 (~650H, m), 3,08 (4H, m), 2,21 (4H, t), 2,18 (2H, m), 1,80-1,50 (8H, m ancho), 1,43 (4H, m), 1,37 (9H, s), 1,20 (52H, s ancho).

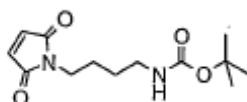
Intermedio 8



5 El método como para el Intermedio 7 excepto que el Intermedio 5 se usa en lugar del Intermedio 4.

δ_H (CDCl₃) 6,89 (1H, t), 6,47 (1H, t), 5,35 (1H, d, J7,9Hz), 4,90 (2H, ancho), 4,16 (4H, m ancho), 4,02 (1H, ancho), 3,80-3,30 (~650H, m ancho), 3,09 (4H, c, J6,8Hz), 2,24 (4H, t, J7,5Hz), 2,18 (2H, m), 1,80-1,50 (8H, m ancho), 1,43 (4H, m), 1,38 (9H, s), 1,20 (76H, ancho).

Intermedio 9



10

Tert-butil éster del ácido [4-(2,5-Dioxo-2,5-dihidro-pirrol-1-il)-butil] carbámico

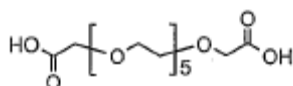
Anhídrido maleico (2,54g, 26mmol) y N-tBOC-1,4-diaminobutano (4,88g, 26mmol) se calentaron bajo reflujo durante la noche usando una trampa Dean-Stark. El disolvente fue separado para rendir una goma/aceite. La fracción aceitosa se disolvió en DCM y se cargó en una columna de sílica y se eluyó con Hexano:EtOAc 2:1 para proporcionar el producto, 1,85g, 27% como un sólido blanco.

15

m/z (ES+, 70V) 291,0 (MNa+), 169,0 (M-BOC.H+).

δ_H (CDCl₃) 6,62 (2H, s), 4,45 (1H, ancho), 3,47 (2H, t, J7,1Hz), 3,06 (2H, c, J6,5Hz), 1,53 (4H, m), 1,37 (9H, s).

Intermedio 10

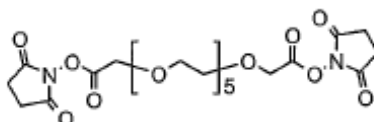


20 A una disolución de NaH (60% en aceite) (2,17g, 0,054mol) en THF (30ml) y DCM (30ml) a 0 °C se añadió durante 15 min una disolución de pentaetilén glicol (5,17g, 0,022mol) en THF (10ml). La reacción se agitó durante 1 hora a 0 °C y t-butil bromoacetato (10,6g, 0,054mol) se añadió rápidamente (~10 seg. – ATENCIÓN! efervescencia). La reacción se mantuvo a 0 °C durante 1 hora más y luego se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se filtró, el disolvente se separó y el resto se purificó por cromatografía en columna de sílica eluyendo con DCM seguido por AcOEt para eluir el éster di-butílico. A este material se añadió THF (20ml) y agua (20ml) y a la emulsión bifásica rápidamente agitada se añadió LiOH (2g). Después de 4 días la disolución se acidificó a pH 1 y el disolvente se separó. Los restos solubles se recogieron después en DCM, se secaron sobre MgSO₄ y el disolvente se separó para rendir el di-ácido como un aceite pálido ~5g.

25

m/z (LCMS ES+, 70V) 371,9 (MNH₄+).

30 Intermedio 11

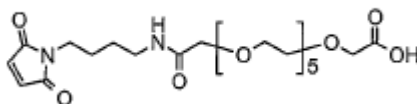


ES 2 605 407 T3

El Intermedio 10 (~2g) se disolvió en DMF (30ml) y a éste se añadió EDC (4,9g, ~3equiv.) y NHS (2,9g, ~3equiv.). Después de la formación del éster NHS durante la noche la DMF se separó y el resto se disolvió en DCM (100ml). La disolución de DCM se lavó con agua (5x75ml), se secó sobre MgSO₄ y el disolvente fue separado para rendir el éster di-NHS impuro. El resto fue purificado por cromatografía en columna de sílica eluyendo con EtOAc para rendir el producto como un aceite/goma viscoso incoloro 970mg. m/z (LCMS ES+, 70V) 566,0 (MNH₄⁺).

δ_H (CDCl₃) 4,55 (4H, s), 3,81 (4H, m), 3,74 (4H, m), 3,68 (12H, s), 2,87 (8H, s).

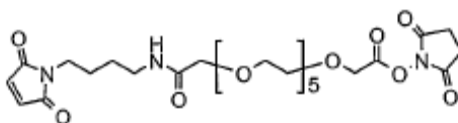
Intermedio 12



El Intermedio 9 (98mg, 0,36mmol) se disolvió en TFA:DCM 9:1 (2ml) y el disolvente se separó después de 25 min. El resto se disolvió en DMF (1ml) y se añadió a una disolución del Intermedio 11 (200mg, 0,36mmol) y Et₃N (184mg, 1,8mmol), en DCM (4ml). NB puede necesitar más Et₃N para obtener una solución básica después de la adición de la sal de TFA. Después de una noche de reacción todos los restos ésteres NHS se habían hidrolizado al ácido. El disolvente se separó, el resto se disolvió en HCl 0,1M (30ml) y se extrajo con DCM (3x30ml), dejando atrás el di-ácido. La disolución de DCM que contiene el material deseado y la di-maleimida se pasó rápidamente a través de 1" de sílica eluyendo con metanol en DCM al 10% para separar la di-maleimida, seguido por MeOH para eluir el producto, 29mg. NB El metanol debe ser separado en pocos minutos para evitar que reaccione con la maleimida – disolución rosa! m/z (LCMS ES+, 70V) 505,0 (MH⁺).

δ_H (CDCl₃) 7,06 (1H, t ancho), 6,63 (2H, s), 3,90 (2H, s), 3,86 (2H, s ancho), 3,58 (20H, ancho), 3,46 (2H, t, J7,0Hz), 3,22 (2H, c, J6,7Hz), 1,55 (2H, m), 1,46 (2H, m).

Intermedio 13

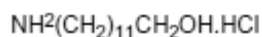


El intermedio 12 (29mg, 0,058mmol) se disolvió en DCM (4ml) y a la disolución se añadió NHS (9,9mg, 0,086mmol) seguido de EDC (16,5mg, 0,086). La reacción se dejó a temperatura ambiente durante la noche, la reacción se diluyó hasta 40ml con DCM y la disolución se lavó con HCl 0,1M (4x30ml). La fracción de DCM se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se separó para proporcionar el éster NHS como una goma incolora (30mg). Ésta se usó inmediatamente en la preparación del Ejemplo 8.

m/z (LCMS ES+, 70V) 602,0 (MH⁺)

Intermedio 14

12-Aminododecanol hidrocarburo

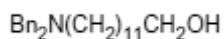


Acido 12-aminododecanoico (21,52g, 100mmol) se suspendieron en 100 cm³ de THF y se añadió el complejo borano THF (500mmol, disolución 1M). La reacción se dejó durante la noche y cuidadosamente se paró con metanol antes de evaporar a un pequeño volumen. El resto se suspendió en HCl 1M (500ml) y se calentó a 40 °C durante 1 hora y se dejó durante la noche. El sólido blanco se filtró y se lavó con HCl 1M frío. El producto se recristalizó de HCl 1M, filtró y secó sobre P₂O₅ a vacío. Rendimiento 18,70g (79%). Pf 120 °C ablandamiento, 169 °C líquido.

C₁₂H₂₆NOC1.1/5H₂O teórico C: 59,70%, H: 11,86%, N: 5,80%. Encontrado: C: 59,65%, H: 11,82%, N: 5,76%. m/z (ES+, 70V) 202,1 (MH⁺).

δ_H (CD₃CO₂D) 3,64 (2H, t), 3,06 (2H, t), 1,73 (2H, m), 1,57 (2H, m), 1,2-1,5 (16H, m).

Intermedio 15



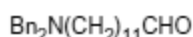
El Intermedio 14 (15g, 63,2mmol) se suspendió en una mezcla de diclorometano (150ml) y carbonato sódico saturado en agua (150ml). Bromuro de bencilo (189,6mmol, 33,7, 23,5ml) se añadió lentamente. La suspensión se aclaró y la reacción se completó después de 4 horas. Amoníaco acuoso (0,880, 30ml) se añadió y la reacción se dejó durante la noche. La fase orgánica se secó (sulfato magnésico) y se evaporó a sequedad. Los restos se disolvieron con agitación vigorosa en hexano a reflujo. El matraz se dejó a -20 °C cuando los cristales aparecían lentamente. Los cristales (Pf 45 °C) se filtraron, (18,03g, 75%).

$C_{26}H_{39}N_1O_1$ teórico C: 81,84%, H: 10,30%, N: 3,67% Encontrado: C: 81,64%, H: 10,24%, N: 3,54%. $C_{26}H_{39}N_1O_1$ teórico 381. m/z (ES+, 70V) 382 (MH+).

δ_H (CDCl₃) 7,1-7,6 (10H, m), 3,64 (2H, t), 3,56 (4H, s), 2,41 (2H, t), 1,1-1,8 (22H, m).

10 Intermedio 16

12-(Dibencilamino)dodecanal



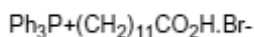
A una disolución de dimetilsulfóxido anhidro (30mmol, 2,13 ml) en diclorometano (200 ml) a -78 °C se añadió lentamente cloruro de oxalilo (2,6ml, 30mmol) en diclorometano (60ml). Después de 15 minutos el Intermedio 15 (10g, 26mmol) se añadió en diclorometano (60ml) y la reacción se agitó durante 20 minutos a -78 °C. Trietilamina (28ml) se añadió gota a gota a la reacción. Un precipitado se formó y después de 15 minutos se dejó que la reacción alcanzase la temperatura ambiente. Se añadió agua (100ml) a la reacción la cual se extrajo con diclorometano. Las fases orgánicas se lavaron con agua, se secaron (sulfato magnésico) y se evaporaron a sequedad. El resto se cromatografió (SiO₂, hexano-10% de acetato de etilo en hexano) para dar el producto como un aceite (7,97g, 80%). Este compuesto es inestable y debería ser usado el día de la preparación.

I. R. 1.725 cm⁻¹ (COH). $C_{26}H_{37}NO$ teórico 379,29. m/z (ES+, 70V) 380,3 (MH+).

δ_H (CDCl₃) 1,32 (14H, ancho), 1,61 (4H, 2xp), 2,43 (2H, t), 2,44 (2H, t), 3,60 (4H, s), 7,2-7,5 (10H, m), 9,78 (1H, t). δ_C (CDCl₃) 22,0, 26,9, 27,1, 29,0, 29,3, 29,4,29,5 (9C), 43,8 (1C), 53,3 (1C), 58,2 (2C), 126,6 (2C), 128,0 (4C), 128,6 (4C), 140,0 (2C), 202,3 (1C).

25 Intermedio 17

Bromuro de 11-(Carboxiundecil)trifenilfosfonio



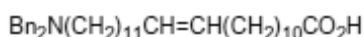
Al ácido 12-bromododecanoico (3,000g, 10,7 mmol) suspendidos en acetonitrilo (12 ml) se añadió lentamente trietilfosfina (2,818g, 10,7mmol). La reacción se calentó a 100 °C (sin condensador) con una corriente de argón sobre el matraz hasta que la reacción estuvo fundida, manteniéndose luego a 100 °C (con condensador) durante 24 horas. El resto caliente se disolvió en acetonitrilo (18 ml) y se añadió gota a gota al dietil éter frío (hielo seco) agitado rápidamente. El precipitado blanco de la sal de fosfonio formada se filtró entonces y se secó (5,353g, 92%).

Pf 110-112 °C. $C_{30}H_{38}O_2PBr$ teórico C: 66,54%, H: 7,07%, Encontrado: C: 66,42%, H: 7,10%.

δ_P (CDCl₃) 24,3 (s). δ_H (CDCl₃) 1,05-1,30 (12H, ancho), 1,53 (6H, ancho), 2,28 (2H, t), 3,55 (2H, ancho), 7,6-7,8 (15H, m). δ_C (CDCl₃) 22,1, 22,3, 22,8, 24,5, 28,8, 28,9, 30,0, 30,2 (10C), 34,2 (1C), 117,3,118,7 (3C), 130,3, 130,5 (6C), 133,3, 133,5 (6C), 134,9 (3C), 177,4 (1C).

Intermedio 18

Ácido 24-(Dibencilamino)-12-tetracosenoico



El Intermedio 17 (13,52g, 25mmol) se disolvió en DMSO seco (o THF) (40 ml) bajo argón a ~0 °C (DMSO no solidifica). 2,2 equivalentes de LDA. 2,0M (25 ml) se añadieron, la disolución se volvió naranja. La reacción se dejó a 0 °C durante ½ hora, y a la disolución ahora naranja oscura se añadió una disolución del Intermedio 16 (7,97g, 21 mmol) en THF seco (30 ml). La disolución se mantuvo a 0 °C durante 4 horas y luego se añadió HCl 2M (50 ml). La fase acuosa se extrajo con diclorometano, las fracciones combinadas, se secaron (MgSO₄) y el disolvente se separó para rendir el material crudo como una goma amarilla pálida. La cromatografía en columna de sílica (acetato de etilo en hexano 30-100%) rindió el producto deseado (6,20g, 53%), como una goma amarilla pálida.

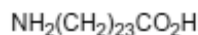
m/z (ES+, 70V) 562,5 (MH+), (ES-, 70V) 560,5 (M-H⁺).

ES 2 605 407 T3

δ_H (CDCl₃) 1,26 (30H, ancho), 1,42-1,72 (4H, m), 2,02 (4H, dxt), 2,34 (2H, t), 2,46 (2H, t), 3,65 (4H, s), 5,36 (2H, t), 7,2-7,4 (10H, m). δ_C (CDCl₃) 25,0, 26,4, 27,2, 29,3, 29,6 (19C), 34,5 (1C), 52,9 (1C), 57,7 (2C), 127,0 (2C), 128,2 (4C), 129,1 (4C), 129,9 (2C), 138,6 (2C), 179,2 (1C).

Intermedio 19

5 Ácido 24-aminotetracosanoico



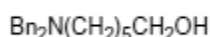
10 El intermedio 18 (6,2g) bajo atmósfera de hidrógeno se calentó a 60 °C durante la noche en ácido acético glacial usando el catalizador de Pearlman (10% w/w). La reacción se filtró a través de fibra de vidrio y se evaporó a sequedad. El producto fue cristalizado desde ácido acético/éter (4,2g, 100%). El producto se sometió a alto vacío para separar las trazas de ácido acético.

Pf 151-155 °C. C₂₄H₄₉NO₂·0,75CH₃CO₂H teórico C: 71,44%, H: 12,23%, N: 3,27%. Encontrado: C: 71,43%, H: 12,15%, N: 3,26%. m/z (ES+, 70V) 384,3 (MH+).

δ_H (CD₃OD + THF) 1,32 (38H, ancho), 1,65 (4H, ancho), 2,33 (2H, t), 2,74 (2H, m). δ_C (CD₃OD + THF) parcial 33,8 (1C), 35,3 (1C).

15 Intermedio 20

6-(Dibencilamino)-1-hexanol

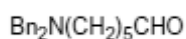


20 Bromuro de bencilo (61ml, 511 mmol) se añadió a una disolución agitada de 6-amino-1-hexanol (20g, 170 mmol) y trietilamina (142ml, 1,02 mol) en acetonitrilo (500ml) a temperatura ambiente durante dos días. La disolución de acetonitrilo se concentró a 100 ml y se diluyó con agua. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo, se lavó con una disolución saturada de NaCl, se secó (sulfato magnésico) y se evaporó a sequedad para rendir un aceite naranja. El producto fue cromatografiado en sílica (hexano - acetato de etilo/hexano 50%) para rendir un aceite incoloro (25g, 50%).

δ_H (CDCl₃) 7,23-7,39 (10H, m), 3,59 (6H, m), 2,42 (2H, t), 1,47-1,56 (4H, m), 1,24-1,32 (4H, m).

25 Intermedio 21

6-(Dibencilamino)hexanal

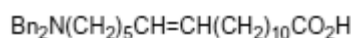


30 A una disolución agitada de DMSO (20 mmol, 1,41ml) en diclorometano (100ml) a -78 °C se añadió cuidadosamente cloruro de oxalilo (1,7ml, 20mmol) en diclorometano (30ml). Después de 15 minutos se añadió el Intermedio 20 (5g, 16,83mmol) en diclorometano (30 ml) manteniendo la temperatura a -78 °C. La reacción se agitó durante 20 minutos y se añadió trietilamina (14ml) gota a gota. Se formó un precipitado, después de 15 minutos la reacción se dejó que alcanzase la temperatura ambiente. Se añadió agua (100ml) a la reacción que se extrajo con diclorometano. Las fases orgánicas se lavaron con agua, se secaron (sulfato magnésico) y se evaporaron a sequedad. El resto se cromatografió (SiO₂, hexano – acetato de etilo en hexano al 20%) para dar el producto como un aceite (4,10g, 83%).
35 C₂₀H₂₅NO teórico C: 81,31%, H: 8,53%, N: 4,74%. Encontrado: C: 81,00%, H: 8,49%, N: 4,63%. m/z (ES+, 70V) 296 (MH+).

δ_H (CDCl₃) 9,71 (1H, s), 7,2-7,5 (10H, m), 3,57 (4H,s), 2,3-2,5 (4H, dt), 1,2-1,7 (6H, dm).

Intermedio 22

Ácido 18-(Dibencilamino)-12-octadecenoico



40 El intermedio 17 (1,082g, 2 mmol) se disolvió en DMSO seco (5 cm³) bajo argón a ~0 °C (DMSO no solidifica). 2,2 equivalentes de LDA 2,0M (4ml) se añadieron, la disolución se volvió naranja. La reacción se dejó a 0 °C durante ½ hora, y a la disolución ahora naranja oscura se añadió una disolución del Intermedio 21 (0,7g, 2mmol) en THF seco (10 ml). La disolución se mantuvo a 0 °C durante 4 horas y luego se añadió HCl 2M (50 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo, las fracciones combinadas, se secaron (MgSO₄) y el disolvente se separó para rendir el

45

ES 2 605 407 T3

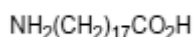
material crudo como una goma amarilla pálida. La cromatografía en columna de sílica (acetato de etilo en hexano al 30% o metanol en diclorometano al 5%) rindió el producto deseado (453mg, 53%), como un sólido blanco de bajo punto de fusión (Pf 21 C).

5 $C_{32}H_{47}NO_2$ teórico C: 80,45%, H: 9,92%, N: 2,93%. Encontrado: C: 80,20%, H: 9,92%, N: 2,74%. $C_{38}H_{59}NO_2$ teórico 477. Encontrado m/z (ES+, 70V) 478 (MH+).

δ_H (CDCl₃) 8,6-9,2 (1H, v ancho), 7,39-7,21 (10H, m), 5,37-5,29 (2H, m), 3,63 (4H, s), 2,48-2,43 (2H, t), 2,36-2,31 (2H, t), 2,01-1,97 (2H, t), 1,66-1,55 (4H, m), 1,29-1,24 (18H, m).

Intermedio 23

Ácido 18-aminooctadecanoico



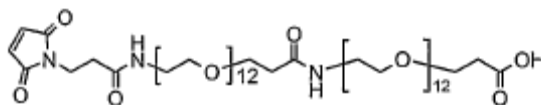
10

El Intermedio 22 (13g) bajo una atmósfera de hidrógeno se calentó a 60 C durante la noche en ácido acético glacial con catalizador de Pearlman (10% w/w). La reacción se filtró a través de fibra de vidrio caliente y se evaporó a sequedad. El producto se cristalizó desde ácido acético / éter (8,2g, 100%). El producto se someto a alto vacío para separar las trazas de ácido acético.

15 Pf 162-163 C. $C_{24}H_{49}NO_2 \cdot 0,25H_2O$ teórico C: 71,12%, H: 12,43%, N: 4,61%. Encontrado: C: 71,20%, H: 12,35%, N: 4,49%. m/z (ES+, 70V) 300 (MH+).

δ_H (CD₃CO₂D) 3,06 (2H, t), 2,38 (2H, t), 1,63-1,73 (4H, m), 1,33 (26H, m).

Intermedio 24

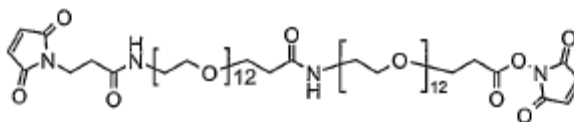


20 A una disolución del Intermedio 3 (99mg, 0,115mmol) en DCM (3ml) se añadió Et₃N (46mg, 0,458mmol) y el Intermedio 1 (0,143mmol). Después de 2 horas se añadió el ácido MP-sulfónico (1g, 1,43mmol/g), se agitó durante 1 hora y se separó por filtración. El disolvente se separó, el resto se disolvió en HCl 0,1M (20 ml), se lavó con dietil éter (5x30ml) y se extrajo con DCM (10x20ml). Las fracciones de diclorometano se combinaron, se lavaron con HCl 0,1M (20ml), se secaron sobre MgSO₄ y el disolvente se separó para rendir el producto 120mg, 77% como un aceite amarillo pálido. m/z (ES*, 70V) 685 (MH₂²⁺).

25

δ_H (CDCl₃) 6,75 (1H, t ancho), 6,70 (2H, s), 6,33 (1H, t ancho), 3,76 (2H, t, J7,3Hz), 3,68 (4H, m), 3,57 (88H, m), 3,47 (4H, m), 3,34 (4H, m), 2,53 (2H, t, J=6,4Hz), 2,45 (2H, t, J7,3Hz), 2,41 (2H, t, J6,0Hz).

Intermedio 25

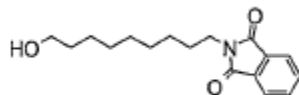


30 A una solución del Intermedio 24 (109mg, 0,080mmol) en DCM (4ml) se añadieron NHS (14mg, 0,120mmol) seguido de EDC (23mg, 0,120mmol). Después de una noche de reacción la disolución se diluyó con DCM hasta 40 ml, se lavó con HCl 0,1M (5x30ml), se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se eliminó para dar el producto 103mg, 88% como un aceite/goma incoloro. m/z (ES+, 70V) 733 (MH₂²⁺).

35 δ_H (CDCl₃) 6,63 (2H, s), 6,62 (1H, t ancho), 6,37 (1H, t ancho), 3,78 (4H, m), 3,67 (2H, t, J6,0Hz), 3,56 (88H, ancho), 3,46 (4H, m), 3,35 (4H, m), 2,83 (2H, t, J6,5Hz), 2,77 (4H, s), 2,44 (2H, t, J7,2Hz), 2,40 (2H, t, J6,0Hz).

Intermedio 26

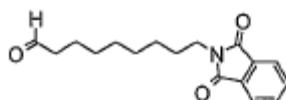
9-ftalimidonona-1-ol



- 5 Una mezcla agitada de 9-bromononanol (Aldrich) (1,0g, 4,5mmol), un derivado de ftalimida potásica (1,85g, 10mmol) y DMF (10ml) se calentó a 100 °C durante 1 hora. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con agua, con una disolución saturada de NaCl, se secó sobre sulfato magnésico y se evaporó bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco, 1,53g, rendimiento cuantitativo. m/z (LCMS ES+, 70V) 290,1 (MH⁺), 312,1 (MNa⁺). δ_H (CHCl₃-d) 7,81 (2H, m), 7,73 (2H, m), 3,64 (4H, m), 1,68 (2H, m), 1,59 (2H, m), 1,31 (10H, m).

10 Intermedio 27

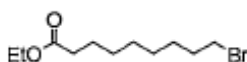
9-ftalimidononan-1-al



- 15 A una disolución agitada de dimetilsulfóxido (0,568ml, 8,0mmol) en diclorometano (56ml) a -78 °C se añadió cloruro de oxalilo (0,693, 8,0mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a -78 °C durante 15 minutos. El Intermedio 26 (2,0g, 7,0mmol) en diclorometano (8ml) se añadió lentamente. La mezcla se agitó a -78 °C durante 20 minutos. Se añadió trietilamina (7,5ml). La mezcla se agitó a -78 °C durante 15 minutos y se dejó calentar a temperatura ambiente. Se añadió agua; las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con agua, con una solución saturada de NaCl, se secó sobre sulfato magnésico y se evaporó bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título como un aceite, 2,18g, rendimiento cuantitativo. El producto tenía un R_f más alto que el material de partida por TLC (hexano:acetato de etilo 1:1; visualizado con luz UV). δ_H (CHCl₃-d) 9,68 (1H, s), 7,77 (2H, m), 7,64 (2H, m); 3,60 (t, 2H, J=7,5Hz), 2,33 (t, 2H, J=7,4Hz); 1,54 (4H, m), 1,25 (8H, m).
- 20

Intermedio 28

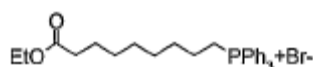
Bromuro de (8-carboxietil)octil



- 25 A etanol agitado (100ml) se añadió lentamente cloruro de acetilo (10ml). La disolución se agitó durante 30 minutos. Ácido 9-bromononan-1-oico (3,50g, 14,8mmol) (preparado de acuerdo con el método de Tranchepain y colaboradores, Tetrahedron volumen 45, página 2060 (1989)) se añadió y la disolución resultante se calentó a reflujo durante 1 hora. Se observó que la reacción se había completado por TLC (hexano:acetato de etilo 1:1; visualizado con sulfato cérico); el producto tenía un R_f más alto que el material de partida. El disolvente se evaporó bajo presión reducida para proporcionar el compuesto del título (junto con un producto secundario que se pensó sería el cloro análogo del compuesto del título) como un aceite amarillo, 3,52g. δ_H (CHCl₃-d) 4,15 (2H, c, J=7,2Hz), 3,42 (2H, t, J=6,8Hz); 2,31 (2H, t, J=7,5Hz); 1,87 (2H, m), 1,62 (2H, m), 1,45 (2H, m), 1,34 (8H, m), 1,27 (3H, t, J=7,2Hz).
- 30

Intermedio 29

Bromuro de (8-carboxietil)octiltrifenilfosfonio

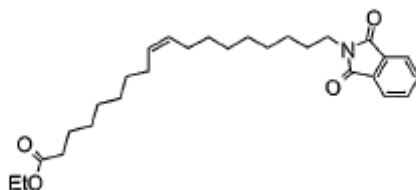


- 35 Una mezcla del crudo del Intermedio 28 (3,50g, 14,8mmol) y trifenilfosfina (3,88g, 14,8mmol) se calentó a 110 °C durante 72 horas. La desaparición del material de partida se confirmó por TLC (hexano:acetato de etilo 1:1; visualizado con sulfato cérico). La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se trituró con éter

isopropílico para proporcionar el compuesto del título como un aceite amarillo, 2,25g, 29%. δ_H (DMSO-d6) 7,90-7,73 (15H, m), 4,04 (2H, c, J=7,1Hz), 3,60 (2H, m), 2,24 (2H, t, J=7,3Hz), 1,50 (4H, m), 1,24 (8H, m) 1,16 (3H, t, J=7,1Hz).

Intermedio 30

Z-18-ftalimidoetil-9-octadecenoato



5

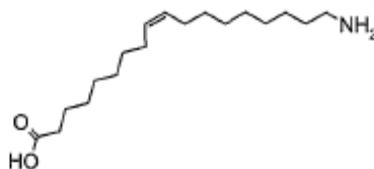
A una disolución agitada del Intermedio 29 (2,25g, 4,3mmol) en tetrahidrofurano anhidro (20ml) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ se añadió una disolución de bis(trimetilsilil)amida potásica 0,5M en tolueno (8,6ml, 4,3mmol) gota a gota durante 5 minutos. La disolución se dejó calentar a $0\text{ }^\circ\text{C}$, se volvió a enfriar a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ y se añadió gota a gota durante 5 minutos una disolución del Intermedio 27 (1,20g, 4,1 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (9ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, y se dejó que se calentase a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos más antes de parar la reacción con agua (40ml). La fase orgánica se separó, se lavó con una disolución saturada de NaCl, se secó sobre sulfato magnésico y se evaporó bajo presión reducida para proporcionar 2,0g del compuesto como un aceite amarillo, 380mg, (20%). δ_H ($\text{C}_6\text{H}_6\text{-d}_6$) 7,59 (2D, dd, J=3,0, 5,4Hz), 7,00 (2H, dd, J=3,0, 5,4Hz), 5,58 (2H, m), 4,10 (2H, c, J=7,1Hz), 3,65 (2H, t, J=7,3Hz), 2,26 (2H, t, J=7,4Hz), 2,20 (2H, m), 1,70 (2H, m), 1,44 (2H, m), 1,30 (2H, m), 1,10 (3H, t, J=7,1Hz).

10

15

Intermedio 31

Ácido Z-18-Amino-9-octadecenoico

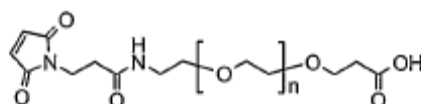


20

25

El Intermedio 30 (100mg, 0,22mmol), etanol (2ml), agua (2ml) e hidróxido sódico (1,0g) se calentaron juntos a reflujo durante 48 horas. La reacción se encontró que se había completado por TLC (diclorometano:metanol:ácido acético:agua 200:20:3:2; visualizado con ninhidrina). La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se acidificó con ácido clorhídrico 2M y se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con una disolución saturada de NaCl y se cargó en la parte superior de una columna de gel de sílice. Cromatografía; fase móvil diclorometano:metanol:ácido acético:agua 400:20:3:2 seguido por 200:20:3:2 dio el compuesto del título como un sólido blanco, 38mg, (58%). m/z (LCMS ES+, 70V) 298,0 MH^+ .

Ejemplo 1

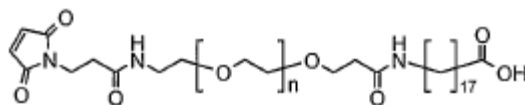


30

NHS-PEG-MAL, PM 2.000 (50mg) adquirido desde Shearwater se disolvió en agua destilada (2ml) y se dejó durante la noche. La disolución se diluyó con HCl 0,1M (20ml) y se extrajo con DCM (4x25ml). Las fracciones combinadas de DCM se lavaron después con HCl 0,1M (2x20ml), se secó sobre MgSO_4 y el disolvente se separó para dar el ácido como un sólido ceroso blanco, 43mg, 90%. m/z (LCMS ES-, 60V) para $n=43$ 2.177 ($(\text{M}-\text{H}^+)$).

δ_H (CDCl_3) 6,64 (2H, s), 6,37 (1H, ancho), 3,80-3,63 (4H, 2xm), 3,6-3,3 (~176H, m ancho), 2,53 (2H, J6,3Hz), 2,45 (2H, t, J=7,2Hz).

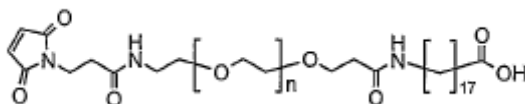
Ejemplo 2



Una suspensión del Intermedio 23 (12mg, 0,04mmol) y Et₃N (13mg, 0,133) en DMF (5ml) se calentó rápidamente hasta que se obtuvo una disolución clara. Después se añadió a la disolución NHS-PEG-MAL, PM 3.400 (113mg, 0,033mmol) de Shearwater y la reacción se dejó sin calentar durante una hora. La resina del ácido MP-sulfónico (0,5g, 1,43mmol/g) se añadió, se agitó durante 2 horas, se filtró y el disolvente se separó del filtrado. El residuo resultante se disolvió en HCl 0,1M (20ml), se lavó con Et₂O (5x50ml), se extrajo con DCM (4x30ml) y el combinado de las fracciones de DCM se lavó con HCl 0,1M (3x30ml). El DCM se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se separó para rendir el producto como un sólido ceroso blanco 108mg, 91%. m/z (LCMS ES-, 60V) para n= 73 1.890 ((M-2H⁺)²⁻).

δ_H (CDCl₃) 6,70 (2H, s), 3,88-3,59 (4H, s), 3,66-3,50 (~290H, ancho), 3,54 (2H, m), 3,46 (2H, m), 3,42 (2H, t, J4,9Hz), 3,30 (2H, t, J7,1Hz), 2,79 (2H, t), 2,53 (2H, t, J7,2Hz), 2,32 (2H, t, J7,5), 1,63 (2H, m), 1,55 (2H, m), 1,26 (26H, ancho).

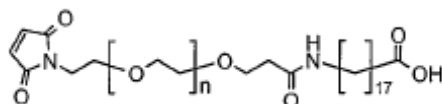
Ejemplo 3



El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando NHS-PEG-MAL, PM 3.400 por NHS-PEG-MAL, PM 2.000. m/z (LCMS ES-, 60V) para n=44 2.458 ((M-2H⁺)²⁻).

δ_H (CDCl₃) 6,70 (2H, s), 6,53 (2H, ancho), 3,80-3,42 (~160H, m ancho), 3,39 (2H, t, J4,9Hz), 3,35 (2H, c, J=5,1Hz), 3,15 (2H, c, J6,7Hz), 2,45 (2H, t, J7,2Hz), 2,40 (2H, t, J5,8Hz), 2,24 (2H, t, J5Hz), 1,54 (2H, m), 1,42 (2H, m), 1,18 (26H, ancho).

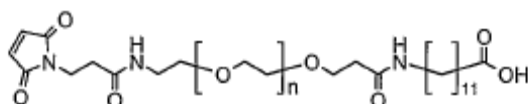
Ejemplo 4



El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando NHS-PEG-MAL, PM 3.400 por el nuevo NHS-PEG-MAL PM 3.400 de Nektar y usando DMSO el lugar de DMF. m/z (ES) para n=78 1.982 ((M-H⁺Cl⁻)²⁻).

δ_H (CDCl₃) 6,64 (2H, s), 6,46 (1H, t ancho), 3,88-3,46 (316H, m ancho), 3,40 (2H, t, J4,9Hz), 3,15 (2H, c, J6,7Hz), 2,40 (2H, t, J5,7Hz), 2,24 (2H, t, J7,5Hz), 1,56 (2H, p), 1,42 (2H, p), 1,18 (26H, ancho).

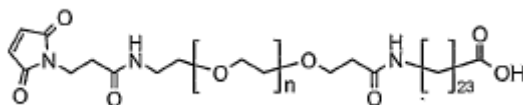
Ejemplo 5



El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando el Intermedio 23 por el ácido 12-amino dodecanoico. m/z (LCMS ES-, 60V) para n=74 1.848 ((M-2H⁺)²⁻).

δ_H (CDCl₃) 6,70 (2H, s), 3,90-3,69 (4H, m), 3,66-3,58 (~290H, m), 3,54 (2H, m), 3,46 (2H, m), 3,42 (2H, t, J4,9Hz), 3,31 (2H, t, J6,7Hz), 2,83 (2H, ancho), 2,54 (2H, t, J7,2Hz), 2,34 (2H, m), 1,63 (2H, m), 1,56 (2H, m), 1,28 (14H, ancho).

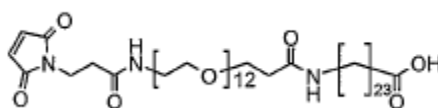
Ejemplo 6



El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando el Intermedio 23 por el Intermedio 19 y reemplazando NHS-PEG-MAL, PM 3.400 por NHS-PEG-MAL, PM 2.000. m/z (LCMS ES-, 60V) para n=43 2.542 ((M-H⁺)).

- 5 δ_H (CDCl₃) 6,64 (2H, s), 6,54 (1H, ancho), 3,80-3,45 (~160H, ancho), 3,39 (2H, t, J4,9Hz), 3,35 (2H, c, J5,1Hz), 3,15 (2H, c, J6,7Hz), 2,45 (2H, t, J7,3Hz), 2,41 (2H, t), 2,24 (2H, t, J7,5Hz), 1,55 (2H, p, J7,3Hz), 1,42 (2H, m), 1,19 (38H, s).

Ejemplo 7

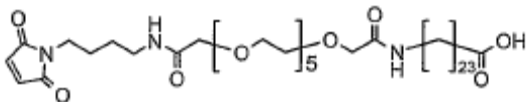


- 10 El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando el Intermedio 23 por el Intermedio 19 y reemplazando NHS-PEG-MAL, PM 3.400 por el Intermedio 3 y usando DMSO en lugar de DMF.

m/z (LCMS ES+) 567,7 ((MH₂)²⁺).

- 15 δ_H (CDCl₃) 6,64 (2H, s), 6,68 (1H, t ancho), 6,63 (2H, s), 6,48 (1H, ancho), 3,77 (2H, t, J7,2Hz), 3,66 (2H, t, J5,7Hz), 3,57 (44H, s ancho), 3,47 (2H, t, J5,0Hz), 3,35 (2H, c, J4,9Hz), 3,16 (2H, c, J6,6Hz), 2,44 (4H, m), 2,25 (2H, t, J7,5Hz), 1,55 (2H, p, J7,4Hz), 1,42 (2H, p, J6,9Hz), 1,18 (38H, s ancho).

Ejemplo 8

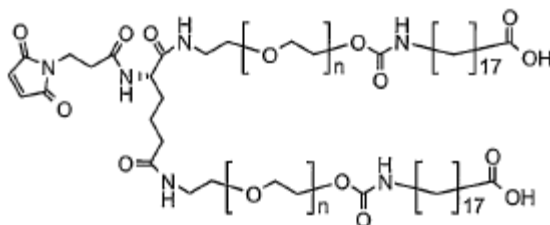


- 20 El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando el Intermedio 23 por el Intermedio 19 y reemplazando NHS-PEG-MAL, PM 3.400 por el Intermedio 3 y usando DMSO en lugar de DMF.

m/z (LCMS ES+) 870,3 (MH)⁺.

δ_H (CDCl₃) 7,05 (1H, ancho), 6,98 (1H, ancho), 6,62 (2H, s), 3,94 (2H, s), 3,92 (2H, s), 3,59 (20H, ancho), 3,47 (2H, t, J7,0Hz), 3,23 (4H, m), 2,25 (2H, t, J7,5Hz), 1,56 (4H, m), 1,45 (4H, m), 1,18 (38H, s ancho).

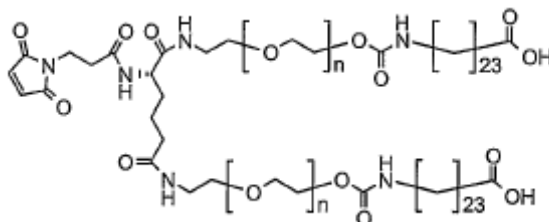
Ejemplo 9



- 25 El Intermedio 7 (124mg, 0,015mmol) se disolvió en TFA:DCM 9:1 (3ml) y el disolvente se separó después de 25 minutos. El residuo se disolvió en DCM (3ml), a éste se añadió Et₃N (9mg, 0,088mmol) (puede ser necesario añadir más para obtener una disolución básica debido al exceso de TFA) y el éster NHS del ácido maleimido propiónico (12mg, 0,044mmol). Después de una noche de reacción se separó el disolvente, el residuo se disolvió en HCl 0,1M (25ml) y se lavó con Et₂O (10x40ml). La fase acuosa se extrajo entonces con DCM (3x30ml), las fracciones combinadas de DCM se lavaron con HCl 0,1M (3x30ml) y el disolvente se separó para rendir el compuesto del título como un sólido blanco 80mg, 64%.
- 30

δ_H (CDCl₃) 7,01 (1H, t ancho), 6,90 (1H, d, J6,9Hz), 6,64 (2H, s), 6,52 (1H, t), 4,85 (2H, t ancho), 4,27 (1H, m), 4,14 (4H, m), 3,78-3,42 (~640H, m ancho), 3,39 (2H, m), 3,36 (2H, m), 3,08 (4H, m), 2,48 (2H, t, J7,0Hz), 2,23 (4H, m), 2,19 (2H, m), 1,73 (1H, m), 1,69-1,54 (7H, m), 1,41 (4H, m), 1,18 (52H, ancho).

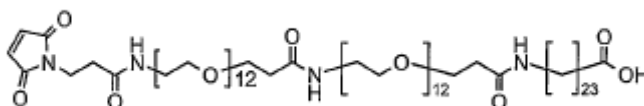
Ejemplo 10



5 El método como para el Ejemplo 9 excepto que el Intermedio 8 se usó en lugar del Intermedio 7. 189mg, 75%. m/z (ES-) 2.751 n=80 ((M-3H⁺)³).

10 δ_H (CDCl₃) 7,20 (1H, s ancho), 6,95 (1H, ancho), 6,85 (1H, ancho), 6,67 (2H, s), 4,84 (2H, ancho), 4,30 (1H, m), 4,18 (4H, m), 3,85-3,45 (~640H, ancho), 3,42 (4H, m), 3,10 (4H, m), 2,50 (2H, t), 2,27 (6H, m), 1,75 (1H, m), 1,7-1,5 (7H, m), 1,42 (4H, m), 1,20 (76H, ancho).

Ejemplo 11

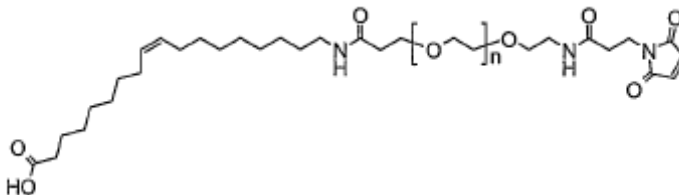


15 A una disolución del Intermedio 25 (70mg, 0,48mmol) en DMSO (1,5ml) se añadió una disolución caliente del Intermedio 19 (25mg, 0,057mmol) y Et₃N (24mg, 0,239mmol) en DMSO (2,5ml) (calentado con una pistola de aire caliente hasta disolución y usado inmediatamente). La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y después de 4 horas se añadió la resina del ácido MP-sulfónico (200mg, 1,43mmol/g). Después de 1 hora la resina se filtró, el disolvente se separó y el residuo se disolvió en DCM (40ml). La disolución de DCM se lavó con HCl 0,1M (5x25ml), se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se separó. El residuo se trituró después con HCl 0,1M y el disolvente se separó para dar el material deseado 55mg, 66% como un sólido amarillo.

20 m/z (ES+, 70V) 868 (MH₂)²⁺.

δ_H (CDCl₃) 6,68 (1H, ancho), 6,63 (2H, s), 6,50 (1H, ancho), 4,00-3,20 (102H, m ancho), 3,15 (2H, c, J6,7Hz), 2,41 (6H, ancho), 2,24 (2H, t, J7,4Hz), 1,55 (2H, p, J7,1Hz), 1,42 (2H, p, J6,9Hz), 1,18 (38H, ancho).

Ejemplo 12

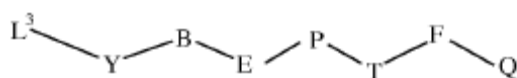


25 El método como para el Ejemplo 2 excepto reemplazando el Intermedio 23 por el Intermedio 31 y la DMF por DMSO para proporcionar el compuesto del título como un sólido ceroso.

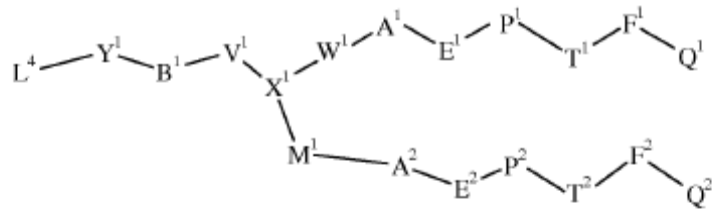
(LCMS ES+, 70V) 1.882,5 ((MNa₂)²⁺).

30 δ_H (CDCl₃) 6,64 (1H, s ancho), 6,63 (2H, s), 6,38 (1H, s ancho), 5,27 (1H, m), 3,77 (3H, m), 3,57 (~320H, m), 3,46 (2H, m), 3,35 (2H, m), 3,16 (2H, m), 2,44 (4H, m), 2,24 (2H, t, J7,4Hz), 1,94 (4H, m), 1,55 (2H, m), 1,42 (2H, m), 1,22 (18H, m).

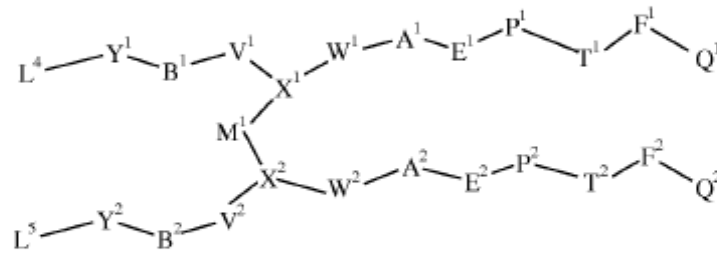
- X^1 y X^2 representan independientemente CR^1 o N;
- M^1 representa un enlace covalente o $-(CH_2)_m-$;
- W^1 y W^2 representan independientemente un enlace covalente o $-(CH_2)_w-$;
- 5 A^1 y A^2 representan independientemente $-CONH-$, $-NHCO-$, $-CO-$, $-OC(O)N(R^2)-$, $-N(R^2)C(O)O-$ o $-NHCONH-$;
- E , E^1 y E^2 representan independientemente un enlace covalente o $-(CH_2)_e-$;
- P , P^1 y P^2 son restos poliméricos que comprenden la repetición de la unidad $[OCH_2CH_2]_n$ donde n está entre 5 y 100;
- T , T^1 y T^2 representan independientemente un enlace covalente o un grupo enlazador;
- 10 F , F^1 y F^2 representan independientemente un ácido graso de cadena lineal de entre 14 y 24 átomos de carbono;
- Q , Q^1 y Q^2 representan independientemente un grupo ácido;
- R^1 representa un hidrógeno o alquilo de C_{1-4} ;
- R^2 representa un hidrógeno o alquilo de C_{1-4} ;
- 15 e es 1, 2, 3 o 4;
- v es 1, 2, 3 o 4;
- w es 1, 2, 3 o 4;
- y es 1, 2, 3, 4, 5 o 6; y
- m es 1,2 o 3.
- 20 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que F , F^1 y F^2 son independientemente una cadena lineal de 17 o 23 átomos de carbono.
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o reivindicación 2 en el que T , T^1 y T^2 se seleccionan independientemente de un enlace covalente, $-CONH-$, OCH_2CONH- , $-OCONH-$, y $-NHCO-$.
4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en el que Q , Q^1 y Q^2 son CO_2H .
- 25 5. Un compuesto de fórmula (V), (VI), (VII) o (VIII):



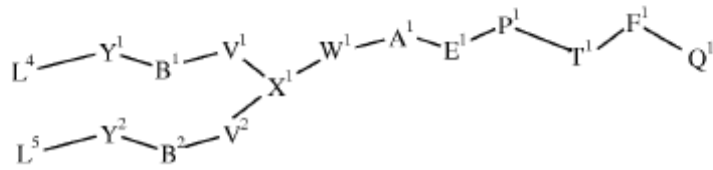
(V)



(VI)



(VII)



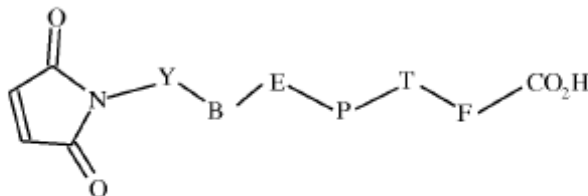
(VIII)

donde:

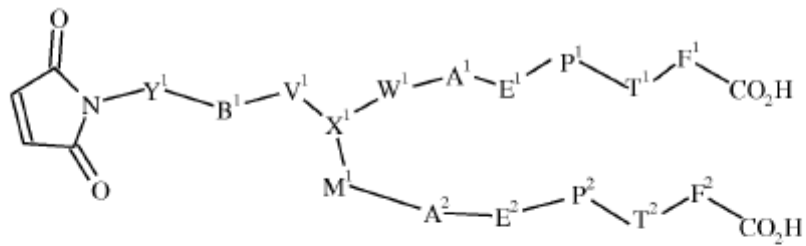
L^3 , L^4 y L^5 representan derivados de maleimida; y

cada una de las otras variables es como se define en la reivindicación 1.

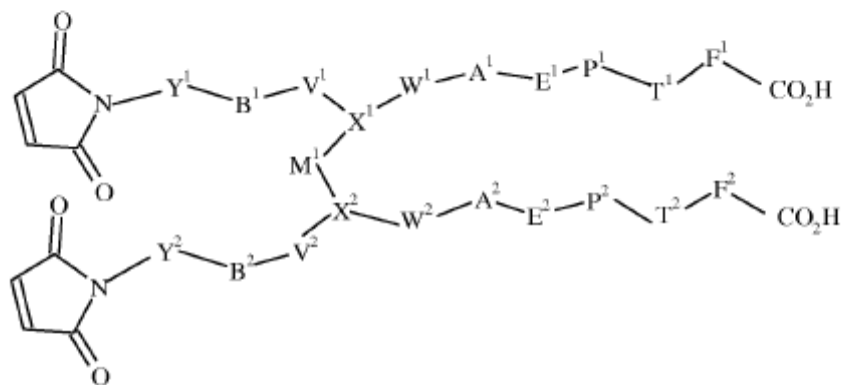
- 5 6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 en el que el compuesto se selecciona de la fórmula (IX), (X), (XI), (XII):



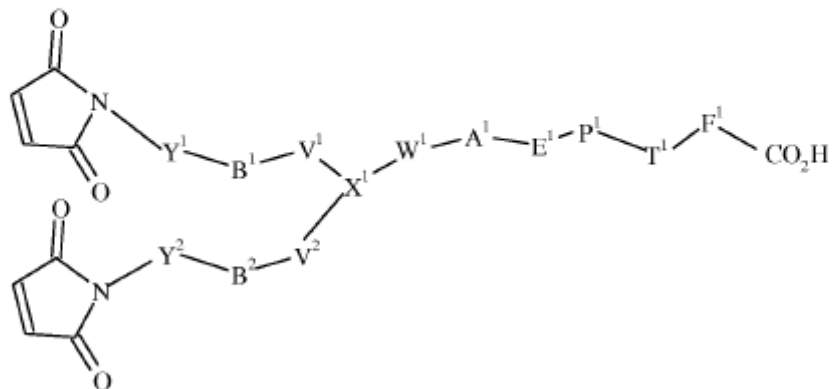
(IX)



(X)



(XI)



(XII)

donde cada una de las variables se define como en la reivindicación 1.

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en asociación con uno o más portadores, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

5