

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 109**

51 Int. Cl.:

C08G 69/10 (2006.01)

A61K 31/785 (2006.01)

C08G 69/42 (2006.01)

C08G 73/10 (2006.01)

C08G 83/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.10.2006 PCT/AU2006/001591**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2007 WO07048190**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.10.2006 E 06790425 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016 EP 1940916**

54 Título: **Compuestos macromoleculares que tienen estequiometría controlada**

30 Prioridad:

25.10.2005 AU 2005905908

24.10.2006 AU 2006906087

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

18.07.2017

73 Titular/es:

STARPHARMA PTY LIMITED (100.0%)

4/6 Southampton Crescent

Abbotsford VIC 3067, AU

72 Inventor/es:

KRIPPNER, GUY YEOMAN;

LICHTI, GOTTFRIED;

RAZZINO, PASQUALE;

KELLY, BRIAN DEVLIN;

PALLICH, SUSANNE;

HENDERSON, SCOTT ANDREW;

SCHEPPOKAT, ANGELA MICHELLE;

WILLIAMS, CHARLOTTE CLAIRE;

PORTER, CHRISTOPHER JOHN HAMILTON;

BOYD, BENJAMIN JAMES;

KAMINSKAS, LISA MICHELLE;

RENDLE, PHILLIP MARTIN y

GREATREX, BEN WILLIAM

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 625 109 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 macromoleculares que tienen estequiometría controlada

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a macromoléculas cuya arquitectura superficial puede estar controlada para producir una proporción enriquecida de un isómero topológico. En particular, las macromoléculas pueden sintetizarse a partir de lisina o motivos dendríticos análogos de lisina que tienen dos o más grupos superficiales.

10

Antecedentes de la Invención

En los últimos años, se ha descubierto que las macromoléculas dendríticas tienen aplicaciones crecientes en biotecnología y aplicaciones farmacéuticas sobre la base de sus exclusivas propiedades y estructura y, subsiguientemente, función. Las macromoléculas dendríticas son una clase especial de polímeros con estructuras densamente ramificadas que se caracterizan por mayores concentraciones de grupos funcionales por unidad de volumen molecular que polímeros ordinarios. Existen tres subclases de macromoléculas dendríticas (Frechet y Tomalia "Dendrimers and other Dendritic Polymers"): polímeros hiperramificados aleatorios; polímeros arborescentes ("dendrigrraft") y dendrímeros (que incluyen dendrones), clasificados basándose en el grado relativo de control estructural presente en cada una de las arquitecturas dendríticas. Generalmente, una macromolécula dendrítica incluye al menos dos capas o generaciones de unidades estructurales y todas contienen una o más ramas que se originan a partir de una molécula central.

En particular, se han desarrollado moléculas dendríticas a base de péptidos, tales como las basadas en polilisina, figura 1, como prometedores candidatos para vacunas, antivirales y antibacterianos. Una arquitectura específica de dendrímeros de lisina y análogo de lisina ha sido descrita por Denkewalter en la patente de Estados Unidos 4.289.872. Esta patente describe compuestos ramificados esencialmente de unidades trifuncionales similares a lisina idénticas.

La metodología de Denkewalter tiene la ventaja de que se proporcionan una pluralidad de enlaces amida para conectar las unidades trifuncionales, de modo que el resto dendrímérico final tiende a ser biocompatible y localmente similar a una proteína. Sin embargo, el resto dendrímérico proporcionado, de este modo, comprende múltiples grupos capaces de reaccionar terminales externos sustancialmente equivalentes (por ejemplo grupos amina) como el punto de unión para restos funcionales y se producen las siguientes consecuencias adversas:

35

- Si un reactivo adicional (por ejemplo, una molécula efectora biológica) se usa para reaccionar con los grupos capaces de reaccionar terminales externos del resto dendrímérico de tal manera que algunos de los grupos capaces de reaccionar terminales externos permanecen sin reaccionar, existe una dispersión estadística de los productos de reacción (es decir, la monodispersidad en el dendrímérico se pierde en el producto de reacción del dendrímérico).

40

- Si se usa una combinación de reactivos para reaccionar con los grupos capaces de reaccionar terminales externos del resto de dendrímérico, existe una dispersión estadística de productos de reacción y la monodispersidad se pierde. La situación es descrita por Newkome y col. (Combinational Chemistry) Vol 61, No 4 1998/99 "Dendrimer Construction and Macromolecular Property Modification Via Combinational Methods" (p 244) en los siguientes términos: "Existe una yuxtaposición de monómeros radiales no controlada mientras que se conserva el control del grupo funcional generacional".

Por lo tanto, aunque el carácter generacional en el dendrímérico se mantiene, y aunque los enlaces amida son ventajosos en la provisión de biocompatibilidad, la incapacidad de proporcionar monodispersidad radial (es decir, decoración superficial) es una desventaja significativa.

50

En las patentes US 5.229.490 y WO 9011778, Tam enseña que moléculas centrales dendríticas de 2 o 3 generaciones de lisina pueden construirse usando síntesis peptídica en fase sólida y usando lisina protegida ortogonalmente en la etapa final del proceso, para proporcionar una composición que tiene una topología superficial de $(PG_1PG_2)_4$. En particular, Tam describe un polímero dendrítico que porta múltiples epítopos B y T, donde los epítopos B y T están dispuestos como pares (epítipo B epítipo T) en la unidad estructural superficial. El proceso de síntesis peptídica en fase sólida no proporciona ninguna oportunidad de purificación hasta después de la iteración final de la síntesis. Los materiales proporcionados por dicho procedimiento son a menudo mezclas donde el componente diana está contaminado por los componentes que son de productos de deleción de aminoácidos.

60

La preparación de macromoléculas dendríticas con una superficie homogénea compuesta por solamente un único tipo de resto funcional es considerada actualmente rutinaria. Además, Tam y otros proporcionan enseñanza para la construcción de macromoléculas dendríticas en las que un núcleo o macromolécula tiene una estequiometría superficial homogénea que es 1:1 para dos restos funcionales A y B. Además, la topología de los dos restos funcionales se especifica como homogénea a nivel de pares (AB); es decir cada una de las unidades estructurales superficiales tiene dos restos funcionales A y B unidos a la misma unidad estructural superficial (que para la figura 3.5).

Un determinante clave de la eficacia de una macromolécula dendrítica en cualquier aplicación dada es la naturaleza de la superficie de la macromolécula. Esta solicitud describe isómeros topológicos de macromoléculas usando una jerarquía de términos descriptivos que sirven para elucidar la manera en que los restos funcionales, unidades estructurales superficiales y unidades estructurales están interconectadas.

Es, por consiguiente, un objetivo de la presente invención superar o al menos aliviar una o más de las dificultades y deficiencias relacionadas con la técnica anterior.

La referencia a cualquier técnica anterior en la memoria descriptiva no es, y no debe interpretarse como, un reconocimiento o cualquier forma de sugerencia de que esta técnica anterior forma parte del conocimiento común general en Australia o cualquier otra jurisdicción o de que podría esperarse razonablemente que esta técnica anterior sea evaluada, entendida y considerada relevante por un experto en la materia.

Resumen de la invención

El asunto para el que se busca protección se define en las reivindicaciones adjuntas.

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una macromolécula que tiene una estequiometría de resto funcional controlada que incluye al menos un motivo dendrítico que tiene una capa superficial formada a partir de al menos una unidad estructural superficial y al menos una capa subsuperficial formada a partir de al menos una unidad estructural, teniendo la unidad estructural superficial y unidades estructurales una cadena principal de hidrocarburo que porta un grupo carbonilo y al menos un grupo amina; y al menos dos restos funcionales diferentes en la unidad estructural y/o unidad estructural superficial; donde estequiometría de resto funcional se refiere al número y tipo de restos funcionales.

Preferentemente, las unidades estructurales del motivo dendrítico se seleccionan de entre lisina o análogos de lisina, y las unidades estructurales superficiales se seleccionan de entre lisina o análogos de lisina, glutamato y aspartato.

Las macromoléculas de la presente invención pueden seleccionarse de entre una preparación de macromoléculas, donde la preparación está enriquecida en una estequiometría de resto funcional seleccionada.

En una realización preferida, la macromolécula se selecciona de entre una preparación de macromoléculas que exhibe al menos un 10%, preferentemente un 20%, y más preferentemente un 40% de enriquecimiento en la estequiometría de resto funcional seleccionada en comparación con técnicas aleatorias.

De la manera más preferente, las preparaciones de macromoléculas están enriquecidas hasta el punto donde al menos el 80%, preferentemente el 90%, más preferentemente el 95% y de la manera más preferente el 99% de las macromoléculas exhiben la misma estequiometría de resto funcional.

En una realización preferida adicional, la macromolécula es un isómero topológico seleccionado, donde topología describe la relación entre un resto funcional y otro en términos de su conexión a la estructura subsuperficial.

Preferentemente la macromolécula que es un isómero topológico seleccionado, se selecciona de entre una preparación de macromoléculas que exhiben enriquecimiento en el isómero topológico seleccionado. Preferentemente, las macromoléculas exhiben un 10%, preferentemente un 20%, más preferentemente un 40% de enriquecimiento en el isómero topológico seleccionado.

En una realización adicional, se proporciona una macromolécula que tiene una estequiometría de resto funcional controlada que incluye al menos un motivo dendrítico que tiene una capa superficial formada a partir de al menos una unidad estructural superficial y al menos una capa subsuperficial formada a partir de al menos una unidad estructural, teniendo la unidad estructural superficial y unidades estructurales una cadena principal de hidrocarburo que porta un grupo carbonilo y al menos un grupo amina; y al menos dos restos funcionales diferentes en la unidad

estructural y/o unidad estructural superficial; donde la macromolécula es un isómero topológico seleccionado; donde estequiometría de resto funcional se refiere al número y tipo de restos funcionales, y topología describe la relación entre cada resto funcional en términos de su conexión a las capas superficial y subsuperficial.

- 5 Las macromoléculas de acuerdo con este aspecto de la presente invención pueden utilizarse en diversas aplicaciones, tal como se describe más adelante, donde la capacidad de controlar tanto las propiedades superficiales como la estructura global de la macromolécula es ventajosa. Esto es particularmente importante donde están incluidos más de un resto funcional.
- 10 Por ejemplo, la macromolécula puede utilizarse ventajosamente para suministrar a un sitio deseado un compuesto farmacéuticamente activo en su superficie, junto con un compuesto superficial secundario que puede funcionar para modificar una característica especificada, por ejemplo, solubilidad, farmacocinética, orientación, biodisponibilidad, potencia, reactividad, vida en plasma.
- 15 Además, la capacidad para enriquecer una preparación de macromoléculas dendríticas en moléculas de la misma topología, donde topología describe la relación entre un resto funcional y otro en términos de su conexión a la estructura subsuperficial, es deseable de la misma manera que ha demostrado ser deseable enriquecer materiales orgánicos en estereoisómeros o regioisómeros particulares, particularmente para aplicaciones biológicas. Por lo tanto, se entenderá que isomería topológica en la macromolécula representa un subconjunto del conjunto completo de isómeros regio y estereoquímicos para la macromolécula. Es decir, el conjunto que atañe específicamente al posicionamiento de los grupos superficiales unos respecto a otros, y se entenderá adicionalmente que, por tanto, puede ser que un isómero topológico pueda ser más eficaz en una aplicación dada que otro isómero topológico. Incluso sin saber qué isómero topológico es el mejor para una aplicación dada, la capacidad de preparar isómeros topológicos de macromolécula en forma relativamente pura es muy útil en el cribado para relaciones estructura-
25 actividad.

En una realización preferida de este aspecto de la presente invención, los motivos dendríticos de la macromolécula incluyen una unidad estructural de lisina o análogo de lisina que tiene un grupo carboxilato o residuo del mismo en el ápice del mismo, unido a dos grupos amina, estando al menos un grupo amina unido a un grupo carboxilato o residuo del mismo de una segunda unidad estructural, que está, a su vez, unida directamente o indirectamente a un primer y segundo resto funcional, estando al menos uno de los restos funcionales unidos a una amina superficial en la segunda unidad estructural. Preferentemente, la unidad estructural superficial es una lisina o análogo de lisina, glutamato o aspartato. Cuando la segunda unidad estructural es una unidad estructural superficial que es una lisina o análogo de lisina, el segundo resto funcional puede estar unido a una segunda amina superficial en la segunda
30 unidad estructural.

Además de los restos funcionales unidos a la segunda unidad estructural superficial, un tercer resto funcional puede estar unido al segundo grupo amina de la unidad estructural de lisina o análogo de lisina, dando como resultado un motivo dendrítico con funcionalización a nivel superficial y subsuperficial.
40

En otra realización, la macromolécula puede incluir una o más capas superficiales intermedias al grupo carboxilato del ápice o residuo del mismo y el al menos un grupo amina superficial. Opcionalmente, la macromolécula puede incluir dos o más capas subsuperficiales. Preferentemente, al menos una de las capas subsuperficiales incluye un grupo carboxilato del ápice o residuo del mismo y dos grupos amina capaces de reaccionar, estando al menos un
45 grupo amina, a su vez, unido a un grupo carboxilato adicional o residuo del mismo.

En una realización adicional, cada amina superficial puede portar un resto funcional A o B, con un par de restos funcionales adyacentes en la misma unidad estructural superficial formando un par seleccionado de entre (AA), (BB) y (AB), o cualquier combinación de los mismos. Opcionalmente, las aminas superficiales pueden portar un resto funcional adicional D, con un par de restos funcionales adyacentes en la misma unidad estructural formando un par seleccionado entre (AA), (AB), (AD), (BB), (BD), (DD) o cualquier combinación de los mismos.
50

Las macromoléculas que portan restos funcionales A y B, o A, B y D, pueden seleccionarse de entre una preparación de macromoléculas que exhiben un enriquecimiento en un isómero topológico seleccionado. El enriquecimiento puede ser a nivel de par; a nivel de cuarteto, donde un par de pares adyacentes forman un cuarteto, teniendo cada cuarteto una línea de conexión a un grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural superficial menos una; a nivel de octeto, donde cuartetos adyacentes forman un octeto, teniendo cada octeto una línea de conexión a un grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural superficial menos dos; o a nivel de 16-teto, donde octetos adyacentes forman un 16-teto, teniendo cada 16-teto una línea de conexión a un grupo carboxilato del
60 ápice de una unidad estructural superficial menos tres.

La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales también puede describirse en términos de cuartetos, octetos y 16-tetos. Por ejemplo, se usa un cuarteto de forma $((AA)(BD))^4$ para representar cuatro restos funcionales A,A,B,D que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a una unidad estructural superficial menos una. Un octeto de forma $((AA)(AB))^4((AB)(AA))^4$ se usa para representar seis restos funcionales de tipo A y dos restos funcionales de tipo B que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a una unidad estructural superficial menos dos. Un 16-teto de forma $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ se usa para representar dieciséis restos funcionales de tipo A que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural de generación, en particular a una unidad estructural de generación superficial menos tres.

En una realización alternativa, cuando la macromolécula de la presente invención tiene solamente dos tipos o resto funcional A y B en la misma unidad estructural o unidad estructural superficial, la estequiometría del resto funcional es distinta de 1:1.

Las macromoléculas o motivos dendríticos de la presente invención pueden estar unidos a núcleos. En ausencia de un núcleo, el propio motivo dendrítico puede ser la macromolécula. En un aspecto preferido, se proporciona una macromolécula que tiene un núcleo y al menos un motivo dendrítico de la fórmula:



donde:

un $[\text{unidad estructural}]_m[\text{unidad estructural superficial}]_p$ define un motivo dendrítico; el núcleo puede ser cualquier compuesto, partícula o sustrato al que puede unirse el motivo dendrítico;

la unidad estructural se selecciona de entre una lisina o análogo de lisina;

la unidad estructural superficial es una lisina o análogos de lisina, glutamato o aspartato;

los restos funcionales incluyen dos o más restos funcionales diferentes seleccionados de entre grupos protectores; ligandos de restos con efecto biológico para receptores extracelulares; modificadores de propiedades; grupos de direccionamiento biológico; grupos de señalización; materiales antigénicos; materiales genéticos; agentes farmacéuticamente activos; grupos adaptados para mediar la unión a una segunda entidad, y enlazadores.

m representa la suma de las unidades estructurales de las capas superficiales del motivo dendrítico y es un número entero de valor: $1 \leq \text{número entero} \leq 64$;

n representa el número unidades estructurales superficiales del motivo dendrítico y es un número entero de valor: $2 \leq \text{número entero} \leq 64$;

p representa el número total de restos funcionales en la superficie de la macromolécula y es un número entero de valor: $4 \leq \text{número entero} \leq 128$; y

q representa el número total de motivos dendríticos en el núcleo de la macromolécula y es un número entero de valor: $1 \leq \text{número entero} \leq 10^6$

En una realización, más de un motivo dendrítico puede unirse a un núcleo para permitir la construcción de macromoléculas más grandes y más complejas. Por ejemplo, dos motivos dendríticos, que tienen, cada uno, 3 capas subsuperficiales y 1 capa superficial y que portan 16 restos funcionales, pueden unirse a un núcleo divalente, produciendo una macromolécula que tiene dos motivos dendríticos y que portan 32 restos funcionales.

Existen una serie de maneras de sintetizar o "construir" una macromolécula de la presente invención. Preferentemente, la macromolécula es un dendrímico. Un proceso para sintetizar macromoléculas de la presente invención implica la reacción secuencial de un resto central de macromolécula creciente y una o más capas de compuestos estructurales. Dicho proceso incluye:

- i) proporcionar una macromolécula creciente que incluye al menos un grupo capaz de reaccionar; un primer compuesto estructural que tiene una cadena principal de hidrocarburo, y que porta un grupo carbonilo del ápice y al menos un grupo amina que porta un resto funcional que es un grupo protector;
- iii) activar el grupo carbonilo del ápice del primer compuesto estructural; y
- iii) hacer reaccionar la macromolécula creciente desprotegida con el grupo carbonilo del ápice del primer compuesto estructural.

Las etapas del proceso se reiterarán a continuación hasta que se consiga una macromolécula de las capas subsuperficiales y superficiales deseadas.

En un proceso alternativo, la macromolécula puede prepararse mediante las siguientes etapas:

- i) proporcionar una macromolécula creciente que incluye un primer grupo capaz de reaccionar;
- 5 un compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico que porta al menos dos restos funcionales, teniendo el motivo una capa superficial y al menos una capa subsuperficial, y teniendo una cadena principal de hidrocarburo y portando un grupo carbonilo del ápice;
- ii) activar el grupo carbonilo del ápice del motivo dendrítico; y
- iii) hacer reaccionar la macromolécula creciente desprotegida con el grupo carbonilo del motivo dendrítico.
- 10 El proceso puede incluir además las etapas preliminares de preparar el compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico, incluyendo el proceso:
- iv) proporcionar
- 15 un primer compuesto estructural que incluye un grupo carbonilo del ápice, unido directa o indirectamente a al menos un grupo amina que porta al menos un resto funcional, que es un grupo protector;
- un segundo compuesto estructural que incluye un grupo carbonilo del ápice, unido a al menos un grupo amina que porta un primer y segundo resto funcional;
- v) activar el grupo amina en el primer compuesto estructural retirando el grupo protector;
- 20 vi) activar el carbonilo del ápice del segundo compuesto estructural; y
- vii) hacer reaccionar el primer compuesto estructural desprotegido con el grupo carbonilo del ápice del segundo compuesto estructural.

Dependiendo de la macromolécula y los restos funcionales en la unidad estructural o unidad estructural superficial, las macromoléculas pueden tener un número diverso de usos profilácticos y/o terapéuticos, particularmente cuando se formulan como una composición farmacéutica. Por consiguiente, se proporciona una composición farmacéutica que incluye una macromolécula que tiene un resto funcional controlado estequiométricamente de acuerdo con la reivindicación 3.

30 Descripción detallada:

Tal como se usa en el presente documento en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas en singular "un", "una" y "el" incluyen referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, referencia a "una macromolécula" incluye una o más de dichas macromoléculas.

35 El término "comprende" (o sus variantes gramaticales), tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, es equivalente al término "incluye" y no debe interpretarse como excluyente de la presencia de otros elementos o características.

40 Por la expresión "unidad estructural" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende una unidad usada en la construcción de un motivo dendrítico. Por ejemplo, la unidad estructural puede ser lisina o análogos de lisina que tienen un carboxilato en el ápice de las mismas (carboxilato del ápice). Capas de unidades estructurales portan al menos una amina u otro grupo capaz de reaccionar que puede hacerse reaccionar además con el grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural adicional.

45 Por la expresión "unidad estructural superficial" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende una unidad estructural dentro de la capa más externa de las unidades estructurales de la macromolécula, es decir no hay unidades estructurales adicionales unidas a los grupos capaces de reaccionar superficiales de cualquiera de las unidades estructurales dentro de la capa. Una unidad estructural superficial tiene un resto carbonilo del ápice y un armazón de hidrocarburo mediante el cual restos funcionales pueden unirse a la macromolécula o motivo dendrítico.

50 Por la expresión "motivo dendrítico" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende una unidad discreta de la macromolécula. Cuando la macromolécula se corta en un enlace que conecta una de las aminas capaces de reaccionar de la unidad estructural o núcleo al grupo carboxilato del ápice de la unidad estructural unida, el motivo dendrítico "caerá". La valencia del grupo carboxilato del ápice del motivo dendrítico es incompleta, como representa el punto en el que el motivo dendrítico estaría unido a un núcleo de macromolécula creciente durante el proceso de sintetizar una macromolécula de la invención.

60 Por la expresión "amina superficial" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las

reivindicaciones, se entiende cualquiera de los nitrógenos capaces de reaccionar más externos de la macromolécula o motivo dendrítico que se derivan del núcleo constituyente, unidades estructurales o enlazadores. Estas aminas superficiales representan los puntos de unión para unidades estructurales, enlazadores o restos funcionales adicionales.

5

Por la expresión "nitrógeno capaz de reaccionar" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende que el nitrógeno es capaz de reaccionar con un ácido carboxílico o residuo activado del mismo para formar un enlace covalente.

10 Por la expresión "resto funcional" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende cualquier grupo incluyendo grupos protectores, con la excepción de una unidad estructural o un enlazador, que pueden unirse a una amina superficial con el propósito de servir para una función particular.

15 Por la expresión "resto funcional de detención en el extremo" tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende un resto funcional que puede unirse a una amina superficial y que mantendrá su funcionalidad a través de posteriores transformaciones usadas para completar la construcción de la macromolécula o motivo dendrítico. Un resto funcional de detención en el extremo puede transformarse en un resto funcional una vez que el ensamblaje de la macromolécula o motivo dendrítico está completo, con el fin de que

20 realice su función requerida.

Por la expresión "estequiometría de resto funcional", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende la composición, o el número y el tipo, de los restos funcionales sobre la superficie de la macromolécula.

25

Por la expresión "topología de resto funcional", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende la relación entre un resto funcional y otro en términos de su conexión a la estructura superficial y subsuperficial.

30 Por el término "enriquecimiento", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende la composición de macromoléculas que tiene macromoléculas que portan una pluralidad especificada de grupos funcionales, tal como proporciona un proceso de esta invención, que tienen una mayor uniformidad de identidad molecular, tanto en términos de estequiometría de resto funcional como de topología de resto funcional, que una composición de macromoléculas que tiene macromoléculas con una estequiometría de

35 grupo funcional especificado equivalente que ha sido preparada usando una funcionalización superficial aleatoria. Existen procedimientos estadísticos que pueden aplicarse para modelizar el resultado teórico de una funcionalización superficial aleatoria usando dos o más restos funcionales; y la salida de dichos modelos puede proporcionar un punto de referencia para la determinación de enriquecimiento relativo para las composiciones de esta invención.

40

Por la expresión "isómero topológico", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende una macromolécula que tiene una topología particular, donde describe la relación entre un resto funcional y otro en términos de su conexión a la estructura subsuperficial.

45 Por el término "subsuperficial", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende la capa de unidades estructurales que portan aminas capaces de reaccionar con el grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural o grupo carbonilo adicional de una unidad estructural superficial. Las capas pueden describirse, a su vez, como la capa superficial menos una, que significa la primera capa subsuperficial inmediatamente adyacente a la capa superficial; la capa superficial menos dos es la segunda

50 capa por debajo de la capa superficial; la capa superficial menos tres es la tercera capa por debajo de la capa superficial; y así sucesivamente.

Por la expresión "grupos protectores de amina", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende un grupo químico unido a un resto de amina de una macromolécula o motivo dendrítico con el fin de prevenir que el resto de amina forme un enlace amida cuando está en presencia de un grupo carbonilo activado, pero que puede ser retirado del mismo resto de amina sin detrimento de la integridad del enlace amida en cualquier otra parte en la macromolécula o motivo dendrítico y, grupos para el que existe una orden de retirada, de modo que aquellos grupos que no están destinados para retirada por escisión son inertes en las condiciones de escisión de eliminación. Cuando los grupos protectores se definen como "resolubles", esto

60 significa que las condiciones para la retirada de un grupo pueden afectar a la integridad del segundo grupo, mientras

que existen condiciones por las que el segundo grupo puede ser retirado sin afectar la integridad del primer grupo. Cuando los grupos protectores se definen adicionalmente como "ortogonales", esto significa que cada grupo es inerte en las condiciones de retirada por escisión requeridas para retirar cada uno de los otros grupos del conjunto ortogonal. Es importante tener en cuenta que los grupos protectores son resolubles u ortogonales sólo cuando se usan las condiciones de reacción apropiadas.

Por el término "enlazador", tal como se usa en el presente documento en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, se entiende un resto que comprende dos grupos reactivos que están conectados por uno o más carbonos o heteroátomos.

Se han reivindicados usos de amplio espectro para restos dendríticos, por ejemplo como agentes terapéuticos *per se* o como agentes terapéuticos cuando se combinan macromoléculas con materiales bioactivos. Sin embargo, la incapacidad de proporcionar decoración superficial monodispersa es particularmente aguda para aplicaciones farmacéuticas humanas, donde los reguladores están empezando a insistir en que los restos terapéuticos macromoleculares deben estar definidos tan estrechamente (monodispersos) como los restos terapéuticos de molécula pequeña.

Además, en macromoléculas que portan dos o más restos funcionales diferentes, y se preparan como isómeros topológicos diferentes, se ha demostrado que la manera en la que cada isómero topológico interactúa con un complejo sistema puede ser diferente, lo que indica que existe un beneficio específico a obtener a partir de la capacidad de controlar la distribución superficial de diferentes restos funcionales. Por ejemplo, la necesidad de la industria farmacéutica de identificar moléculas similares a un fármaco que se dirigen a rutas clínicamente relevantes al ser presentadas de manera controlada para garantizar la actividad. Aunque el desarrollo de metodología de cribado de alto rendimiento permite que se criben grandes números de compuestos, el enfoque conceptualmente más sencillo de hacer avanzar compuestos generalmente requiere contactos adyacentes altamente específicos o energéticamente favorables para tener éxito (Erlanson y col. 2004)., J Med. Chem., 47(14) 3463 - 3482.

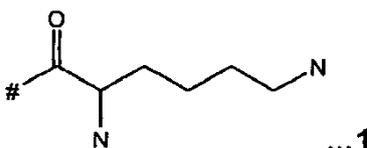
Erlanson y colaboradores (2004) describen numerosos ejemplos mediante los cuales compuestos conocidos se enlazan a fragmentos de compuestos recientemente identificados para mejorar las propiedades globales del compuesto mediante unión a puntos de contacto adicionales. Pero aunque existen técnicas para seleccionar combinaciones de compuestos que puedan unirse de forma concurrente, enlazarlos de forma productiva y no competitiva sigue siendo un desafío técnico significativo.

Un determinante clave de la eficacia de una macromolécula dendrítica en cualquier aplicación dada es la naturaleza de la superficie de la macromolécula. Esta solicitud describe isómeros topológicos de macromoléculas usando una jerarquía de términos descriptivos que sirven para elucidar la manera en que los restos funcionales están interconectados por la estructura subsuperficial.

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una macromolécula que tiene una estequiometría de resto funcional controlada que incluye al menos un motivo dendrítico que tiene una capa superficial formada a partir de al menos una unidad estructural superficial y al menos una capa subsuperficial formada a partir de al menos una unidad estructural, teniendo la unidad estructural superficial y unidades estructurales una cadena principal de hidrocarburo que porta un grupo carbonilo y al menos un grupo amina; y al menos dos restos funcionales diferentes en la unidad estructural y/o unidad estructural superficial; donde estequiometría de resto funcional se refiere al número y tipo de restos funcionales.

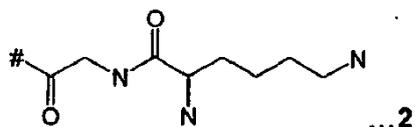
En una realización, el motivo dendrítico de acuerdo con la presente invención incluye al menos una unidad estructural, estando la unidad estructural seleccionada de entre lisina y análogos de lisina que tienen # de resto para indicar un enlace que conecta la unidad estructural a una amina capaz de reaccionar, seleccionada de entre el grupo que consiste en:

Lisina 1: que tiene la estructura:

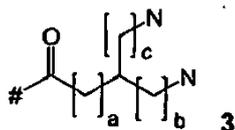


55

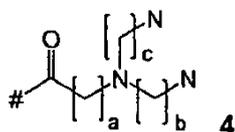
Glicil-Lisina 2 que tiene la estructura:



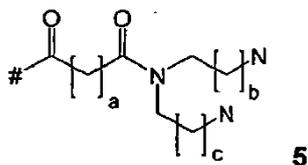
Análogo **3**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 1 o 2; b y c son iguales o 5 diferentes y son números enteros de 1 a 4.



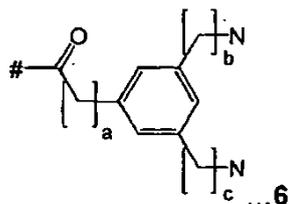
Análogo **4**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o 10 diferentes y son números enteros de 2 a 6



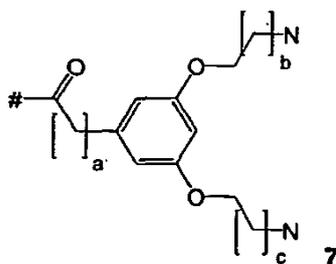
Análogo* **5**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o 15 diferentes y son números enteros de 1 a 5



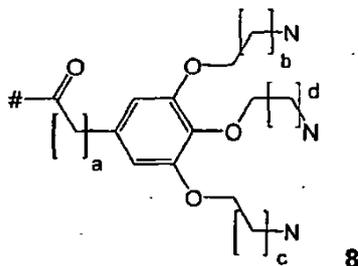
Análogo **6**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o 20 diferentes y son números enteros de 0 a 5



Análogo **7**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o 25 diferentes y son números enteros de 1 a 5

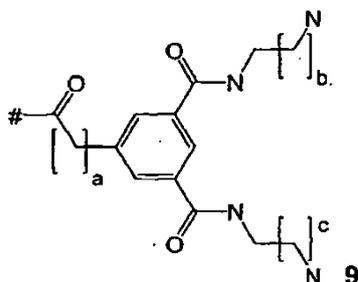


Análogo **8**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5



5

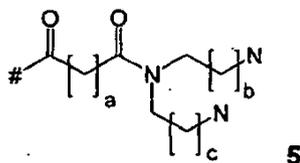
Análogo **9**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5



10

y además, puede entenderse que los restos de cadena alquilo de las unidades estructurales incluyen cualesquiera fragmentos de alcoxi como C-O-C o C-C-O-C-C pero no O-C-X donde X es O o N.

En un aspecto preferido de la invención, las unidades estructurales se seleccionan entre Lisina **1**, Glicil-Lisina **2** o
15 análogo de Lisina **5**:



donde a es un número entero de 0 a 2 o el enlace alquilo es C-O-C; b y c son iguales o diferentes y son números
20 enteros de 1 a 2.

En una realización, la unidad estructural superficial puede seleccionarse entre el conjunto de unidades estructurales 1-9 descritas anteriormente. En una realización alternativa, la unidad estructural superficial puede ser un compuesto
25 donde el nitrógeno capaz de reaccionar puede sustituirse por otro resto capaz de reaccionar.

25

Grupos capaces de reaccionar químicos que proporcionan un medio útil de unir restos funcionales a una unidad estructural superficial son: amina, carboxilato, hidroxilo, tiol, haluro de alquilo, haluro de alilo, haluro de heteroarilo, haluro de arilo, haluro de vinilo, epóxido, azida de aziridina, alquino. Cuando los grupos funcionales químicos de la
30 unidad estructural superficial son iguales, como en hidroxilo, tiol, carboxilato, pueden estar ortogonalmente protegidos para conseguir unión de dos o más restos funcionales diferentes.

Cuando los grupos capaces de reaccionar químicos de la unidad estructural superficial pueden interactuar potencialmente entre sí en las condiciones de reacción usadas para unir los restos funcionales, entonces uno o más
35 de los diferentes grupos funcionales químicos pueden estar protegidos mientras que el otro grupo funcional químico se hace reaccionar con un resto funcional.

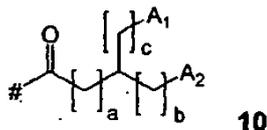
Son ejemplos de grupos funcionales químicos que pueden interactuar potencialmente y que pueden incluirse en una

unidad estructural superficial: carboxilato con cualquiera de amina, tiol o hidroxilo; haluro de heteroarilo con cualquiera de amina, tiol o hidroxilo; haluro de alquilo y cualquiera de amina, tiol o hidroxilo; epóxido y cualquiera de amina, tiol o hidroxilo; aziridina y cualquiera de amina, tiol o hidroxilo.

5 En otra realización más, la unidad estructural superficial puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en:

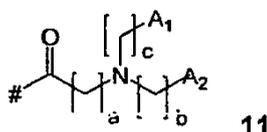
Análogo **10**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 4. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X como F, Cl, Br o I, Alil-X como F, Cl, Br o I, epóxido, aziridina, N₃ o alquino.

10



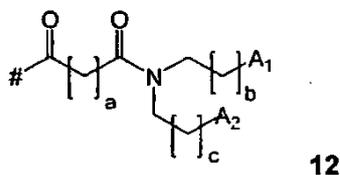
Análogo **11**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 2 a 6. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, epóxido, N₃ o alquino.

15



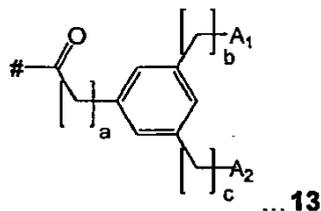
Análogo **12**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X como F, Cl, Br o I, Alil-X como F, Cl, Br o I, epóxido, aziridina, N₃ o alquino.

20



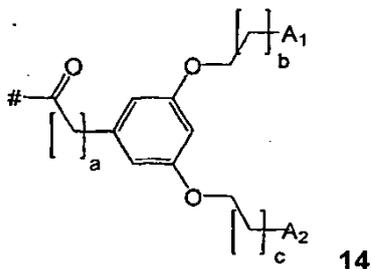
Análogo **13**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 0 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X como F, Cl, Br o I, Alil-X como F, Cl, Br o I, epóxido, aziridina, N₃ o alquino.

25



30

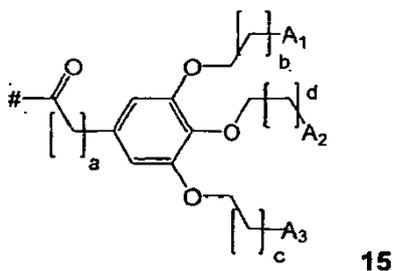
Análogo **14**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X como F, Cl, Br o I, Alil-X como F, Cl, Br o I, epóxido, aziridina, N₃ o alquino.



Análogo **15**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b, c y d son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5.

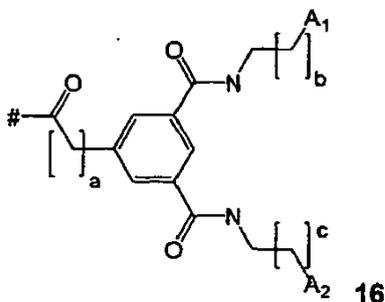
5

A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X como F, Cl, Br o I, Alil-X como F, Cl, Br o I, epóxido, aziridina, N₃ o alquino



10

Análogo **16**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X como F, Cl, Br o I, Alil-X como F, Cl, Br o I, epóxido, aziridina, N₃ o alquino



15

y además, se puede entender que los restos de cadena alquilo de las unidades estructurales incluyen cualesquiera fragmentos alcoxi como C-O-C o C-C-O-C-C pero no O-C-X donde X es O o N. Los grupos A₁ y A₂ pueden estar protegidos adicionalmente cuando se requiera.

20

Las unidades estructurales superficiales preferidas incluyen glutamato y aspartato.

El tipo de unidades estructurales y unidades estructurales superficiales permite la unión de diferentes restos funcionales a la superficie y subsuperficie mediante una serie de maneras. En una realización, donde los motivos dendríticos de la macromolécula incluyen una unidad estructural de lisina o análogo de lisina que tiene un grupo carboxilato o residuo del mismo en el ápice del mismo, unido a dos grupos amina, al menos un grupo amina puede, a su vez, estar unido a un grupo carboxilato o residuo del mismo de una segunda unidad estructural. Cuando la segunda unidad estructural es una unidad estructural superficial que es glutamato o aspartato por ejemplo, y porta dos restos funcionales, uno de esos restos funcionales puede estar unido a través de una amina superficial. Cuando la segunda unidad estructural es una unidad estructural superficial que es lisina o análogo de lisina que tiene dos grupos amina, dos restos funcionales pueden estar unidos a las aminas.

25

30

Además de los restos funcionales unidos a la segunda unidad estructural superficial, un tercer resto funcional puede

estar unido al segundo grupo amina de la unidad estructural de lisina o análogo de lisina, dando como resultado un motivo dendrítico con funcionalización a nivel superficial y subsuperficial.

La presente invención se refiere a macromoléculas que tienen estequiometría y topología de resto funcional controlada y no se describirá con más detalle.

En una realización preferida, las aminas superficiales u otros grupos capaces de reaccionar de las unidades estructurales y/o unidades estructurales superficiales portan un resto funcional A o B, con un par de restos funcionales adyacentes en la misma unidad estructural superficial o unidad estructural, formando un par seleccionado de entre (AA), (BB) y (AB), o cualquier combinación de los mismos.. Cuando hay solamente dos tipos de resto funcional A y B en la misma unidad estructural o unidad estructural superficial, la estequiometría del resto funcional es distinta de 1:1.

Cuando una macromolécula que tiene dos o más restos funcionales diferentes se sintetiza usando procedimientos de funcionalización superficial aleatoria, dos enfoques pueden ser considerados, se requiere por ejemplo una mezcla igual de dos restos funcionales.

En un primer enfoque de la técnica anterior que usa lisina o análogos de lisina como un ejemplo de una unidad estructural superficial, una cantidad subestequiométrica del primer resto funcional activado se usa en un intento de recubrir sólo la mitad de los grupos amina superficie reactiva en la superficie de la macromolécula. El resto de aminas superficiales reactivas pueden hacerse reaccionar a continuación, y en esta segunda reacción, un exceso del segundo resto funcional activado se pueden usar para forzar la reacción hasta su finalización. En este enfoque, hay una distribución estadística de productos que varían en el número de primeros restos funcionales unidos resultantes de la primera etapa de la reacción, y además hay poco o ningún control sobre la topología de los dos restos funcionales diferentes.

En un segundo enfoque de la técnica anterior, ambos restos funcionales activados pueden hacerse reaccionar simultáneamente con los grupos amina superficiales reactivos. En dicho enfoque, puede ser posible ajustar las estequiometrías de cada agente derivatizante superficial para tener en cuenta sus diferentes reactividades, pero aún surgirá variabilidad molécula a molécula debido a que más de un tipo de resto funcional está disponible para reaccionar con los grupos amina superficiales reactivos y, por tanto, el resultado probable de cada reacción puede describirse solamente mediante una distribución estadística, no existe ningún control sobre el resultado topológico de la reacción.

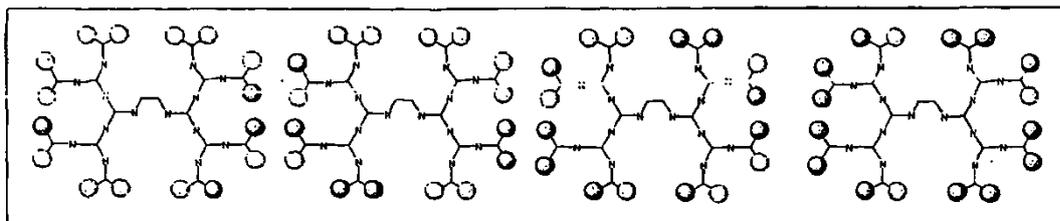
En contraste con los enfoques aleatorios de la técnica anterior, la presente invención se refiere a procedimientos de funcionalización superficial y subsuperficial controlada. Esta diferencia se ilustra más claramente en los conjuntos a continuación.

El conjunto 1 representa una preparación de macromoléculas en las que a cuatro macromoléculas, cada una con 16 grupos terminales capaces de reaccionar, se les ha permitido reaccionar con una mezcla de restos funcionales 32 oscuros y 32 claros. Aunque el resultado es solamente ilustrativo, puede verse que aunque la propiedad "promedio" de cada molécula de la preparación es una estequiometría 1:1 de luz y oscuridad; la probabilidad real de cualquier molécula individual de la preparación que tiene una estequiometría 1:1 se determina mediante estadística.

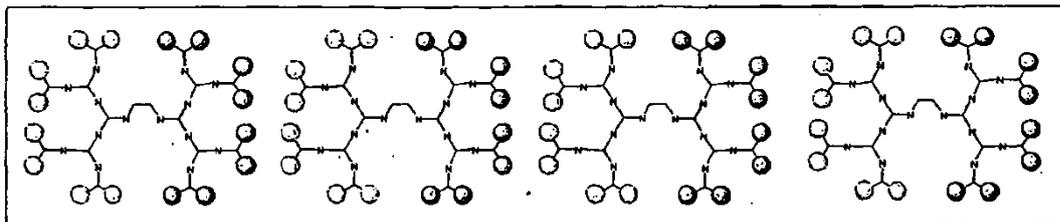
Por comparación, el conjunto 2 representa una preparación de macromoléculas con una estequiometría y topología controladas de restos funcionales ligeros y oscuros, como es el asunto de la presente invención. Puede verse que para esta preparación, cada macromolécula es idéntica.

Conjunto 1: Estequiometría y topología aleatorias

50



Conjunto 2: Control sobre estequiometría y topología



Una composición de macromoléculas se considera "enriquecida" si la abundancia fraccional de macromoléculas con composición especificada de forma precisa de restos funcionales es mayor que la abundancia fraccional en un material funcionalizado en superficie aleatoriamente en un factor de al menos 2 (monodispersidad enriquecida 2 veces) y preferentemente 4 (monodispersidad enriquecida 4 veces). Este enriquecimiento puede ser especificado comparando la composición especificada de forma precisa con una composición de macromoléculas funcionalizada aleatoriamente. Supongamos que este procedimiento aleatorio proporciona una estequiometría de resto funcional particular, en el 5% de las macromoléculas. Entonces el enriquecimiento constituiría un aumento de la macromolécula con una estequiometría de resto funcional particular, por encima de este nivel del 5%. Por ejemplo, un enriquecimiento de dos veces significaría que el 10% de las macromoléculas exhibió la estequiometría de resto funcional particular.

A un nivel extremo de enriquecimiento estequiométrico, cada macromolécula tendrá el mismo número y tipo de restos funcionales. Se considera que un nivel de enriquecimiento más moderado, tal como un enriquecimiento al 20%, significa que el 20% de las macromoléculas tendrán el mismo número y tipo de restos funcionales. Por consiguiente, en una realización de la presente invención, se proporciona una preparación de macromoléculas que tienen al menos un 10% de enriquecimiento en una estequiometría de resto funcional seleccionado. A su vez, en una realización preferida, se proporciona una preparación donde al menos el 80% de las macromoléculas tienen la misma estequiometría de grupo funcional.

El concepto de enriquecimiento se ha ilustrado para restos funcionales, también puede aplicarse a "enriquecimiento topológico", que es el número y el tipo de pares, cuartetos y octetos etc., que se describen en detalle a continuación. Incluso si la conformación general de la superficie de la macromolécula se mantiene, al 100% de enriquecimiento, por ejemplo con un 50% del resto funcional A y un 50% del resto funcional B, no se deduce que hay un 100% de enriquecimiento topológico. Esto es porque los restos funcionales A y B pueden estar agrupados en pares, cuartetos, octetos y 16-tetos en una multitud de maneras. Por consiguiente, en otra realización, se proporciona una preparación de macromoléculas, donde las macromoléculas presentan un mayor enriquecimiento en un isómero topológico seleccionado, donde la topología describe la relación entre un resto funcional y otro en términos de su conexión a las capas superficial y subsuperficial.

Existen muchas consecuencias estereoquímicas y regioquímicas que pueden surgir cuando la secuencia de enlaces carbonilo a amina es asimétrica dentro de una unidad estructural, como es para lisina 1 nativa. Para los fines de la presente invención, dichas consecuencias no serán analizadas. La presente invención identificará la configuración relativa de los diferentes elementos topológicos. El orden de los restos funcionales dentro de un par es entonces, para el presente análisis, redundante. Es decir, (AB) es equivalente a (BA), y esto también es cierto para pares dentro de cuartetos, cuartetos dentro de octetos y octetos dentro de 16-tetos.

El tipo más sencillo de enriquecimiento topológico es enriquecimiento a nivel de pares es decir, dos restos funcionales unidos a la misma unidad estructural superficial o unidad estructural. Una composición de macromoléculas puede estar completamente enriquecida a nivel de restos funcionales, pero no completamente enriquecida a nivel de pares. Esto es porque los mismos grupos funcionales pueden agruparse en pares de una serie de maneras. Por ejemplo en las figuras 3.1 a 3.5, donde A y B representen diferentes restos funcionales, las macromoléculas contienen 16 grupos A y 16 grupos B. Sin embargo, en las figuras 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4 hay ocho pares (AA) y ocho pares (BB), mientras que en la figura 3.5 hay dieciséis pares (AB).

Se considera que un enriquecimiento topológico al 20% significa que el 20% de las macromoléculas tendrá la misma composición (número y tipo) de pares.

Como alternativa, tal como se ha descrito anteriormente en relación con el enriquecimiento estequiométrico, este enriquecimiento puede especificarse comparando la composición enriquecida con una composición de macromoléculas funcionalizada aleatoriamente, a partir de la cual se han seleccionado todas las macromoléculas con la estequiometría de par especificada. Suponiendo que esta selección proporciona una composición particular

de pares a un nivel del 5% del número total de macromoléculas, entonces, un enriquecimiento de dos veces a nivel de pares significaría que un 10% de las macromoléculas tenía la composición de pares requerida. Por consiguiente, en una realización, se proporciona una composición de macromoléculas que tiene al menos un 10% de enriquecimiento en una topología de resto funcional seleccionada.

5

Un orden de enriquecimiento topológico superior es enriquecimiento a nivel de cuartetos.

Una composición de macromoléculas con al menos dos capas de unidades estructurales puede estar completamente enriquecida a nivel de restos funcionales y pares, pero no completamente enriquecida a nivel de cuartetos. Esto es porque los mismos pares pueden agruparse en cuartetos de una multitud de maneras. Por ejemplo en las figuras 3.1 a 3.5 las macromoléculas contienen 16 grupos A y 16 grupos B, sin embargo en la figura 3.1, 3.2 y 3.3 hay cuatro cuartetos ((AA)(AA))⁴ y cuatro cuartetos ((BB)(BB))⁴ mientras que en la figura 3.4 hay ocho ((AA)(BB))⁴ cuartetos y en la figura 3.5 hay ocho cuartetos ((AB)(AB))⁴.

15 Una especificación de orden de enriquecimiento topológico superior requeriría, por tanto, una especificación de enriquecimiento a nivel de cuartetos. Este enriquecimiento puede especificarse de dos maneras, tal como se ha descrito anteriormente, es decir cualquier enriquecimiento al 20% significa que el 20% de las macromoléculas tendrán la misma composición de cuartetos (número y tipo) o enriquecimiento de dos veces a nivel de cuartetos significa que hay dos veces tantas macromoléculas con composición de cuartetos especificada que puede conseguirse a partir de un experimento de funcionalización aleatoria.

20 Por lo tanto, el enriquecimiento tipológico se especifica en términos de una jerarquía de valores de enriquecimiento que corresponderán a enriquecimiento en pares, enriquecimiento en cuartetos, enriquecimiento en octetos, enriquecimiento en 16-tetos, etc. En una realización preferida, se proporciona una macromolécula de acuerdo con la reivindicación 17 donde la macromolécula exhibe enriquecimiento topológico a:

nivel de par;

30 a nivel de cuarteto, donde un par de pares adyacentes forman un cuarteto, teniendo cada cuarteto una línea de conexión a un grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural superficial menos una;

a nivel de octeto, donde un par de cuartetos adyacentes forman un octeto, teniendo cada octeto una línea de conexión a un grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural superficial menos dos; o

35 a nivel de 16-teto, donde un par de octetos adyacentes forman un 16-teto, teniendo cada 16-teto una línea de conexión a un grupo carboxilato del ápice de una unidad estructural superficial menos tres. La jerarquía de valores de enriquecimiento está determinada por el número de capas en la macromolécula. El orden en el que se especifica una macromolécula, es decir a nivel de par, cuarteto, octeto, o 16-teto proporciona un nivel de información acerca de la estructura para diversos motivos de dendrímero. Un par representa un motivo dendrítico mínimo, mientras que un 40 16-teto representa un motivo dendrítico mucho mayor.

Las macromoléculas de la invención puede portar dos o más restos funcionales diferentes en la unidad estructural y/o unidad estructural superficial. Cada resto funcional puede seleccionarse independientemente de entre grupos protectores que incluyen Boc, CBz, 4-nitrobenciloxicarbamato (4-NO₂Nitro-CBz) Fmoc, Dde, CF₃CO₂, 2-halo-CBz, 45 Alloc, Me₃SiEtSO₂, Troc, o-NO₂PhSO₂ y 2,4-dinitrobenceno-sulfonilo y cloruro de *t*-butildimetilsililo, y preferentemente de entre Boc, CBz, 4-NO₂Nitro-CBz, Fmoc 2-halo-CBz, Alloc, Me₃SiEtSO₂, Troc, o-NO₂PhSO₂, 2,4-dinitrobenceno-sulfonilo.

Los restos funcionales también pueden seleccionarse de entre los tipos enumerados en la tabla 1A.

50

Tabla 1A Restos funcionales

Ligandos para receptores extracelulares	Mono y oligosacáridos o análogos de los mismos Ligandos de péptidos o fragmentos o análogos: Quimiocinas o citocinas o motivos de unión, por ejemplo péptido RGD Agonistas o antagonistas de molécula pequeña conocidos, fragmentos de los mismos
Modificadores de propiedades	Grupos hidrófilos: PEG u otros polímeros hidrófilos, cadenas de polihidroxilo, oligosacáridos, grupos arilo o heteroarilo, grupos hidrófobos: grupos alquilo de cadena larga, esteroides, grupos cargados en superficie: grupos con carga negativa a pH ≤ 1, ≤ 3, ≤ 5, ≤ 7, ≤ 9 grupos con carga positiva

	a pH ≤ 1, ≤ 3, ≤ 5, ≤ 7, ≤ 9 etc., grupos que son zwitteriónicos a pH ≤ 1, ≤ 3, ≤ 5, ≤ 7, ≤ 9
Agentes farmacéuticamente activos (véase tabla 1B) unidos por un enlazador escindible	Enlazador escindible: lábil en medio ácido, fotoescindible, lábil reductivamente, escindible enzimáticamente (proteasa, esterasa); Agentes farmacéuticamente activos conjugan para la liberación para facilitar el suministro a través de aumento de la solubilidad, disminución de la toxicidad
Grupos para efectuar direccionamiento	Ligandos a receptores extracelulares; receptores para ligandos extracelulares, por ejemplo, lectinas o anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos; antígeno de superficie celular que reconocen anticuerpos o fragmentos de anticuerpos preparados, ya sea a través de la escisión de anticuerpos completos o a través de sistemas de expresión de proteínas.
Grupos para efectuar señalización	Etiqueta radiactiva, etiqueta de PET, complejo ligando-metal donde el metal es radiactivo, PET activo, MRI activo; etiqueta fluorescente; etiquetas que son quiescentes pero emiten señales tras la activación (escisión, reacción química, excitación a través de irradiación)
Material antigénico	Epítipo de péptido o glucopéptido o carbohidrato conocido, o proteína que comprende un epítipo conocido.
Material genético	Secuencia de ADN o ARN
Grupo para mediar en la unión a una segunda entidad	Socios conocidos en las interacciones ligando-receptor de alta afinidad, tales como biotina-estreptavidina, digoxina-anticuerpo, motivos de unión níquel-histidina, ADN, ARN o PNA monocatenario complementario

Cuando el resto funcional es un agente farmacéuticamente activo, un derivado del mismo, o un precursor del mismo, el agente farmacéuticamente activo puede ser ejemplificado por, aunque sin limitarse a uno o más seleccionados de entre los grupos de la Tabla 1B:

5

Tabla 1B Agentes farmacéuticamente activos

Preparaciones de acetonemia	Agentes anabólicos
Anestésicos	Analgésicos
Agentes anti-ácido	Agentes anti-artríticos
Anticuerpos	Anti-convulsivos
Anti-fúngicos	Anti-histaminas
Anti-infecciosos	Anti-inflamatorios
Anti-metabolitos	Anti-microbianos
Anti-mitóticos	Agentes anti-parasitarios
Anti-protozoos	Agentes anti-úlceras
Productos farmacéuticos antivirales	Fármacos de modificación del comportamiento
Productos biológicos	Sangre y sustitutos de sangre
Broncodilatadores y expectorantes	Terapia contra el cáncer y productos farmacéuticos relacionados
Productos farmacéuticos cardiovasculares	Productos farmacéuticos para el sistema nervioso central
Agentes de contraste	Anticonceptivos
Diuréticos	Terapias para diabetes
Hormonas del crecimiento	Productos farmacéuticos para fertilidad
Hematínicos	Promotores del crecimiento
Terapias de reemplazo hormonal	Hemostáticos
Inmunosupresores	Inmunoestimulantes
Hormonas y análogos	Relajantes musculares
Minerales	Productos naturales
Nutraceuticos y nutricionales	Productos terapéuticos para obesidad
Productos farmacéuticos oftálmicos	Fármacos para osteoporosis
Productos terapéuticos contra el	Péptidos y polipéptidos

dolor	
Proteínas	Productos farmacéuticos respiratorios
Sedantes y tranquilizantes	Productos de trasplante
Acidificantes urinarios	Vacunas y adyuvantes
Vitaminas	

La presente invención es particularmente apropiada para agentes farmacéuticamente activos que son muy activos incluso en cantidades extremadamente pequeñas y cuya administración sostenida a largo plazo se busca, en particular para superar los problemas de toxicidad con dosis estándar.

5

En una realización preferida, los restos funcionales se seleccionan independientemente de entre grupos funcionales tales como los enumerados en la tabla 1A y 1 B y grupos funcionales que son grupos protectores. La relación estequiométrica entre un tipo de resto funcional y todos los demás restos funcionales es de aproximadamente 1:1 o 1:2 o 1:3 o 1:4 o 1:5 o 1:6 o 1:7 o 1:8 o 1:9 1:10 o 1:16, más preferentemente 1:1 o 1:3 o 1:7. A su vez, la relación estequiométrica entre un par seleccionado respecto todos los demás pares, un cuarteto seleccionado respecto a todos los demás cuartetos, y un octeto seleccionado respecto a todos los demás octetos, y un 16-teto seleccionado respecto a todos los demás 16-tetos es de aproximadamente 1:1 o 1:2 o 1:3 o 1:4 o 1:5 o 1:6 o 1:7 o 1:8 o 1:9 1:10 o 1:16, más preferentemente 1:1 o 1:3 o 1:7.

10

15 En muchos casos de interés práctico, la configuración relativa de los diferentes grupos funcionales y su patrón de conectividad (carácter isomérico topológico) es de principal interés. El carácter isomérico topológico de una macromolécula o motivo dendrítico puede mostrarse fácilmente a partir de representaciones planas del motivo cuando las unidades estructurales son todas simétricas. Con esto se entiende que las unidades estructurales son tratadas como si la ruta de enlace desde el ápice a cada amina capaz de reaccionar es idéntica, como se ejemplifica en la figura 4.

20

Es posible hacer girar 180° el enlace químico que une una amina no superficial con el grupo carboxilato del ápice de la unidad estructural unida. Las macromoléculas o motivo dendrítico, que contienen este componente de motivo dendrítico girado también encajará en el mismo plano de representación. Después de la rotación, la macromolécula o motivo dendrítico puede parecer diferente debido a la ubicación de restos funcionales en la superficie del motivo son diferentes unos con respecto a otros, como para F4.1, F4.2 y F4.3 en la figura 4. Con el fin de comprobar si dos representaciones planares aparentemente diferentes de una macromolécula o motivo dendrítico representan realmente lo mismo, la representación planar de la primera macromolécula o motivo dendrítico debe tomarse como referencia y todas las rotaciones de 180° grados permisibles llevarse a cabo dentro de la representación plana de la segunda macromolécula o motivo dendrítico para formar un conjunto de rotación. Si la primera representación planar está contenida en el conjunto de rotación del segundo, los dos motivos dendríticos son iguales.

25

30

Con el fin de facilitar la descripción de las realizaciones, se ha introducido una nomenclatura de topológica alfanumérica de pares, cuartetos, octetos y más allá. En particular, la nomenclatura hace posible la identificación de los cuartetos, octetos y 16-tetos preferidos que son componentes de las macromoléculas y que son una realización preferida de esta invención.

35

Debe entenderse que esta nomenclatura alfanumérica es una transcripción de una de muchas potenciales representaciones bidimensionales planares de un isómero topológico particular. Antes de que una representación planar se transcriba a la nomenclatura topológica, debe posicionarse en una página de modo que una línea sin obstaculizar pueda ser trazada desde fuera de la representación planar para encontrarse con la secuencia de enlaces más corta que une dos grupos amina capaces de reaccionar del núcleo. esto se demuestra mediante el ejemplo en la figura 1.1: leyendo en el sentido de las agujas del reloj desde la línea vertical los restos funcionales son AAAABBBBAAAABBBB. Si el núcleo es monovalente o macroscópico, o si un motivo dendrítico está siendo transcrito, entonces esta línea debe encontrarse con la secuencia de enlaces más corta que une los dos grupos amina capaces de reaccionar de la primera unidad estructural, es decir, esa unidad estructural con el grupo carboxilato del ápice (F) se demuestra mediante el ejemplo en las figuras 1.3: leyendo en el sentido de las agujas del reloj desde la línea, los restos funcionales son AAAABBBB. En aquellas circunstancias donde un motivo dendrítico se describe, el carboxilato del ápice se representa como, a menudo es útil incluir esta característica en la nomenclatura alfanumérica, y esto se realiza como un prefijo F como en la figura 1.3; donde F representa el resto funcional químico en el ápice.

40

45

50

En el caso de que una o más de las unidades estructurales es asimétrica, por ejemplo en términos de la secuencia de enlaces desde el ápice de la unidad estructural hasta las aminas de la unidad estructural capaces de reacción adicional, o en términos de la presencia de quiralidad, la descripción del motivo dendrítico como un isómero

55

topológico puede determinarse representando cada unidad estructural como una unidad simétrica en el diagrama (incluso aunque no lo sea), y a continuación comprobando para ver si una representación está contenida en el conjunto de rotación de la otra. Un ejemplo de este enfoque se demuestra en la figura 4 para F4.4, se simetriza a F4.1 antes del análisis de rotación del enlace. Aunque existen muchas consecuencias estereoquímicas y regioquímicas que pueden surgir cuando la secuencia de enlaces carboxilato a amina es asimétrica dentro de una unidad estructural, como es para lisina 1 nativa. Dichas consecuencias se analizarán a continuación para los fines de la presente invención. La presente invención identificará la configuración relativa de los diferentes elementos topológicos. El orden de los restos funcionales dentro de un par es entonces, para el presente análisis, redundante. Es decir, (AB) es equivalente a (BA), y esto también es cierto para pares dentro de cuartetos, cuartetos dentro de octetos y octetos dentro de 16-tetos.

El número total de restos funcionales en una macromolécula o motivo dendrítico puede representarse mediante FM_{Total} . La composición de restos funcionales de una macromolécula o motivo dendrítico, donde todas las aminas superficiales y/o grupos de unidades estructurales superficiales están unidas a restos funcionales, puede proporcionarse en una fórmula de forma $\sum FM_i = FM_{Total}$ donde la superficie de la macromolécula o motivo dendrítico tiene una cantidad integral FM_i de restos funcionales de tipo i. Se considera la figura 3 que proporciona diagramas esquemáticos de cinco isómeros topológicos diferentes de macromoléculas que tienen la misma FM_{Total} y tienen, además, el mismo número igual de dos restos funcionales A y B. para estos sistemas, $FM_A = FM_B = 16$ y $\sum FM_i = (FM_A + FM_B) = 32$. Sin embargo, es importante observar que cada uno de estos ejemplos tiene una topología superficial diferente y el propósito de la nomenclatura topológica alfanumérica es identificar y distinguir entre estos isómeros topológicos incluso donde el número y el tipo de restos funcionales de una macromolécula o motivo dendrítico es el mismo.

En una realización, dos restos funcionales diferentes A y B están unidos a la misma unidad estructural superficial. En la nomenclatura topológica alfanumérica de esta invención, los restos funcionales unidos a una unidad estructural superficial particular se representan dentro de una única capa de paréntesis, y pueden describirse en términos de pares. Son pares preferidos (AA), (BB) y (AB) y cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, (AA) representaría que el resto funcional A y un segundo resto funcional A están unidos a la misma unidad estructural superficial. Esta conectividad se demuestra en la figura 2.1. Las macromoléculas de la figura 3 se representan usando pares en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 2

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
3.1	(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA) y 8 pares (BB)
3.2	(AA)(AA)(AA)(AA)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA) y 8 pares (BB)
3.3	(AA)(AA)(BB)(BB)(AA)(AA)(BB)(BB)(BB)(BB)(AA)(AA)(BB)(BB)(AA)(AA)	8 pares (AA) y 8 pares (BB)
3.4	(AA)(BB)(AA)(BB)(AA)(BB)(AA)(BB)(BB)(AA)(BB)(AA)(BB)(AA)(BB)(AA)	8 pares (AA) y 8 pares (BB)
3.5	(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)(AB)	16 pares (AB)

A continuación es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de pares. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 3 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 2.

La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales A y B también puede describirse en términos de pares y cuartetos. Por ejemplo, en la nomenclatura topológica alfanumérica, un cuarteto de forma $((AA)(AA))^4$ se usa para representar cuatro restos funcionales A,A,A,A que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a una unidad estructural superficial menos una. Esta conectividad se demuestra mediante la figura F2.2. Una descripción de la topología de una macromolécula o motivo dendrítico en términos de cuartetos puede proporcionar información estructural acerca de las líneas de conectividad entre los restos funcionales y las unidades estructurales superficiales menos una a las que están unidos.

Las macromoléculas de la figura 3 se representan usando cuartetos en la nomenclatura topológica alfanumérica de

la siguiente manera:

Tabla 3A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
3.1	$((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	4 cuartetos $((AA)(AA))^4$ y 4 cuartetos $((BB)(BB))^4$
3.2	$((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	4 cuartetos $((AA)(AA))^4$ y 4 cuartetos $((BB)(BB))^4$
3.3	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4$	4 cuartetos $((AA)(AA))^4$ y 4 cuartetos $((BB)(BB))^4$
3.4	$((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4$ $((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4$	8 cuartetos $((AA)(BB))^4$
3.5	$((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$ $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$	8 cuartetos $((AB)(AB))^4$

5 A continuación es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de cuartetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 3 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 3A.

Cuando un cuarteto se va a ensamblar a partir de dos restos funcionales, representados mediante A y B esto puede realizarse usando los pares preferidos (AA), (AB) y (BB). La composición preferida de los cuartetos puede ser de la

10 forma:

Tabla 3B

Relación	Tipo de cuarteto	Cuarteto equivalente
Homogénea	$((AA)(AA))^4$	$((BB)(BB))^4$
3:1	$((AA)(AB))^4$	$((AB)(BB))^4$
1:1	$((AB)(AB))^4$; $((AA)(BB))^4$	

15 En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un cuarteto seleccionado de entre la tabla 3B, incluyendo aquellos cuartetos que pueden considerarse equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos restos funcionales diferentes.

20 La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales A y B también puede describirse en términos de pares, cuartetos y octetos. Por ejemplo en la nomenclatura topológica alfanumérica un octeto de la forma: $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ se usa para representar ocho restos funcionales A,A,A,A,A,A,A,A que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, de hecho a una unidad estructural superficial menos dos. Esta conectividad se demuestra mediante la figura F2.3. Una descripción de la topología de una macromolécula o motivo dendrítico en términos de octetos puede proporcionar información estructural acerca de las líneas de conectividad entre los restos funcionales y las unidades estructurales superficiales menos dos a las que están

25 unidos.
Las macromoléculas de la figura 3 se representan usando octetos en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

30

Tabla 4A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
3.1	$((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4$ y 2 octetos $((BB)(BB))^4$
3.2	$((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4$ y 2 octetos $((BB)(BB))^4$
3.3	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4$	4 octetos $((AA)(AA))^4$ y 4 octetos $((BB)(BB))^4$

3.4	$((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4((AA)(BB))^8((AA)(BB))^4$ $((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4$	4 octetos $((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4$
3.5	$((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$ $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$	4 octetos $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$

A continuación es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de octetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 3 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 4A.

5

Cuando un octeto se va a ensamblar a partir de dos restos funcionales, representados mediante A y B esto puede realizarse usando los cuartetos preferidos de la tabla 3B. La composición preferida de octetos puede ser de la forma:

Tabla 4B

Relación	Tipo de octeto	Octeto equivalente
homogénea	$((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	$((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$
7:1	$((AA)(AA))^4((AA)(AB))^4$	$((BB)(BB))^4((BB)(AB))^4$
6:2	$((AA)(AA))^4((AA)(BB))^4$ $((AA)(AA))^4((AB)(AB))^4$ $((AA)(AB))^4((AA)(AB))^4$	$((BB)(BB))^4((BB)(AA))^4$ $((BB)(BB))^4((AB)(AB))^4$ $((BB)(BA))^4((BB)(AB))^4$
5:3	$((AA)(AB))^4((AA)(BB))^4$ $((AA)(AB))^4((AA)(BB))^4$ $((AA)(AB))^4((AB)(AB))^4$	$((BB)(BB))^4((AA)(AB))^4$ $((BB)(AB))^4((AA)(BB))^4$ $((BB)(AB))^4((AB)(AB))^4$
4:4 (1:1)	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(AB))^4((AB)(BB))^4$ $((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4$ $((AA)(BB))^4((AB)(AB))^4$ $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$	

10

En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un octeto seleccionado de entre la tabla 4D, incluyendo aquellos octetos que pueden considerarse equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos restos funcionales diferentes.

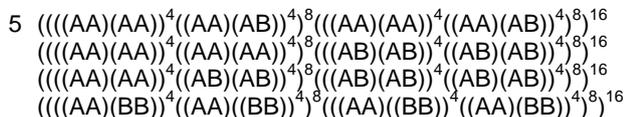
- 15 La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales A y B también puede describirse en términos de pares, cuartetos, octetos y 16-tetos. Por ejemplo en la nomenclatura topológica alfanumérica un 16-teto de la forma: $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ se usa para representar dieciséis restos funcionales de tipo A que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, de hecho a una unidad estructural superficial menos tres. Esta conectividad se demuestra mediante la figura F2.4. Una descripción de la topología de una macromolécula o motivo dendrítico en términos de 16-tetos puede proporcionar información estructural acerca de las líneas de conectividad entre los restos funcionales y las unidades estructurales superficiales menos tres a las que están unidos.
- 20

Las macromoléculas de la figura 3 se representan usando 16-tetos en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 5A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica
3.1	$((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$
3.2	$((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$
3.3	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4$
3.4	$((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4$ $((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4$
3.5	$((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$ $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$

Cuando un 16-teto se va a ensamblar a partir de dos restos funcionales, representados mediante A y B esto puede realizarse usando los pares, cuartetos y octetos preferidos. La composición preferida de q6-tetos puede ser de la forma:



10 En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un 16-teto.

En otra realización, los restos funcionales unidos a las unidades estructurales superficiales de una macromolécula o motivo dendrítico se seleccionan de entre A, B y D. Se considera la figura 5 que proporciona diagramas

15 esquemáticos de cinco isómeros topológicos diferentes de macromoléculas con la misma relación, 2:1:1, de tres restos funcionales A, B y D. Además, estas macromoléculas tiene la misma FM_{Total} y el mismo número de tres restos funcionales A, B y D, representados mediante $FM_A = 16$, $FM_B = 8$, $FM_D = 8$, que proporcionan una descripción de las macromoléculas en la forma: $\sum FM_i = (FM_A + FM_B + FM_D) = 16A + 8B + 8D = 32$. Sin embargo, es importante observar que
20 alfanumérica es identificar y distinguir entre estos isómeros topológicos donde el número/tipo de restos funcionales de una macromolécula o motivo dendrítico es el mismo.

Cuando tres restos funcionales diferentes A, B y D están unidos a las unidades estructurales superficiales de una macromolécula o motivo dendrítico, pares preferidos se seleccionan de entre (AA), (BB), (DD), (AB), (AD) y (BD), y

25 combinaciones de los mismos.

Las macromoléculas de la figura 5 se representan usando pares en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

30

Tabla 6

Fig	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
5.1	(BB)(BB)(BB)(BB)(DD)(DD)(DD)(DD)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA), 4 (BB) y 4 (DD)
5.2	(BB)(BB)(DD)(DD)(BB)(BB)(DD)(DD)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA), 4 (BB) y 4 (DD)
5.3	(BB)(DD)(BB)(DD)(BB)(DD)(BB)(DD)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA), 4 (BB) y 4 (DD)
5.4	(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA) y 4 pares (BD)
5.5	(AA)(AA)(AA)(AA)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(BD)(AA)(AA)(AA)(AA)	8 pares (AA) y 4 pares (BD)

A continuación es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de pares que contienen restos funcionales seleccionados de entre A, B y D. esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 5 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 6.

35

La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales A, B y D también puede describirse en términos de pares y cuartetos. Por ejemplo, en la nomenclatura topológica alfanumérica, un cuarteto de forma $((AA)(BD))^4$ se usa para representar cuatro restos funcionales A,A,B,D que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a una unidad estructural superficial menos una.

40

Las macromoléculas de la figura 5 se representan usando cuartetos en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 7A

Fig	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
5.1	$((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4((DD)(DD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 cuartetos ((BB)(BB)) y 2 ((DD)(DD)); 4 cuartetos ((AA)(AA))
5.2	$((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(BB))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 cuartetos ((BB)(BB)) y 2 ((DD)(DD)); 4 cuartetos ((AA)(AA))
5.3	$((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	4 cuartetos ((BB)(DD)); 4 cuartetos ((AA)(AA))
5.4	$((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	4 cuartetos ((BD)(BD)) 4 cuartetos ((AA)(AA))
5.5	$((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4$ $((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	4 cuartetos ((BD)(BD)) 4 cuartetos ((AA)(AA))

También es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de cuartetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 5 y se resume en la columna "composición" de la tabla 7.

Cuando un cuarteto se va a ensamblar a partir de tres restos funcionales, representados mediante A, B y D esto puede realizarse usando pares preferidos. La composición preferida de cuartetos adicionales a los de la tabla 3B puede ser de la forma:

10

Tabla 7B

Relación	Tipo de cuarteto	Cuarteto equivalente
2:1:1	$((AA)(BD))^4$	$((BB)(AD))^4 ((DD)(AB))^4$
2:1:1	$((AB)(AD))^4$	$((BD)(AB))^4 ((BD)(AD))^4$

En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un cuarteto seleccionado de entre la tabla 3B o 7B, incluyendo aquellos cuartetos que pueden considerarse equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos o tres restos funcionales diferentes.

15

La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales A, B y D también puede describirse en términos de pares, cuartetos y octetos. Por ejemplo, en la nomenclatura topológica alfanumérica, un octeto de forma $((AA)(AA))^4((BB)(DD))^4$ se usa para representar ocho restos funcionales A,A,A,AB,B,D,D que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a una unidad estructural superficial menos dos.

20

Las macromoléculas de la figura 5 se representan usando octetos en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

25

Tabla 8A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
5.1	$((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4((DD)(DD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ 1 octeto $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ 1 octeto $((DD)(DD))^4((DD)(DD))^4$
5.2	$((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ 2 octetos $((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4$
5.3	$((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ 2 octetos $((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4$
5.4	$((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4$ $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ 2 octetos

		octetos (((BD)(BD)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸
5.5	(((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁸ ((BD)(BD)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸ (((BD)(BD)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸ ((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁸	2 octetos (((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁶ 2 octetos (((BD)(BD)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸

A continuación es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de octetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 5 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 8A. Cuando un octeto se va a ensamblar a partir de tres restos funcionales, 5 representados mediante A, B y D esto puede realizarse usando los cuartetos preferidos de la tabla 3B o 7B. La composición preferida de octetos adicionales a los de la tabla 4B puede ser de la forma:

Tabla 8B

Relación	Tipo de octeto	Ejemplos de octetos equivalentes
homogénea	(((DD)(DD)) ⁴ ((DD)(DD)) ⁴) ⁸	
6:1:1	(((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((AB)(AD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((AA)(AD)) ⁴) ⁹	(((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(AD)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((AB)(BD)) ⁴) ⁸ (((BB)(AB)) ⁴ ((BB)(BD)) ⁴) ⁸
5:2:1	(((AA)(AA)) ⁴ ((AD)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((AB)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((AA)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(AD)) ⁴) ⁸	(((BB)(BB)) ⁴ ((BD)(AA)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((AB)(AD)) ⁴) ⁸ (((BB)(AB)) ⁴ ((BB)(AD)) ⁴) ⁸ (((BB)(AB)) ⁴ ((AB)(BD)) ⁴) ⁸
4:3:1	(((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AD)) ⁴ ((BB)(BA)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((BB)(AD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BD)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(BD)) ⁴ ((AE)(AB)) ⁴) ⁸ (((AB)(AD)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸ (((AB)(AD)) ⁴ ((AB)(AB)) ⁴) ⁸	(((AA)(AB)) ⁴ ((DD)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AD)) ⁴ ((BD)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BD)) ⁴ ((AD)(DD)) ⁴) ⁸ (((AD)(BD)) ⁴ ((AD)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(DD)) ⁴ ((AB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(DD)) ⁴ ((AD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AD)(AD)) ⁴ ((AB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AD)(AD)) ⁴ ((AD)(BD)) ⁴) ⁸
4:2:2	(((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((AD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AD)(AD)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AA)(DD)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AD)(AD)) ⁴) ⁸	(((BB)(BB)) ⁴ ((AA)(DD)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((AD)(AD)) ⁴) ⁸ (((BB)(AB)) ⁴ ((AB)(DD)) ⁴) ⁸ (((BB)(AB)) ⁴ ((AD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((BB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((BB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AD)(AD)) ⁴) ⁸
3:3:2	(((AA)(AB)) ⁴ ((BB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(AB)) ⁴ ((BD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AD)(BD)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(DD)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AD)(BD)) ⁴) ⁸	(((BB)(AB)) ⁴ ((AA)(DD)) ⁴) ⁸ (((BB)(AB)) ⁴ ((AD)(AD)) ⁴) ⁸ (((AA)(DD)) ⁴ ((AD)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(DD)) ⁴ ((AB)(BD)) ⁴) ⁸ (((AD)(AD)) ⁴ ((AD)(BB)) ⁴) ⁸ (((AD)(AD)) ⁴ ((AB)(BD)) ⁴) ⁸

10 En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un octeto seleccionado de entre la tabla 4B u 8B, incluyendo aquellos octetos que pueden considerarse equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos o tres restos funcionales diferentes.

La topología superficial de una macromolécula o motivo dendrítico que porta restos funcionales A,B y D también puede describirse en términos de pares, cuartetos, octetos y 16-tetos. Por ejemplo, en la nomenclatura topológica alfanumérica, un 16-teto de forma (((AA)(AA))⁴((AA)(AA))⁴)⁸((BB)(DD))⁴((BB)(DD))⁴)⁸ se usa para representar los dieciséis restos funcionales de tipo A que tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural de generación, de hecho a una unidad estructural superficial menos tres.

20 Las macromoléculas de la figura 5 se representan usando 16-tetos en la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 9A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica
5.1	$(((((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4)^8(((DD)(DD))^4((DD)(DD))^4)^8)^{16})$ $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$
5.2	$(((((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4)^8(((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4)^8)^{16})$ $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$
5.3	$(((((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4)^8(((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4)^8)^{16})$ $(((((AA)(AA))^4((AA)(A))^4)^8(((A)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$
5.4	$(((((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8(((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8)^{16})$ $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$
5.5	$(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8)^{16})$ $(((((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$

donde:

- 5 • hay un 16-teto $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$ y uno $(((((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4)^8(((DD)(DD))^4((DD)(DD))^4)^8)^{16})$ en la **figura 5.1**;
 • hay un 16-teto $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$ y uno $(((((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4)^8(((BB)(BB))^4((DD)(DD))^4)^8)^{16})$ en la **figura 5.2**;
 10 • hay un 16-teto $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$ y uno $(((((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4)^8(((BB)(DD))^4((BB)(DD))^4)^8)^{16})$ en la **figura 5.3**;
 • hay un 16-teto $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8)^{16})$ y no $(((((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8(((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8)^{16})$ en la **figura 5.4**; y
 • hay dos $(((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4)^8)^{16})$ 16-tetos en la **figura 5.5**.
- 15 A continuación es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención en términos de la composición (número y tipo) de 16-tetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 5 y se resumen en forma de puntos anteriormente.
- Cuando un 16-teto se va a ensamblar a partir de tres restos funcionales, representados mediante A, B y D esto
 20 puede realizarse usando los pares, cuartetos y octetos preferidos.

En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un 16-teto.

25 Enlazadores

Puede ser deseable alterar la composición y/o topología superficial de una macromolécula o proporcionar una propiedad adicional a un resto funcional o macromolécula por medio de los medios por los que el resto funcional está unido a la amina superficial o unidad estructural superficial. Esto puede conseguirse mediante introduciendo
 30 enlazadores en el motivo dendrítico. Por consiguiente, las macromoléculas de la presente invención, tal como se describe en el presente documento, pueden incluir restos funcionales opcionalmente unidos a las capas superficiales o subsuperficiales a través de enlazadores.

Pueden incorporarse restos enlazadores a la síntesis de un motivo dendrítico mediante sustitución de una unidad
 35 estructural. Un resto enlazador comprende dos grupos reactivos, F e Y, que están conectados mediante uno o más carbonos o heteroátomos, preferentemente mediante una cadena principal de hidrocarburo. El grupo funcional F puede activarse para reaccionar con restos amina reactivos tales como aquellos en un núcleo o motivo dendrítico. Normalmente, el grupo funcional F es un grupo carboxilato o residuo del mismo. El otro grupo funcional, Y, puede ser una amina que porta un grupo protector, o se selecciona de modo que tenga una reactividad específica que es
 40 complementaria a un grupo reactivo de un resto funcional deseado que se unirá a la superficie de un motivo dendrítico. Ejemplos típicos de Y incluyen amina, carboxilato, amina, hidroxilo, tiol, haluro de alquilo, haluro de alilo, haluro de heteroarilo, haluro de arilo, haluro de vinilo, epóxido, azida de aziridina, alqueno o alquino..

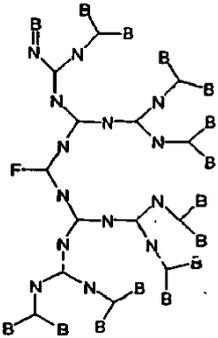
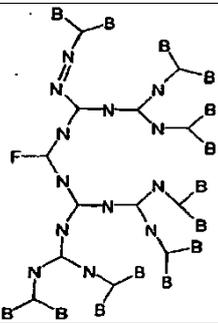
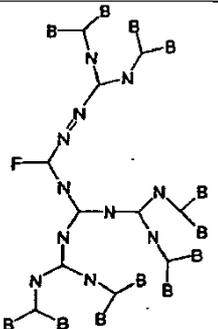
Cuando se incorporan restos enlazadores en un motivo dendrítico, y el grupo Y está destinado para reacción
 45 adicional con una unidad estructural, entonces el grupo Y es una amina protegida. Cuando se usan restos enlazadores para conectar restos funcionales a las unidades estructurales superficiales o unidades estructurales de motivos dendríticos, la reacción entre el enlazador y el resto funcional puede llevarse a cabo antes, o después, de que el resto enlazador se haga reaccionar con la unidad estructural superficial o unidad estructural del motivo dendrítico.

Los enlazadores por definición mantienen pero no amplifican el número de grupos amina superficial de una macromolécula o motivo dendrítico. La composición y topología superficiales de una macromolécula que incluye una capa completa de enlazadores, unidos a los grupos amina superficial o a los grupos amina de una unidad estructural 5 subsuperficial, es equivalente a una macromolécula o motivo dendrítico que carece de esta capa completa de enlazadores.

El número de restos funcionales en la superficie de una macromolécula o motivo dendrítico se reduce cuando una unidad estructural es sustituida por un enlazador.

10

Por ejemplo:

Descripción de estructura	Estequiometría superficial resultante
El enlazador sustituye a una unidad estructural superficial:	1 resto funcional en par afectado
	3 restos funcionales en cuarteto afectado
	7 restos funcionales en octeto afectado
	15 restos funcionales en 16-teto afectado
El enlazador sustituye a una unidad estructural superficial menos una:	2 restos funcionales, cuarteto afectado
	6 restos funcionales en octeto afectado
	14 restos funcionales en 16-teto afectado
El enlazador sustituye a una unidad estructural superficial menos dos:	4 restos funcionales en octeto afectado
	12 restos funcionales en 16-teto afectado

La incorporación de enlazadores se describe con más detalle a continuación.

5 Cuando se incorporan restos enlazadores en una macromolécula o motivo dendrítico, y el grupo Y está destinado para reacción adicional con una unidad estructural, entonces el grupo Y es una amina protegida. Una vez que se ha añadido un enlazador a una macromolécula o motivo dendrítico, el grupo amina capaz de reaccionar del enlazador sirve para el mismo fin que un grupo amina superficial y se define como tal. Cuando se usan restos enlazadores para conectar restos funcionales a los grupos amina superficial y/o unidades estructurales superficiales de macromoléculas o motivos dendríticos, la reacción entre el enlazador y el resto funcional puede llevarse a cabo antes, o después, de que el resto enlazador se haga reaccionar con las unidades estructurales superficiales o unidades estructurales del motivo dendrítico.

15 Una reacción que se usa para introducir uno o más restos enlazadores en un motivo dendrítico se lleva a cabo para garantizar la reacción completa de todas las aminas superficiales desprotegidas de una macromolécula o motivo dendrítico con los restos enlazadores. Habitualmente esto se realiza usando un exceso del resto enlazador seleccionado.

20 El número total de restos funcionales en una macromolécula o motivo dendrítico en el que se han usado enlazadores puede representarse mediante FM_{Total} . La composición de restos funcionales de una macromolécula o motivo dendrítico, donde todos los grupos amina superficial y/o unidades estructurales superficiales están unidos a restos funcionales, también puede proporcionarse en términos de FM_{Total} en una fórmula de la forma $\sum FM_i = FM_{total}$ donde la superficie de la macromolécula o motivo dendrítico tiene una cantidad integral FM_i de restos funcionales de tipo i: ($FM_i = FM_A, FM_B, \dots, FM_Z$). Se considera la figura 7 que proporciona diagramas esquemáticos de cinco isómeros topológicos diferentes de macromoléculas donde se han usado enlazadores en diversas fases en la síntesis de macromoléculas. Cada una de estas macromoléculas puede describirse mediante una fórmula $\sum FM_i = FM_{total}$, por ejemplo $\sum FM_i = (8A + 16B + 4D) = 28$ para la Fig 7.1; $\sum FM_i = (8A + 16B) = 24$ para la Fig 7.2; $\sum FM_i = (8A + 8B + 8D) = 24$ para la Fig 7.3; $\sum FM_i = (12A + 8B + 4D) = 24$ para la Fig 7.4 y $\sum FM_i = (8A + 8B) = 16$ para la figura 7.5.

30 La nomenclatura topológica alfanumérica de pares, cuartetos, octetos y más allá es capaz de proporcionar una descripción de la composición de restos funcionales además de la topología de macromoléculas y motivos dendríticos en los que se han usado enlazadores haciendo uso del máximo número de restos funcionales FM_{MAX} además de utilizar el símbolo valor nulo 0. Los grupos de valor nulo también pueden usarse en descripciones de "trabajo en curso" intermedios o macromoléculas o motivos dendríticos crecientes, que tienen una capa superficial incompleta de unidades estructurales debido a unidades estructurales subsuperficiales que aún no se han hecho reaccionar (tal como se ilustra en los ejemplos). El uso de símbolos de valor nulo mantiene la integridad del FM_{MAX} externo.

40 El término FM_{MAX} se usa para representar el número de restos funcionales que estarían presentes en una macromolécula o motivo dendrítico en un escenario donde la capa de unidades estructurales superficiales está completa y no se han sustituido unidades estructurales por enlazadores en la preparación de las mismas, y puede calcularse usando la fórmula:

$$FM_{MAX} = N_{Núcleo} \times N_{Unidad Estructural Primaria} \times \dots \times FM_{Unidad Estructural Superficial}$$

45 donde:

$N_{Núcleo}$ es el número de aminas capaces de reaccionar en el núcleo al que podrían unirse unidades estructurales (este valor se borra cuando se calcula FM_{MAX} para motivos dendríticos);

50 $N_{primera\ unidad\ estructural}$ es el número de aminas capaces de reaccionar en la unidad estructural usada en la primera capa desde el núcleo (cuando se calcula FM_{MAX} para un motivo dendrítico, $N_{primera\ unidad\ estructural}$ es esa unidad estructural con el carboxilato del ápice);

$FM_{unidad\ estructural\ superficial}$ es el número de aminas capaces de reaccionar en la unidad estructural superficial usada en la preparación de la macromolécula o motivo dendrítico;

55 En un ejemplo de un cálculo de FM_{MAX} para un motivo dendrítico, se considera que la lisina tiene dos aminas capaces de reaccionar y esto, por tanto, desde el carboxilato del ápice, un motivo con dos capas adicionales de lisina tendría un FM_{MAX} de $2 \times 2 \times 2 = 8$.

60 En un segundo ejemplo de un cálculo de FM_{MAX} para una macromolécula, se considera la figura 7.1 que es una macromolécula que comprende 4 capas de lisina, cada una con dos grupos amina capaz de reaccionar a partir de un núcleo con dos grupos amina capaz de reaccionar. El FM_{MAX} para esta macromolécula es, por tanto, $2 \times 2 \times 2 \times 2$

x 2 = 32.

Las diferencias identificables entre motivos dendríticos que están enriquecidos con respecto a composición superficial y en los que se han usado enlazadores, pueden describirse utilizando el símbolo valor nulo \emptyset en concierto con el conocimiento del número máximo de restos funcionales FM_{MAX} . Los símbolos de valor nulo y su inclusión en la nomenclatura topológica alfanumérica hacen posible describir la conectividad entre los restos funcionales y las capas subsuperficiales de unidades estructurales cuando se han sustituido unidades estructurales por enlazadores. El uso del símbolo de valor nulo \emptyset en las descripciones topológicas alfanuméricas de macromoléculas o motivos dendríticos que incluyen enlazadores se demuestra por ejemplo, usando los diagramas esquemáticos de las figuras 6 y 7.

Los ejemplos de la figura 7 se incluyen para demostrar cómo la nomenclatura topológica alfanumérica puede utilizarse para proporcionar una descripción de macromoléculas que incluyen enlazadores que tienen una topología superficial definida, además de una composición definida de restos funcionales. En particular, la nomenclatura hace posible la identificación de los pares, cuartetos, octetos y 16-tetos preferidos que son componentes de las macromoléculas y que son una realización preferida de esta invención.

El uso de símbolos de valor nulo permite que conceptos tales como dobletes, cuartetos, octetos y 16-tetos se retengan en la nomenclatura topológica alfanumérica cuando se usan restos funcionales de detención en el extremo (véase a continuación) o enlazadores en la síntesis de un motivo dendrítico. Los símbolos de valor nulo y su inclusión en la nomenclatura topológica describen esa parte de un motivo dendrítico que se ha perdido como resultado de sustituir unidades estructurales con enlazadores o restos de detención en el extremo en reacciones de detención en el extremo.

Se considera la figura 6.1 que representa una macromolécula que comprende 4 capas de unidades estructurales cada una con dos grupos amina capaz de reaccionar a partir de un núcleo con dos grupos amina capaz de reaccionar. El FM_{MAX} para esta macromolécula es, por tanto, $2 \times 2 \times 2 \times 2 \times 2 = 32$. En aquellas circunstancias donde se usan enlazadores solamente para unir restos funcionales a las unidades estructurales superficiales, $FM_{MAX} = FM_{Total}$. No existe ningún requisito del símbolo de valor nulo \emptyset a menos un enlazador sustituya a una unidad estructural o reacción de detención en el extremo se ha usado en el grupo amina superficial de una unidad estructural subsuperficial.

Se requiere una descripción de topología a nivel de cuartetos para describir la conectividad subsuperficial para macromoléculas donde unidades estructurales superficiales se han sustituido por enlazadores. Puede verse en la figura 6.2 que, para cada unidad estructural superficial que es sustituida por un enlazador, un valor de 1 representado por 0 se pierde del FM_{Total} superficial externo final de modo que $FM_{Total} + \sum \emptyset = FM_{MAX}$. El uso de los símbolos de valor nulo restaura la integridad del FM_{Total} externo. En F6.2, el uso de 0 se demuestra dado que los restos funcionales y símbolos de valor nulo relacionados con las unidades estructurales superficiales menos uno se reúnen en sus pares y cuartetos relacionados. Cuando una unidad estructural superficial es sustituida por un enlazador, uno de los pares contendrá un resto funcional y un símbolo de valor nulo, y el otro par contendrá dos restos funcionales, que proporcionan cuartetos de la forma: $((AA)(A\emptyset))^4$ y $((BB)(B\emptyset))^4$. El cuarteto $((AA)(A\emptyset))^4$ indica que existen tres restos funcionales A,A,A y todos tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a la unidad estructural superficial menos una e indica además que el par (AA) y el resto funcional A están unidos a la misma unidad estructural. Los pares que contienen uno o más símbolos de valor nulo 0 pueden agruparse junto con otros pares para proporcionar descripciones de cuarteto, octeto y 16-teto de topología superficial.

Cuando tres restos funcionales diferentes A, B y D están unidos a las unidades estructurales superficiales de una macromolécula o motivo dendrítico, y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador, pares preferidos se seleccionan de entre (AA), (BB), (DD), (AB), (AD), (BD), (A \emptyset), (B \emptyset) y (D \emptyset) y combinaciones de las mismas.

Las macromoléculas de la figura 7 se describen en términos de pares usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 10

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
7.1	$(D\emptyset)(AA)(BB)(BB)(D\emptyset)(AA)(BB)(BB)$ $(D\emptyset)(AA)(BB)(BB)(D\emptyset)(AA)(BB)(BB)$	4 pares (AA), 8 (BB) y 4 (D \emptyset)

7.2	(AA)(ØØ)(BB)(BB)(AA)(ØØ)(BB)(BB) (AA)(ØØ)(BB)(BB)(AA)(ØØ)(BB)(BB)	4 pares (AA), 8 (BB) y 4 (ØØ)
7:3	(DD)(DD)(ØØ)(ØØ)(AA)(AA)(BB)(BB) (DD)(DD)(ØØ)(ØØ)(AA)(AA)(BB)(BB)	4 pares (AA), 4 (BB), 4 (DD) y 4 (ØØ)
7.4	(DD)(DD)(AA)(AA)(ØØ)(ØØ)(ØØ)(ØØ) (AA)(AA)(BB)(BB)(AA)(AA)(BB)(BB)	6 pares (AA), 4 (BB), 2 (DD) y 4 (ØØ)
7.5	(AA)(AA)(BB)(BB)(ØØ)(ØØ)(ØØ)(ØØ) (AA)(AA)(ØØ)(ØØ)(BB)(BB)(ØØ)(ØØ)	4 pares (AA), 4 (BB) y 8 (ØØ)

Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen enlazadores en términos de la composición (número y tipo) de pares que contienen restos funcionales A, B y D y usando el símbolo de valor nulo 0. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 7 y se resumen en la columna 5 "composición" de la tabla 10.

Las macromoléculas de la figura 7 se describen en términos de cuartetos usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

10

Tabla 11A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
7.1	$((DØ)(AA))^4((BB)(BB))^4((DØ)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((DØ)(AA))^4((BB)(BB))^4((DØ)(AA))^4((BB)(BB))^4$	4 cuartetos $((BB)(BB))^4$ y 4 $((DØ)(AA))^4$
7.2	$((AA)(ØØ))^4((BB)(BB))^4((AA)(ØØ))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(ØØ))^4((BB)(BB))^4((AA)(ØØ))^4((BB)(BB))^4$	4 cuartetos $((AA)(ØØ))^4$ y 4 $((BB)(BB))^4$
7.3	$((DD)(DD))^4((ØØ)(ØØ))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((DD)(DD))^4((ØØ)(ØØ))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$	2 cuartetos $((AA)(AA))^4$, 2 $((BB)(BB))^4$, 2 $((DD)(DD))^4$ y 2 $((ØØ)(ØØ))^4$
7.4	$((DD)(DD))^4((AA)(AA))^4((ØØ)(ØØ))^4((ØØ)(ØØ))^4$ $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$	3 cuartetos $((AA)(AA))^4$, 2 $((BB)(BB))^4$, 1 $((DD)(DD))^4$ y 2 $((ØØ)(ØØ))^4$
7.5	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((ØØ)(ØØ))^4((ØØ)(ØØ))^4$ $((AA)(AA))^4((ØØ)(ØØ))^4((BB)(BB))^4((ØØ)(ØØ))^4$	2 cuartetos $((AA)(AA))^4$, 2 $((BB)(BB))^4$ y 4 $((ØØ)(ØØ))^4$

Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen enlazadores en términos de la composición (número y tipo) de cuartetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 7 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 11A.

15

Cuando un cuarteto va a ensamblarse a partir de tres restos funcionales representados por A, B y D; y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador, esto puede hacerse usando uno de los pares preferidos, además de usando el par de valor nulo (ØØ).

20 En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un cuarteto seleccionado de entre el conjunto:

Tabla 11B

Relación	Tipo de cuarteto	Ejemplos de cuartetos equivalentes
homogénea	$((AA)(AØ))^4$	$((BB)(BØ))^4$ $((DD)(DØ))^4$
homogénea	$((AA)(ØØ))^4$	$((BB)(ØØ))^4$
homogénea	$((AØ)(AØ))^4$	$((BØ)(BØ))^4$
homogénea	$((AØ)(ØØ))^4$	$((DØ)(ØØ))^4$
2:1	$((AA)(BØ))^4$	$((AA)(DØ))^4$ $((BB)(AØ))^4$ $((BB)(DØ))^4$
2:1	$((AB)(AØ))^4$	$((AD)(AØ))^4$ $((AB)(BØ))^4$ $((BD)(BØ))^4$
1:1	$((AB)(ØØ))^4$	$((BD)(ØØ))^4$

1:1	$((A\emptyset)(B\emptyset))^4$	$((B\emptyset)(D\emptyset))^4$
1:1:1	$((AB)(D\emptyset))^4$	$((AD)(B\emptyset)^4((BD)(A\emptyset))^4$

En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un cuarteto seleccionado de entre la tabla 3B o 7B u 11B, incluyendo aquellos cuartetos que pueden considerarse equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos o tres restos funcionales diferentes.

5

Se requiere una descripción de topología a nivel de octetos para describir la conectividad subsuperficial para macromoléculas donde unidades estructurales superficiales menos una han sido sustituidas por enlazadores. Puede verse en la figura 6.3 que, para cada unidad estructural superficial menos una que es sustituida por un enlazador, un valor de 2 representado por $\emptyset\emptyset$ se pierde del FM_{Total} superficial externo final, de modo que $FM_{Total} + \sum \emptyset = FM_{MAX}$. El uso de los símbolos de valor nulo restaura la integridad del FM_{Total} externo.

10

En F6.3, el uso de $\emptyset\emptyset$ se demuestra dado que los restos funcionales y símbolos de valor nulo relacionados con las unidades estructurales superficiales menos dos se reúnen en sus pares, cuartetos y octetos relacionados. Cuando una unidad estructural superficial menos una es sustituida por un enlazador, uno de los cuartetos del octeto contendrá un par de valor nulo ($\emptyset\emptyset$), y el otro par contendrá dos restos funcionales. El segundo cuarteto estará completo, proporcionando octetos de la forma: $((AA)(AA))^4((AA)(\emptyset\emptyset))^4$ y $((BB)(BB))^4((BB)(\emptyset\emptyset))^4$. El octeto $((AA)(AA))^4((AA)(\emptyset\emptyset))^4$ indica que existen seis restos funcionales A,A,A,A,A,A y todos tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a la unidad estructural superficial menos DOS e indica además que el cuarteto $((AA)(AA))^4$ y el par (AA) están unidos a la misma unidad estructural. Los cuartetos que contienen uno o más símbolos de valor nulo 0 pueden agruparse junto con otros cuartetos para proporcionar descripciones de octeto y 16-teto de topología superficial.

15

20

Las macromoléculas de la figura 7 se describen en términos de octetos usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

25

Tabla 12A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
7.1	$((D\emptyset)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((D\emptyset)(AA))^4((BB)(BB))^4$	4 octetos $((D\emptyset)(AA))^4((BB)(BB))^4$
7.2	$((AA)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$	4 octetos $((AA)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$
7.3	$((DD)(DD))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ $((DD)(DD))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$	2 octetos $((DD)(DD))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y 2 $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$
7.4	$((DD)(DD))^4((AA)(AA))^4$ $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ 1 $((DD)(DD))^4((AA)(AA))^4$ y
		1 octeto $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$
7.5	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$	1 $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ 1 $((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y
		1 octeto $((BB)(BB))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y
		1 octeto $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$

Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen enlazadores en términos de la composición (número y tipo) de octetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 7 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 12A.

30

Cuando un octeto va a ensamblarse a partir de tres restos funcionales representados por A, B y D; y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador, esto puede realizarse usando los cuartetos preferidos de la tabla 3B, 7B y 11 B, además de usando el cuarteto de valor nulo $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ de la manera que se ha demostrado para combinar cuartetos para proporcionar octetos anteriormente.

35

En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un octeto seleccionado de entre el conjunto: $((AA)(AA))^4((AB)(A\emptyset))^4$, $((AA)(AB))^4((AA)(D\emptyset))^4$, $((AA)(AB))^4((AD)(B\emptyset))^4$, $((AB)(AD))^4((AB)(D\emptyset))^4$, $((AA)(A\emptyset))^4((AB)(A\emptyset))^4$, $((AB)(AD))^4((A\emptyset)(A\emptyset))^4$ o $((AB)(AD))^4((A\emptyset)(B\emptyset))^4$.

Se requiere una descripción de topología a nivel de 16-tetos para describir la conectividad subsuperficial para macromoléculas donde unidades estructurales superficiales menos dos han sido sustituidas por enlazadores. Puede verse en la figura 6.4 que, para cada unidad estructural superficial menos dos que es sustituida por un enlazador, un valor de 4 representado por $\emptyset\emptyset\emptyset$ se pierde del FM_{Total} superficial externo final, de modo que $FM_{Total} + \sum \emptyset = FM_{MAX}$. El uso de los símbolos de valor nulo restaura la integridad del FM_{Total} externo.

En F6.4, el uso de $\emptyset\emptyset\emptyset$ se demuestra dado que los restos funcionales y símbolos de valor nulo relacionados con las unidades estructurales superficiales menos tres se reúnen en sus pares, cuartetos, octetos y 16-tetos relacionados. Cuando una unidad estructural superficial menos una es sustituida por un enlazador, uno de los octetos contendrá un cuarteto de valor nulo $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$, y el otro cuarteto contendrá cuatro restos funcionales. El segundo octeto estará completo, proporcionando 16-tetos de la forma: $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ and $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$. El 16-teto $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ indica que hay 12 restos funcionales de tipo A que tienen todos una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a la unidad estructural superficial menos tres e indica además que el octeto $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ y el cuarteto $((AA)(AA))^4$ están unidos a la misma unidad estructural. Los octetos que contienen uno o más símbolos de valor nulo \emptyset pueden agruparse junto con otros octetos para proporcionar descripciones de 16-teto de topología superficial.

Las macromoléculas de la figura 7 se describen en términos de 16-tetos usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 13

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica
7.1	$((D\emptyset)(AA))^4((BB)(BB))^4((D\emptyset)(AA))^4((BB)(BB))^4$
7.2	$((AA)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4((AA)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$
7.3	$((DD)(DD))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$
7.4	$((DD)(DD))^4((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$
7.5	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$

donde:

- hay dos $((D\emptyset)(AA))^4((BB)(BB))^4$ 16-tetos en la **figura 7.1**;
- hay dos $((AA)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ 16-tetos en la **figura 7.2**;
- hay dos $((DD)(DD))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ 16-tetos en la **figura 7.3**;
- hay un 16-teto $((DD)(DD))^4((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y uno $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ en la **figura 7.4**; y
- hay un 16-teto $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y uno $((AA)(AA))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ en la **figura 7.5**.

Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen enlazadores en términos de la composición (número y tipo) de 16-tetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 7 y se resumen en forma de puntos anteriormente.

Cuando un 16-teto va a ensamblarse a partir de tres restos funcionales representados por A, B y D; y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador, esto puede realizarse usando los octetos preferidos que incluyen octetos homogéneos, además de usando el octeto de valor nulo $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ de la manera que se ha demostrado para combinar cuartetos para proporcionar octetos anteriormente.

Resumen de diversos enlazadores escindibles

Los enlazadores escindibles pueden estar diseñados para ser escindidos enzimáticamente, y pueden usarse por ejemplo, en dendrímeros dirigidos a tejidos que expresan esas enzimas. Como alternativa, puede preferirse un enlazador lábil en ácido de modo que el compuesto unido a él sea liberado en condiciones ácidas, tales como en tejido hipóxico. En una alternativa adicional, pueden usarse enlazadores fotoescindibles.

5

El resto enlazador puede seleccionarse de entre uno o más de los siguientes:

Tipo de enlazador	Enlazador
Estable	Amida; PEG-péptido
Lábil en ácido	Hidrazona, Oxima, Imina; Éster y Ortoéster; Amida aconítica; Acetal/Cetal.
Lábil en tiol	Disulfuro
Lábil con enzimas	Ésteres (Esterasas y proteasas); Secuencias peptídicas

Enlazadores estables

10

Enlazadores de amida:

La naturaleza de un enlace amida es importante para determinar si el resto funcional será liberado desde un conjugado. La liberación de fármaco libre a partir de transportadores proteicos unidos mediante un enlazador de amida directo solamente podrá conseguirse en raras circunstancias donde el fármaco es, a su vez, una molécula similar a un péptido u el enlace entre fármaco y transportador es enzimáticamente escindible.

15

PEG-péptido:

Los PEG-péptidos se usan de manera similar a los péptidos convencionales, excepto que el resto PEG proporciona estabilidad in vivo y masa adicionales para el transportador. Tiene la ventaja de incrementar la distancia entre un transportador y un fármaco por ejemplo mientras se expone el sitio de escisión enzimática, reduce la inmunogenicidad del conjugado, incrementa el tiempo de circulación sanguínea e incrementa la solubilidad del complejo.

20

Lábil en ácido

Enlazadores de hidrazona, oxima e imina:

Los enlaces hidrazona, oxima e imina no requieren la presencia de enzimas para permitir la escisión del fármaco del transportador. Son capaces de escindirse hidrolíticamente en el enlace C = N en entornos de pH bajo, tal como en el espacio extravascular del tumor o dentro de los lisosomas.

Enlazadores de éster:

35

Pueden prepararse enlazadores tanto lábiles en ácido como de éster metabolizable. Se han usado ortoésteres para conjugar PEG a lípidos que se unen a transportadores de membrana aniónicos. La estabilidad del conjugado en condiciones ácidas (pH 4-6) depende de la estructura del enlazador de éster u ortoéster. En términos de conjugación éster sencillo a pequeñas moléculas, las funcionalidades de diéster proporcionan más sitios para la escisión metabólica en comparación con monoésteres que son más estables que los disulfuros pero menos estables que los enlaces amida.

40

Acetales y cetales:

Esta clase de enlazador es particularmente útil cuando el agente farmacéuticamente activo incluye un resto hidroxilo. En general los cetales son más lábiles en ácido que los enlaces acetal.

45

Lábil en tiol

Enlazadores de disulfuro:

50

Los enlazadores de disulfuro son los enlazadores más inestables usados actualmente y experimentan escisión reductora rápida in vitro. Su estabilidad in vivo es generalmente mayor, sin embargo, que su estabilidad in vitro.

Pueden formarse mediante enlaces disulfuro entre aminoácidos que contienen azufre o en enlaces disulfuro no basados en péptidos. También muestran mayor reactividad con otros tioles nucleófilos en el cuerpo y, por lo tanto, muestran rápido aclaramiento en plasma.

5 **Lábil con enzimas**

enlazadores peptídicos:

Los enlazadores peptídicos son, con mucho, los enlazadores más versátiles de todos los enlazadores escindibles ya que pueden usarse muchas combinaciones diferentes de aminoácidos para controlar la velocidad de escisión y la enzima de escisión. Aunque existen una serie de problemas asociados con su uso como conjugados para fármaco y transportador, puede controlarse seleccionando un péptido apropiado unido directamente a la molécula de fármaco, por ejemplo prolina. Generalmente, se han diseñado enlazadores escindibles por catepsina B para ser escindidos por catepsina (ubicada en lisosomas y no libre en el citosol) después de endocitosis del complejo. Proteasas inespecíficas (es decir proteasas que no son específicas de una secuencia peptídica particular) pueden escindir un fármaco de un dendrímero PEGilado después de que ha experimentado suficiente extravasación y acumulación en tejido tumoral.

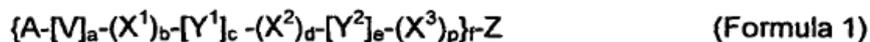
Resumen de enlazadores no escindibles

20 Los enlazadores no escindibles pueden seleccionarse de entre el grupo que consiste en polipéptidos (es decir, residuos de aminoácidos, poliaminas oligoméricas y amidas de poliamina), ácidos nucleicos peptídicos (PNA), polímeros sintéticos (PEG, PEOX, N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA), copolímeros de poli(vinilpirrolidona) (PVP), poli(etilenimina) (PEI), poliamidoaminas lineales y DIVEMA); polímeros naturales (dextrano(alfa-1,6 poliglucosa), dextrina (alfa-1,4 poliglucosa), ácido hialurónico, quitosanos); y polímeros pseudosintéticos, tales como los poli(aminoácidos) fabricados por el hombre poli(L-lisina), poli(ácido glutámico) (PGA), poli(ácido málico), poli(aspartamidas), poli(láctidos), poli(glicólidos) y poli(láctidos coglicólidos).

En una realización preferida, el enlazador puede incluir una cadena principal de hidrocarburo, PEG o PEOX, o una combinación de los mismos.

30

Otra realización preferida del enlazador se describe en la fórmula 1



a	a = 0 o 1 (véase V a continuación) proporciona enlazador CH o CH ₂ opcional, para facilitar enlaces de tipo hidrazona, oxima o éter.
b	b = 0 entonces sección de enlazador Y ¹ o Y ² para conectarse directamente al ligando A b = 1 permite el uso de X ¹ : preferido.
c	c = 0 elimina la primera sección del enlazador, y de la forma más probable requeriría b = 0 así como c = 1 permite el uso de Y ¹ : preferido.
d	d = 0 entonces la sección del enlazador Y ² conecta directamente a la sección del enlazador Y ¹ etc. d = 1 permite el uso de X ² : preferido.
e	e = 0 elimina la segunda sección del enlazador, y d = 0 así como e preferido = 1 permite el uso de Y ² : preferido.
p	p = 0 entonces el dendrímero Z conecta directamente a la sección del enlazador Y ² (o Y ¹ o V o A) y permite que f = 2. p = 1 permite el uso de X ³ : preferido.
f	f = 1 cuando se usa X ³ : preferido. f = 2 cuando X ³ no se usa, permite dos enlazadores por dendrímero Z.
x ³	C(W ³), OC(W ³), NRC(W ³), SC(W ³); preferentemente C(W ³) donde W = O En la realización preferida, la unión X ³ es una conexión de amida entre el dendrímero Z y la segunda sección del enlazador Y ² .
X ⁿ (X ¹ y X ²)	O, S, NR, NRO, ONR C(W ⁿ), OC(W ⁿ), C(W ⁿ)O, NRC(W ⁿ), C(W ⁿ)NR, OC(W ⁿ)O, OC(W ⁿ)NR, NRC(W ⁿ)O, NRC(W ⁿ)NR Preferentemente C(W ⁿ)NR donde W = O y R = H. Hay dos uniones, X ¹ y X ² . X ² "une" las dos secciones del enlazador (Y ¹ a Y ²), y preferentemente una amida, carboxilo de Y ¹ . X ¹ "une" el ligando a la primera sección del enlazador (Y ¹) y preferentemente una amida, carboxilo de A; o un éter donde a = 0 o 1.
R	hidrógeno o un grupo pequeño, cada R es igual o diferente, pequeño grupo definido

	como: una cadena alquilo de 1 a 10 átomos que puede incorporar dentro de la cadena un resto arilo de 5 a 10 átomos, donde la cadena de alquilo y/o el resto arilo pueden incluir uno o más O, N o S intercambiados por uno o más átomos de C; preferentemente R = H..
W	O o S; preferentemente O
Y^n (Y^1 y Y^2)	La sección del enlazador puede estar compuesta por una combinación de uno o más tipos de fragmento. Y^1 es la primera sección del enlazador y funciona para conectar el ligando a una sección del enlazador más larga, sensible a las necesidades de receptor; posiblemente más hidrófoba, con potencial donador/aceptor de puentes de H. Y^2 es el segundo fragmento del enlazador y proporciona solubilidad en agua, longitud y posiblemente rigidez. fragmento 1: $(CH_2)_g$ donde $g = 1-12$ fragmento 2: $[O-(CH_2)_h]_i$ donde $h = 2-6$ e $i = 1-30$ fragmento 3: $[(O)_j-(CH_2)_k-Aril-(CH_2)_l-(O)_m]_o$ donde $j = 0-1$, $k = 0-3$, $l = 0-3$, $m = 0-1$, $o = 1-10$ fragmento 4: oligopéptidos de hasta 30 aminoácidos que preferentemente incluyen Glicina, Serina, Glutamato, Aspartato o β -alanina
	fragmento 5: oligosacáridos lineales de hasta 10 unidades de hexosa, que preferentemente incluyen glucosa, N-acetilglucosamina, manosa, galactosa; interconectados por enlaces glucosídicos seleccionados de entre 1-2, 1-4 o 1-6.
V	$CH(R)_r$, donde $r = 1$ si está enlazado a X^n o Y^n está saturado; $r = 0$ si está enlazado a X^n o Y^n está insaturado.
A	A es un resto funcional: opcionalmente modificado para incluir V; u opcionalmente modificado para proporcionar un nuevo grupo funcional para unión a X^n o Y^n ; u opcionalmente modificado para convertir un grupo funcional existente en un grupo funcional para unión a X^n o Y^n
Z	Z es un grupo nitrógeno terminal del dendrímero de lisina (que puede formar uno o dos enlaces, de modo que $f = 1$ o 2);

La longitud del enlazador variará dependiendo del resto funcional que está siendo usado.

El uso de símbolos de valor nulo permite que conceptos tales como dobletes, cuartetos, octetos y 16-tetos se retengan en la nomenclatura topológica alfanumérica cuando se han usado reacciones de detención en el extremo (véase a continuación) o enlazadores en la síntesis de un motivo dendrítico. Los símbolos de valor nulo y su inclusión en la nomenclatura topológica describen esa parte de un motivo dendrítico que se ha perdido como resultado de sustituir unidades estructurales con enlazadores o reacciones de detención en el extremo.

10 Reacciones de detención en el extremo

Puede ser deseable alterar la topología superficial de una macromolécula o para proporcionar un sitio encapsulado particular en su interior. Esto puede conseguirse utilizando restos funcionales que funcionan como restos (o grupos) de detención en el extremo para introducir modificaciones en la macromolécula o motivo dendrítico.

15

Una reacción de detención en el extremo se define como la reacción completa de todos los grupos amina superficial desprotegidos de una macromolécula o motivo dendrítico con un resto funcional de detención en el extremo R donde el resto R es entonces inerte a transformaciones químicas posteriores que se llevan a cabo en la macromolécula o motivo dendrítico con fines de la adición de unidades estructurales, grupos enlazadores o reacciones de detención en el extremo adicionales. El resto funcional de detención en el extremo puede transformarse en un resto funcional mediante un producto químico u otro estímulo en una fase seleccionada en el proceso de preparación de la macromolécula o motivo dendrítico.

20

Una reacción que se usa para introducir uno o más restos de detención en el extremo en un motivo dendrítico se lleva a cabo para garantizar la reacción completa de todos los grupos amina superficiales desprotegidos de una macromolécula o motivo dendrítico con los restos funcionales de detención en el extremo reactivos. Habitualmente esto se realiza usando un exceso del resto funcional de detención en el extremo. La reacción se describe con más detalle en el ejemplo 72.

25

El número total de restos funcionales en una macromolécula o motivo dendrítico en el que se ha producido detención en el extremo puede representarse mediante FM_{Total} . La composición de restos funcionales de una macromolécula o motivo dendrítico, donde todos los grupos amina superficial y/o unidades estructurales superficiales están unidos a restos funcionales, también puede proporcionarse en términos de FM_{Total} en una fórmula de la forma $\sum FM_i = FM_{Total}$ donde la superficie de la macromolécula o motivo dendrítico tiene una cantidad integral FM_i de restos funcionales de tipo i: ($FM_i = FM_A, FM_B, \dots, FM_Z$) y donde FM_i puede comprender uno o más restos

30

funcionales R de tipo i: ($R_i = R_1, R_2, \dots, R_n$). Se considera la figura 9 que proporciona diagramas esquemáticos de cinco isómeros topológicos diferentes de macromoléculas donde se han usado reacciones de detención en el extremo en diversas fases en la síntesis de macromoléculas. Cada una de estas macromoléculas puede describirse mediante una fórmula $\sum FM_i = FM_{total}$, por ejemplo $\sum FM_i = (16R_1 + 16R_2) = 32$ para la figura 9.1; $\sum FM_i = (8A + 16B + 4R_1) = 28$ para la figura 9.2; $\sum FM_i = (16B + 4R_1) = 20$ para la figura 9.3; $\sum FM_i = (8A + 8B + 2R_1) = 18$ para la figura 9.4 y $\sum FM_i = (8A + 4R_1 + 4R_2) = 16$ para la figura 9.5.

La nomenclatura topológica alfanumérica de pares, cuartetos, octetos y más allá es capaz de proporcionar una descripción de la composición de restos funcionales además de la topología de macromoléculas y motivos dendríticos en los que se han usado reacciones de detención en el extremo haciendo uso del máximo número de restos funcionales FM_{MAX} además de utilizar el símbolo valor nulo \emptyset .

El término FM_{MAX} se usa para representar el número de restos funcionales que estarían presentes en una macromolécula o motivo dendrítico en un escenario donde no hay restos funcionales de detención en el extremo o enlazadores unidos en o por debajo de una unidad estructural superficial menos una en la preparación de los mismos.

Las diferencias identificables entre motivos dendríticos que están enriquecidos con respecto a estequiometría superficial y en los que se han usado reacciones de detención en el extremo, pueden describirse utilizando el símbolo valor nulo \emptyset en concierto con el conocimiento del número máximo de restos funcionales FM_{MAX} .

Los símbolos de valor nulo y su inclusión en la nomenclatura topológica alfanumérica hacen posible describir la conectividad entre los restos funcionales y las capas subsuperficiales de unidades estructurales cuando se ha usado detención en el extremo. El uso del símbolo de valor nulo \emptyset en las descripciones topológicas alfanuméricas de macromoléculas o motivos dendríticos que contienen restos de detención en el extremo se demuestra por ejemplo, usando los diagramas esquemáticos de las figuras 8 y 9.

Los ejemplos de la figura 9 se incluyen para demostrar cómo la nomenclatura topológica alfanumérica puede utilizarse para proporcionar una descripción de macromoléculas que incluyen restos funcionales de detención en el extremo y que tienen una topología superficial definida, además de una composición definida de restos funcionales. En particular, la nomenclatura hace posible la identificación de los pares, cuartetos, octetos y 16-tetos preferidos que son componentes de las macromoléculas y que son una realización preferida de esta invención.

El uso de símbolos de valor nulo permite que conceptos tales como pares, cuartetos, octetos y 16-tetos se retengan en la nomenclatura topológica alfanumérica cuando se han usado reacciones de detención en el extremo o enlazadores en la síntesis de un motivo dendrítico. Los símbolos de valor nulo y su inclusión en la nomenclatura topológica describen esa parte de un motivo dendrítico que se ha perdido como resultado de reacciones de detención en el extremo o sustituyendo unidades estructurales con enlazadores.

Se considera la figura 8.1 que representa una macromolécula que comprende 4 capas de unidades estructurales cada una con dos grupos amina capaz de reaccionar a partir de un núcleo con dos grupos amina capaz de reaccionar. El FM_{MAX} para este motivo de macromolécula es, por tanto, $2 \times 2 \times 2 \times 2 \times 2 = 32$. En aquellas circunstancias donde enlazadores y restos funcionales de detención en el extremo están unidos solamente en las unidades estructurales superficiales, $FM_{MAX} = FM_{Total}$ y no hay ningún requisito del símbolo de valor nulo \emptyset .

Se requiere una descripción de topología a nivel de cuartetos para describir la conectividad subsuperficial para macromoléculas donde restos funcionales de detención en el extremo se han unido en las unidades estructurales de capa superficial menos una, puede verse en la figura 8.2 que para cada resto funcional de detención en el extremo R_i que está unido a un grupo amina superficial de una unidad estructural superficial menos una, un valor de 1 representado por \emptyset se pierde del FM_{Total} superficial externo total, de modo que $FM_{Total} + \sum \emptyset = FM_{MAX}$. El uso de los símbolos de valor nulo restaura la integridad del FM_{Total} externo. En F8.2, el uso de 0 se demuestra dado que los restos funcionales y símbolos de valor nulo relacionados con las unidades estructurales superficiales menos uno se reúnen en sus pares y cuartetos relacionados. Cuando un resto funcional de detención en el extremo está unido a la unidad estructural superficial menos una, uno de los pares contendrá un resto funcional de detención en el extremo y un símbolo de valor nulo ($R_i\emptyset$), y el otro par contendrá dos restos funcionales, que proporcionan cuartetos de la forma: $((AA)(R_1\emptyset))^4$ and $((BB)(R_2\emptyset))^4$. El cuarteto $((AA)(R_1\emptyset))^4$ indica que existen tres restos funcionales A,A,R₁ y todos tienen una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a la unidad estructural superficial menos una e indica además que el par (AA) y el resto funcional de detención en el extremo R₁ están unidos a la misma unidad estructural. Los pares que contienen uno o más símbolos de valor nulo 0 pueden agruparse junto con otros pares para proporcionar descripciones de cuarteto, octeto y 16-teto de topología superficial.

Las macromoléculas de la figura 9 se describen en términos de pares usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

5

Tabla 14

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
9.1	(R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁)(R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂)(R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁)(R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂) (R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁)(R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂)(R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁)(R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂)	8 pares (R ₁ R ₁) y 8 (R ₂ R ₂)
9.2	(AA)(R ₁ ∅)(BB)(BB)(AA)(R ₁ ∅)(BB)(BB) (AA)(R ₁ ∅)(BB)(BB)(AA)(R ₁ ∅)(BB)(BB)	4 pares (AA), 8 (BB) y 4 (R ₁ ∅)
9.3	(R ₁ ∅)(∅∅)(BB)(BB)(R ₁ ∅)(∅∅)(BB)(BB) (R ₁ ∅)(∅∅)(BB)(BB)(R ₁ ∅)(∅∅)(BB)(BB)	8 pares (BB), 4 (R ₁ ∅) y 4 (∅∅)
9.4	(AA)(AA)(BB)(BB)(R ₁ ∅)(∅∅)(∅∅)(∅∅) (AA)(AA)(BB)(BB)(R ₁ ∅)(∅∅)(∅∅)(∅∅)	4 pares (AA), cuatro (BB), 2 (R ₁ ∅) y 6 (∅∅)
9.5	(R ₁ ∅)(AA)(R ₂ ∅)(∅∅)(R ₁ ∅)(AA)(R ₂ ∅)(∅∅) (R ₁ ∅)(AA)(R ₂ ∅)(∅∅)(R ₁ ∅)(AA)(R ₂ ∅)(∅∅)	4 pares (AA), 4 (R ₁ ∅), 4 (R ₂ ∅) y 4 (∅∅)

Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen restos de detención en el extremo en términos de la composición (número y tipo) de pares. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 9 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 14.

10

Las macromoléculas de la figura 9 se describen en términos de cuartetos usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 15A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
9.1	((R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁) ⁴ ((R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂) ⁴ ((R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁) ⁴ ((R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂) ⁴ ((R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁) ⁴ ((R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂) ⁴ ((R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁) ⁴ ((R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂) ⁴	4 cuartetos ((R ₁ R ₁)(R ₁ R ₁) ⁴) y 4 ((R ₂ R ₂)(R ₂ R ₂) ⁴)
9.2	((AA)(R ₁ ∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((AA)(R ₁ ∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((AA)(R ₁ ∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((AA)(R ₁ ∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴	4 cuartetos ((AA)(R ₁ ∅) ⁴) y 4 ((BB)(BB) ⁴)
9.3	((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ ((BB)(BB) ⁴	4 cuartetos ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴) y 4 ((BB)(BB) ⁴)
9.4	((AA)(AA) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ ((∅∅)(∅∅) ⁴ ((AA)(AA) ⁴ ((BB)(BB) ⁴ ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ ((∅∅)(∅∅) ⁴	2 cuartetos ((AA)(AA) ⁴), 2 ((BB)(BB) ⁴), 2 ((R ₁ ∅)(∅∅) ⁴ y 2 ((∅∅)(∅∅) ⁴
9.5	((R ₁ ∅)(AA) ⁴ ((R ₂ ∅)(∅∅) ⁴ ((R ₁ ∅)(AA) ⁴ ((R ₂ ∅)(∅∅) ⁴ ((R ₁ ∅)(AA) ⁴ ((R ₂ ∅)(∅∅) ⁴ ((R ₁ ∅)(AA) ⁴ ((R ₂ ∅)(∅∅) ⁴	4 cuartetos ((R ₁ ∅)(AA) ⁴) y 4 ((R ₂ ∅)(∅∅) ⁴)

15

Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen restos de detención en el extremo en términos de la composición (número y tipo) de cuartetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 9 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 15A.

20 Cuando un cuarteto va a ensamblarse a partir de tres restos funcionales o restos funcionales de detención en el extremo representados por A, B y D; y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador o se han usado reacciones de detención en el extremo, esto puede realizarse usando los pares preferidos, además de usando el par de valor nulo (∅∅) de la manera que se ha demostrado para combinar pares para proporcionar cuartetos anteriormente.

25

En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un cuarteto seleccionado de entre la tabla 3B o 7B u 11 B, incluyendo aquellos cuartetos que pueden considerarse

equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos o tres restos funcionales diferentes. En esta realización preferida, se considera que los símbolos A, B y D representan diferentes restos funcionales o restos funcionales de detención en el extremo.

5 Se requiere una descripción de topología a nivel de octetos para describir la conectividad subsuperficial para macromoléculas donde restos de detención en el extremo se han unido en unidades estructurales superficiales menos dos. Puede verse en la figura 8.3 que, para cada resto funcional de detención en el extremo R_i que está unido a un grupo amina superficial de una unidad estructural superficial menos dos, un valor de 3 representado por $\emptyset\emptyset\emptyset$ se pierde del FM_{Total} superficial externo final, de modo que $FM_{Total} + \sum\emptyset = FM_{MAX}$. El uso de los símbolos de valor nulo restaura la integridad del FM_{Total} externo. en F8.3, el uso de $\emptyset\emptyset\emptyset$ se demuestra dado que los restos funcionales y símbolos de valor nulo relacionados con las unidades estructurales superficiales menos dos se reúnen en sus pares, cuartetos y octetos relacionados. Cuando un resto funcional de detención en el extremo R se une a una unidad estructural superficial menos dos, uno de los cuartetos contendrá un par de valor nulo ($\emptyset\emptyset$), y el otro par contendrá R_i y un símbolo de valor nulo como $(R_i\emptyset)$. El segundo cuarteto estará completo, proporcionando octetos de la forma: $((AA)(AA))^4((R_i\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y $((BB)(BB))^4((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$. El octeto $((AA)(AA))^4((R_i\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ indica que hay cinco restos funcionales A,A,A,A,A, R_i que tienen, todos, una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a la unidad estructural superficial menos dos. Los cuartetos que contienen uno o más símbolos de valor nulo \emptyset pueden agruparse junto con otros cuartetos para proporcionar descripciones de octeto y 16-teto de topología superficial.

20 Las macromoléculas de la figura 9 se describen en términos de octetos usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

Tabla 16A

Fig	nomenclatura topológica alfanumérica	Composición
9.1	$((R_1R_1)(R_1R_1))^4((R_2R_2)(R_2R_2))^4$ y $((R_1R_1)(R_1R_1))^4((R_2R_2)(R_2R_2))^4$ $((R_1R_1)(R_1R_1))^4((R_2R_2)(R_2R_2))^4$ y $((R_1R_1)(R_1R_1))^4((R_2R_2)(R_2R_2))^4$	4 octetos $((R_1R_1)(R_1R_1))^4((R_2R_2)(R_2R_2))^4$
9.2	$((AA)(R_1\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ y $((AA)(R_1\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ $((AA)(R_1\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ y $((AA)(R_1\emptyset))^4((BB)(BB))^4$	4 octetos $((AA)(R_1\emptyset))^4((BB)(BB))^4$
9.3	$((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ y $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$ y $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$	4 octetos $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((BB)(BB))^4$
9.4	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ y $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ y $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$	2 octetos $((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4$ y 2 octetos $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$
9.5	$((R_1\emptyset)(AA))^4((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y $((R_1\emptyset)(AA))^4((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ $((R_1\emptyset)(AA))^4((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ y $((R_1\emptyset)(AA))^4((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$	4 octetos $((R_1\emptyset)(AA))^4((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$

25 Es posible describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen restos de detención en el extremo en términos de la composición (número y tipo) de octetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 9 y se resumen en la columna "composición" de la tabla 16A.

30 Cuando un octeto va a ensamblarse a partir de tres restos funcionales o restos funcionales de detención en el extremo representados por A, B y D; y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador o se han usado reacciones de detención en el extremo, esto puede realizarse usando los cuartetos preferidos de las tablas 3B, 7B y 11B, además de usando el cuarteto de valor nulo $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ de la manera que se ha demostrado para combinar cuartetos para proporcionar octetos anteriormente.

35 Se requiere una descripción de topología a nivel de 16-tetos para describir la conectividad subsuperficial para macromoléculas donde restos funcionales de detención en el extremo se han unido en unidades estructurales superficiales menos tres. Puede verse en la figura 8.4 que, para cada resto funcional de detención en el extremo R_i que está unido a un grupo amina superficial, un valor de 7 representado por $\emptyset\emptyset\emptyset\emptyset\emptyset\emptyset$ se pierde del FM_{Total} superficial externo final, de modo que $FM_{Total} + \sum\emptyset = FM_{MAX}$. Cuando un resto funcional de detención en el extremo se une a una unidad estructural superficial menos tres, uno de los octetos contendrá un cuarteto de valor nulo $((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$, y el otro cuarteto contendrá solamente los símbolos R_i y valor nulo como $((R_i\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$. El segundo octeto estará completo, proporcionando 16-tetos de la forma: $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ y $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ and $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$ y $((R_2\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$. El 16-teto $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$ y $((R_1\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4((\emptyset\emptyset)(\emptyset\emptyset))^4$ indica que hay 8 restos funcionales de tipo A y un resto funcional de detención en el extremo R_1 que tienen, todos una línea de conexión a la misma unidad estructural, en particular a la unidad estructural superficial menos tres. Los octetos que contienen uno o más símbolos de valor nulo

∅ pueden agruparse junto con otros octetos para proporcionar descripciones de 16-teto de topología superficial.

Las macromoléculas de la figura 9 se describen en términos de 16-tetos usando la nomenclatura topológica alfanumérica de la siguiente manera:

5

Tabla 17A

Figura	nomenclatura topológica alfanumérica
9.1	$\left(\left(\left(R_1 R_1 \right) \left(R_1 R_1 \right) \right)^4 \left(\left(R_2 R_2 \right) \left(R_2 R_2 \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 R_1 \right) \left(R_1 R_1 \right) \right)^4 \left(\left(R_2 R_2 \right) \left(R_2 R_2 \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ $\left(\left(\left(R_1 R_1 \right) \left(R_1 R_1 \right) \right)^4 \left(\left(R_2 R_2 \right) \left(R_2 R_2 \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 R_1 \right) \left(R_1 R_1 \right) \right)^4 \left(\left(R_2 R_2 \right) \left(R_2 R_2 \right) \right)^4 \right)^{8,16}$
9.2	$\left(\left(\left(AA \right) \left(R_1 \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(AA \right) \left(R_1 \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ $\left(\left(\left(AA \right) \left(R_1 \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(AA \right) \left(R_1 \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^{8,16}$
9.3	$\left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ $\left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^{8,16}$
9.4	$\left(\left(\left(AA \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(\emptyset \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ $\left(\left(\left(AA \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(\emptyset \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^{8,16}$
9.5	$\left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(R_2 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(R_2 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ $\left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(R_2 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(R_2 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^{8,16}$

donde:

- hay dos 16-tetos $\left(\left(\left(R_1 R_1 \right) \left(R_1 R_1 \right) \right)^4 \left(\left(R_2 R_2 \right) \left(R_2 R_2 \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 R_1 \right) \left(R_1 R_1 \right) \right)^4 \left(\left(R_2 R_2 \right) \left(R_2 R_2 \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ en la **figura 9.1**;
- 10 • hay 2 16-tetos $\left(\left(\left(AA \right) \left(R_1 \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(AA \right) \left(R_1 \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ en la **figura 9.2**;
- hay dos 16-tetos $\left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ en la **figura 9.3**;
- hay dos 16-tetos $\left(\left(\left(AA \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(BB \right) \left(BB \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(\emptyset \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ en la **figura 9.4**; y
- hay dos 16-tetos $\left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(R_2 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^8 \left(\left(\left(R_1 \emptyset \right) \left(AA \right) \right)^4 \left(\left(R_2 \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \right)^{8,16}$ en la **figura 9.5**.

15 Es posible, entonces, describir las macromoléculas o motivos dendríticos de esta invención que contienen restos de detención en el extremo en términos de la composición (número y tipo) de 16-tetos. Esto se demuestra por claridad en los ejemplos de la figura 9 y se resumen en forma de puntos anteriormente.

20 Cuando un 16-teto va a ensamblarse a partir de tres restos funcionales o restos funcionales de detención en el extremo representados por A, B y D; y al menos una unidad estructural ha sido sustituida por un enlazador o se han usado reacciones de detención en el extremo, esto puede realizarse usando los octetos preferidos, además de usando el octeto de valor nulo $\left(\left(\emptyset \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4 \left(\left(\emptyset \emptyset \right) \left(\emptyset \emptyset \right) \right)^4$ de la manera que se ha demostrado para combinar cuartetos para proporcionar octetos anteriormente.

25 En una realización preferida, las composiciones de macromoléculas o motivos dendríticos incluyen al menos un 16-teto ensamblado a partir de octetos preferidos, incluyendo aquellos octetos que pueden considerarse equivalentes por medio de su topología y composición relativa de dos o tres restos funcionales diferentes. En esta realización preferida, se considera que los símbolos A, B y D representan diferentes restos funcionales o restos funcionales de detención en el extremo.

30

Las macromoléculas o motivos dendríticos de la invención pueden estar unidos a núcleos. En un aspecto preferido de la presente invención, se proporciona una macromolécula que tiene un núcleo y al menos un motivo dendrítico de la fórmula:

35 **Núcleo** $\left[\left[\text{Unidad estructural} \right]_m \left[\text{Unidad estructural superficial} \right]_n \left[\text{Restos funcionales} \right]_p \right]_q$

donde:

- un $\left[\text{unidad estructural} \right]_m \left[\text{unidad estructural superficial} \right]_n \left[\text{restos funcionales} \right]_p$ define un motivo dendrítico;
- 40 el núcleo puede ser cualquier compuesto, partícula o sustrato al que puede unirse el motivo dendrítico. Preferentemente el núcleo contiene uno o más nitrógenos reactivos y se selecciona de entre el grupo que consiste en lisina, un derivado de la misma, un compuesto de diamina, un compuesto de triamina o un compuesto de tetraamina.
- la unidad estructural se selecciona de entre una lisina o análogo de lisina;
- 45 la unidad estructural superficial, que puede ser la misma que, o diferente de la unidad estructural, se selecciona de entre lisina o análogo de lisina o una unidad estructural seleccionada de entre los conjuntos descritos en el presente documento;
- los restos funcionales incluyen dos o más restos funcionales diferentes seleccionados de entre grupos protectores;

ligandos de restos con efecto biológico para receptores extracelulares; modificadores de propiedades; grupos de direccionamiento biológico; grupos de señalización; materiales antigénicos; materiales genéticos; agentes farmacéuticamente activos; grupos adaptados para mediar la unión a una segunda entidad, y enlazadores.

m representa la suma de las unidades estructurales de las capas superficiales del motivo dendrítico y es un número entero de valor: $1 \leq \text{número entero} \leq 64$;

n representa el número unidades estructurales superficiales del motivo dendrítico y es un número entero de valor: $2 \leq \text{número entero} \leq 64$;

p representa el número total de restos funcionales en la superficie de la macromolécula y es un número entero de valor: $4 \leq \text{número entero} \leq 128$; y

10 q representa el número total de motivos dendríticos en el núcleo de la macromolécula y es un número entero de valor: $1 \leq \text{número entero} \leq 10^6$.

Dependiendo del tipo de núcleo, el número de motivos dendríticos que pueden unirse al núcleo es bastante variable.

15 En una realización, más de un motivo dendrítico puede unirse a un núcleo para permitir la construcción de macromoléculas más grandes y más complejas. Por ejemplo, dos motivos dendríticos, que tienen, cada uno, 3 capas subsuperficiales y 1 capa superficial y que portan 16 restos funcionales, pueden unirse a un núcleo divalente, produciendo un macromolécula que tiene dos motivos dendríticos y que portan 32 restos funcionales.

20 En otra realización más, donde el núcleo es los grupos amina reactiva de una superficie macroscópica, por ejemplo: la superficie de un dispositivo de diagnóstico que se utiliza para detección de uno o más analitos, (véase a continuación para más opciones) puede unirse un gran número de motivos dendríticos.

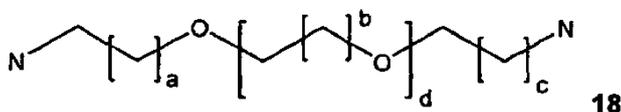
Preferentemente el núcleo es un compuesto de diamina seleccionado de entre benzhidrilamida de lisina u otra amida de lisina o:

25



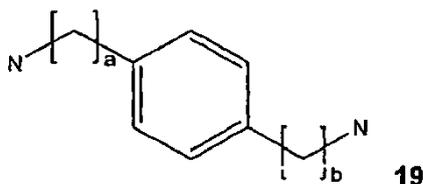
donde a es un número entero de 1 a 9, preferentemente 1 a 5;

30



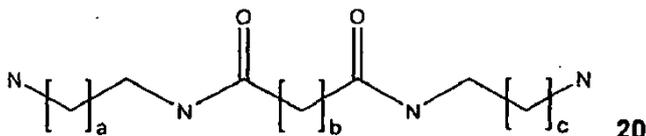
donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1-5, preferentemente 2 o 3 y d es un número entero de 0-100, preferentemente 1-30;

35

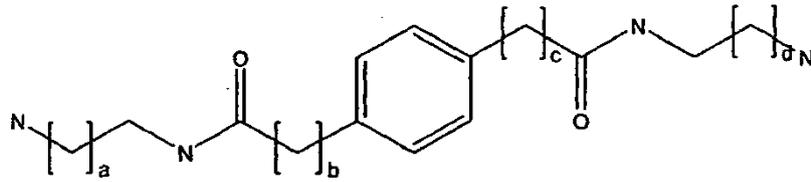


donde a a b, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 5;

40



donde a y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6 y donde c es un número entero de 0-6;

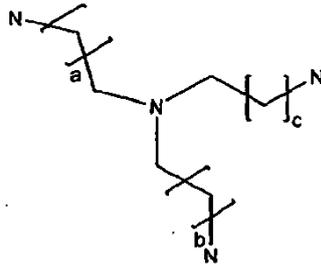


21

donde a y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6 y donde b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0-6.

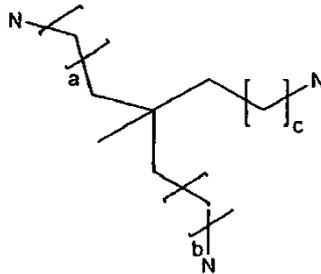
5

un compuesto de triamina seleccionado de entre:



22

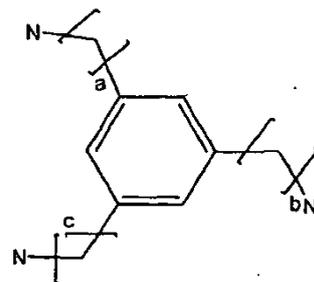
10 donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6;



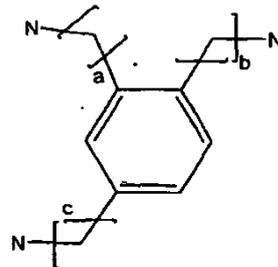
23

donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6;

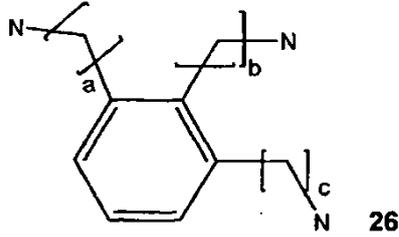
15



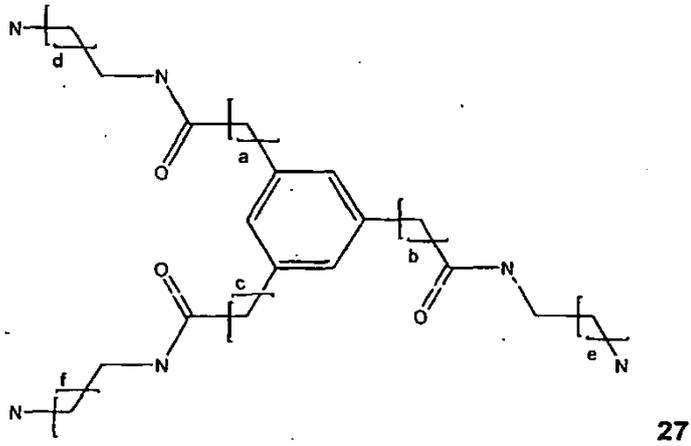
24



25

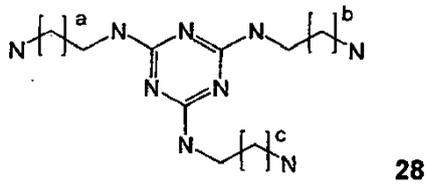


donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6;



5

donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6; y d, e y f, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6.

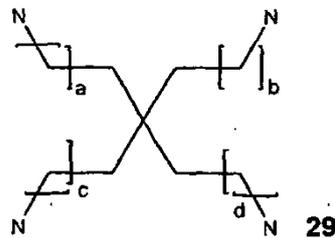


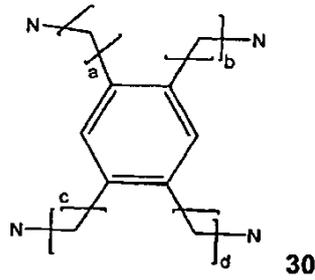
10

donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6.

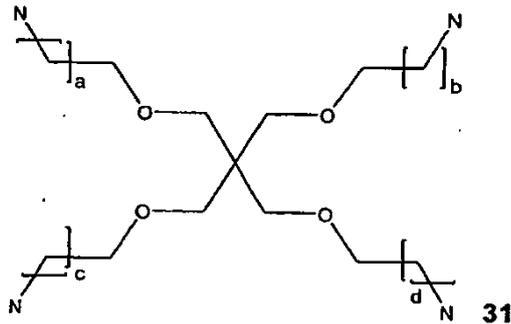
o un compuesto de tetraamina seleccionado de entre

15



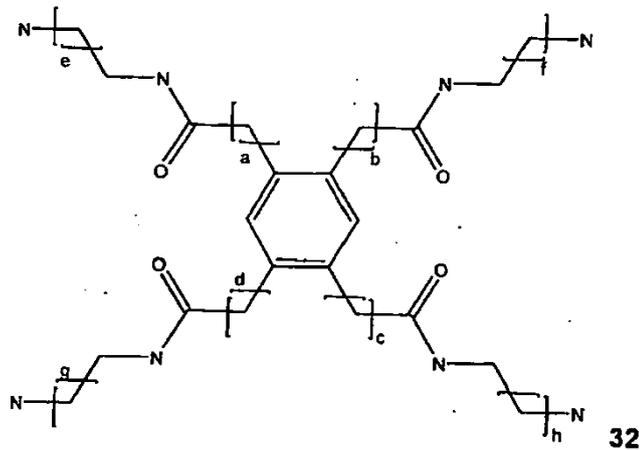


donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6



5

donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6



10

donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6; y e, f, g y h, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6.

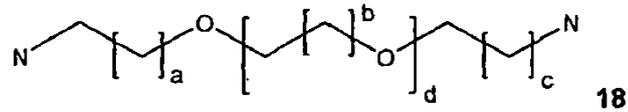
y además, puede entenderse que los restos de cadena alquilo del núcleo incluyen fragmentos de alcoxi como C-O-C o C-C-O-C-C pero no O-C-X donde X es O o N.

Más preferentemente, el núcleo es benzhidrilamido-lisina (BHALys), o un compuesto seleccionado de entre los siguientes:

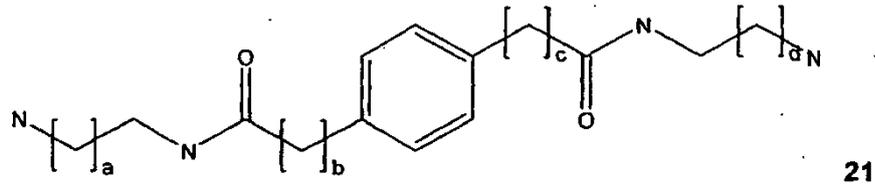


20

donde a es un número entero de 1 a 5;

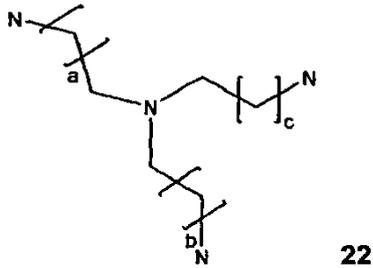


5 donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 2 o 3 y d es un número entero de 1-30;

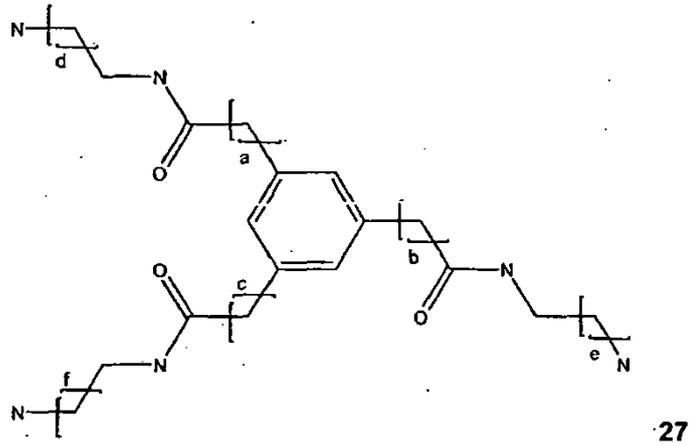


10 donde a y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 o 2 y donde b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0-2.

un compuesto de triamina seleccionado de entre:



15 donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 2;



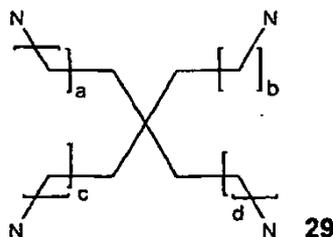
20 donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 2, y donde e y f, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 2.



donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 3.

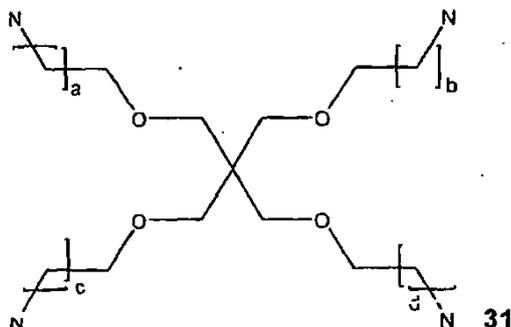
o un compuesto de tetraamina

5



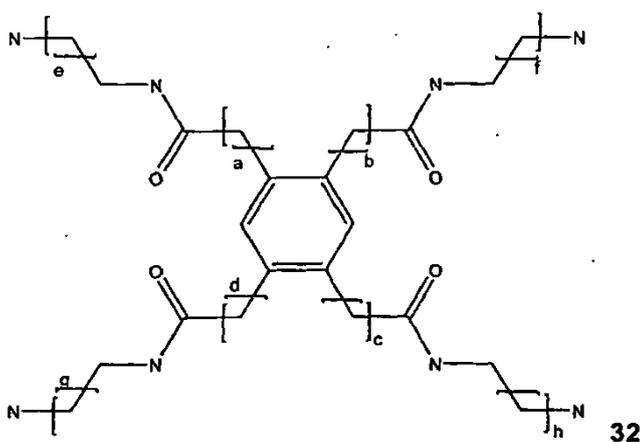
donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 1

10



donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 2

15



donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 2; y e, f, g y h, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 2.

En una realización alternativa, el núcleo puede ser, a su vez, un dendrímero no de lisina. Un dendrímero de poli(amidoamina) (PAMAM), poli(propilenimina) POPAM o polietilenimina (PEI), dendrímeros arborescentes, arborescentes pueden formar el núcleo. En una realización adicional, el núcleo puede ser un polímero lineal, por ejemplo poli-lisina, poli-vinilamina o poli- ω -aminoalquilmetacrilamidas.

En otra realización más, el núcleo puede ser una partícula metálica o no metálica, por ejemplo una partícula de oro o coloide, látex, un óxido metálico, una micela, una vesícula, un liposoma, una "buckyball", un nanotubo de carbono (pared simple y doble), fibra de carbono y sílice. Los núcleos pueden ser grupos capaces de reaccionar, o el motivo dendrítico puede estar modificado para ser unible a cualquier superficie.

En una realización adicional, el núcleo puede ser los grupos reactivos de amina de una superficie macroscópica, por ejemplo: la superficie de un dispositivo de diagnóstico que se utiliza para la detección de uno o más analitos; las superficies de dispositivos médicos; las superficies de los componentes usados en tecnologías de separación, tales como medios o membranas cromatográficas; las superficies de componentes semiconductores usados en dispositivos electrónicos. En otra realización, el motivo dendrítico puede estar modificado para permitir la unión del motivo al núcleo, donde el núcleo no tiene grupos amina reactivos.

Síntesis de macromoléculas

Existen una serie de maneras de sintetizar o "construir" una macromolécula de la presente invención. Preferentemente, la macromolécula es un dendrímero. Un proceso para sintetizar macromoléculas de la presente invención implica la reacción secuencial de un resto central de macromolécula creciente y una o más capas de compuestos estructurales.

Por consiguiente, en un aspecto, se proporciona un proceso para preparar una macromolécula, proceso que incluye

i) proporcionar

una macromolécula creciente que incluye al menos un grupo capaz de reaccionar;

un primer compuesto estructural que tiene una cadena principal de hidrocarburo, y que porta un grupo carbonilo del ápice y al menos un grupo amina que porta un resto funcional que es un grupo protector;

ii) activar el grupo carbonilo del ápice del primer compuesto estructural; y

iii) hacer reaccionar la macromolécula creciente desprotegida con el grupo carbonilo del ápice del primer compuesto estructural.

Las etapas del proceso se reiterarán a continuación hasta que se consiga una macromolécula de las capas subsuperficiales y superficiales deseadas.

Preferentemente, los compuestos estructurales son lisina o análogos de lisina seleccionados de entre los compuestos 1-9 descritos anteriormente; el compuesto estructural superficial es preferentemente una lisina o análogo de lisina seleccionado de entre los mismos compuestos que la unidad estructural, o los compuestos 10-16 tal como también se ha descrito anteriormente. De la manera más preferible, es glutamato o aspartato. Tomando un análogo de lisina como ejemplo para uso en el proceso anterior, el carboxilato del ápice F de los análogos de lisina se activará necesariamente antes de la reacción con un resto amina desprotegido, y cada uno de los grupos amina capaces de reaccionar del análogo de lisina está protegido para prevenir autocondensación. Las aminas capaces de reaccionar de los compuestos estructurales están siempre protegidas cuando el carboxilato del ápice de un compuesto estructural se hace reaccionar con nitrógenos desprotegidos de una macromolécula creciente. Además, la reacción entre aminas desprotegidas y análogos de lisina activados se lleva a cabo siempre de tal manera que se asegure que las aminas desprotegidas han reaccionado completamente con el análogo de lisina seleccionado. Esto se realiza de forma más sencilla usando un exceso estequiométrico del análogos de lisina activado.

Una macromolécula creciente puede ser un núcleo que incluye restos capaces de reaccionar o modificado para tener restos capaces de reaccionar que portan grupos protectores, o un núcleo que tiene al menos una capa de compuestos estructurales, con los que se puede hacer reaccionar capas adicionales de compuestos estructurales. El núcleo puede seleccionarse de entre los compuestos 17 a 32 tal como se ha descrito anteriormente. Como alternativa, el núcleo puede ser un dendrímero de poli(amidoamina) (PAMAM), poli(propilenimina) POPAM o polietilenimina (PEI), dendrímeros arborescentes, arboresoles pueden formar el núcleo, o un polímero lineal, tal como poli-lisina, poli-vinilamina o poli- ω -aminoalquilmetacrilamidas.

En una realización adicional, el núcleo puede ser una partícula metálica o no metálica, por ejemplo una partícula de oro o coloide, látex, un óxido metálico, una micela, una vesícula, un liposoma, una "buckyball", un nanotubo de carbono (pared simple y doble), fibra de carbono y sílice.

En una realización adicional, el núcleo puede ser los grupos reactivos de amina de una superficie macroscópica, por ejemplo: la superficie de un dispositivo de diagnóstico que se utiliza para la detección de uno o más analitos; las superficies de dispositivos médicos; las superficies de los componentes usados en tecnologías de separación, tales como medios o membranas cromatográficas; las superficies de componentes semiconductores usados en dispositivos electrónicos.

Un proceso alternativo para sintetizar la macromolécula de la presente invención incluye la etapa preliminar de

proporcionar la unión de un motivo dendrítico a la macromolécula creciente.

Por consiguiente, en un aspecto de la invención, se proporciona un proceso para preparar una macromolécula, proceso que incluye

5

i) proporcionar

una macromolécula creciente que incluye un primer grupo capaz de reaccionar, al menos uno de los cuales porta un primer resto funcional que es un grupo protector;

10 un compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico que porta al menos dos restos funcionales, teniendo el motivo una capa superficial y al menos una capa subsuperficial, y teniendo una cadena principal de hidrocarburo y portando un grupo carbonilo del ápice;

ii) activar el primer grupo capaz de reaccionar retirando el primer grupo protector;

iii) activar el grupo carbonilo del ápice del motivo dendrítico; y

iv) hacer reaccionar la macromolécula creciente desprotegida con el grupo carbonilo del motivo dendrítico.

15

En una realización, los dos restos funcionales pueden ser iguales o diferente en cada uno de la macromolécula creciente y el compuesto que tiene al menos un motivo dendrítico. A su vez, dependiendo de cuáles son los restos funcionales, la estequiometría del resto funcional puede estar controlada a nivel de superficial y subsuperficial. La estequiometría de resto funcional puede estar controlada mediante el uso de un motivo dendrítico en la cuya superficie se ha establecido estequiometría y topología del grupo protector de amina. Se ha observado que dicho enfoque puede proporcionar macromoléculas de la presente invención que son de alta pureza.

20

Preferentemente, se proporciona una preparación de macromoléculas, donde al menos el 80% de las macromoléculas exhiben la misma estequiometría de grupo funcional antes de cualquier fase final o procesos de purificación final, como resultado del proceso para la preparación.

25

El compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico para uso en el proceso de la presente invención puede prepararse de cualquier manera adecuada. En una realización, se proporciona un proceso para preparar un compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico, procedimiento que incluye:

30

iv) proporcionar

un primer compuesto estructural que incluye un grupo carbonilo del ápice, unido directa o indirectamente a al menos un grupo amina que porta al menos un resto funcional;

un segundo compuesto estructural que incluye un grupo carbonilo del ápice, unido a al menos un grupo amina, portando el compuesto estructural un primer y un segundo resto funcional uno de los cuales está unido al grupo amina;

35

v) activar el grupo amina en el primer compuesto estructural retirando el grupo protector;

vi) activar el carbonilo del ápice del segundo compuesto estructural; y

vii) hacer reaccionar el primer compuesto estructural desprotegido con el grupo carbonilo del ápice del segundo compuesto estructural.

40

El motivo dendrítico preferentemente tiene una capa superficial y dos o más capas, y puede construirse reiterando las etapas anteriores.

45

Como alternativa, el primer compuesto estructural ya puede incluir al menos las capas es decir cuando el grupo carbonilo está unido indirectamente al, al menos, un resto funcional.

El orden de retirada de los grupos protectores puede ser un factor importante en la determinación de la secuencia de reacciones que se pueden usar para preparar macromoléculas y los motivos dendríticos de las mismas que comprenden diferentes grupos protectores de amina, particularmente en aquellos casos donde las condiciones de escisión para un grupo protector de amina pueden causar la pérdida de un grupo protector de amina espectador. Por consiguiente, cuando la macromolécula creciente incluye un segundo grupo capaz de reaccionar que porta un resto funcional que es un grupo protector, y el segundo grupo protector es diferente del primero, el segundo grupo protector es inerte a las condiciones de activación para retirar el primer grupo protector. La tabla de grupos protectores a continuación proporciona el conjunto preferido de grupos protectores de amina resolubles y ortogonales.

50

55

60

Un conjunto de grupos protectores de amina resolubles se definen como aquellos para los cuales existe un orden de retirada, de modo que aquellos grupos que no están destinados a escisión son inertes en las condiciones de escisión. Cuando los grupos protectores se definen como ortogonales, esto significa que cada grupo es inerte en las

condiciones de escisión requeridas para retirar cada uno de los otros grupos del conjunto ortogonal. Grupos protectores de amina ilustrativos pueden encontrarse en las siguientes referencias: Protective groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, John Wiley and Sons, New York 1999, Greene, T.W. and Wuts, P.G.M., Protecting Groups 3rd Edition, Thieme Stuttgart 2004, Kocienski, P.J. Los grupos protectores de amina preferidos pueden 5 seleccionarse a partir de la tabla 18.

Tabla 18: grupos protectores de amina preferidos

Grupo protector ¹	Boc	CBz	Fmoc	2-halo-CBz ²	Alloc	SES	Troc	Ns	DNP	4-Nitro-CBz
Boc	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
CBz	O	O	R (Fmoc)	3	O	O	R (Troc)	R (Ns)	R (DNP)	3
Fmoc	O	R (Fmoc)	O	R (Fmoc)	R (Fmoc)	O	O	3	3	R (Fmoc)
2-halo-CBz ²	O	3	R (Fmoc)	O	O	O	R (Troc)	R (Ns)	R (DNP)	3
Alloc	O	O	R (Fmoc)	R (Fmoc)	O	O	O	O	O	R (Alloc)
Me ₃ SiEtSO ₂ (SES)	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Troc	O	R (Troc)	O	R (Troc)	O	O	O	O	O	R (Troc)
o-NO ₂ PhSO ₂ (Ns)	O	R (Ns)	3	R (Ns)	O	O	O	O	3	O
2,4 dinitrobenzeno-sulfonilo (DNP)	O	R (DNP)	3	R (DNP)	O	O	O	3	O	O
4-Nitro-CBz	O	3	R (Fmoc)	3	R (Alloc)	O	R (Troc)	O	O	O

Notas:

1. Las combinaciones de los grupos protectores enumerados en la primera columna de la tabla con los grupos protectores enumerados en la fila superior de la tabla se definen como "resolubles" (R) u "ortogonales" (O). Cuando una combinación se considera "resoluble", el grupo protector entre paréntesis indica el grupo que debe ser retirado en primer lugar
2. Se refiere a 2-cloro-CBz y 2-bromo-CBz.
3. Combinación ni resoluble ni ortogonal

El proceso para la síntesis del compuesto que incluye un motivo dendrítico de acuerdo con la presente invención puede incluir la retirada de uno o más grupos protectores de amina superficiales para proporcionar uno o más grupos amina reactivos. Estos grupos amina reactivos se hacen reaccionar a continuación con un resto carbonilo. En un ejemplo que usa lisina o un análogo de lisina, el resto carboxilato del precursor de resto funcional será activado para la formación de enlaces amida antes de la reacción o in situ.

Tanto el grupo carboxilato como los grupos amina capaces de reaccionar pueden estar derivatizados para mejorar o disminuir la reactividad de estos grupos. Por ejemplo, el grupo carboxilato puede estar activado como en un derivado de haluro de acilo o un derivado de éster activado (The Peptides, Analysis, Synthesis and Biology Vol 1 Major Methods of Peptide Bond Formation; Academic Press New York 1979 eds Gross, E. y Meienhofer, J., Peptides: Chemistry and Biology. Wiley-VCH Weinheim 2002, Sewald, N. and Jakubke, H-D., The Chemical Synthesis of Peptides Clarendon Press, Oxford 1994, Jones, J.), y los grupos amina capaces de reaccionar pueden protegerse (desactivarse) usando grupos protectores de amina tales como grupos Boc, CBz, 4-nitrobenzoxicarbamato (4-NO₂-CBz) Fmoc, Dde, CF₃CO₂, 2-halo-CBz, Alloc, Me₃SiEtSO₂, Troc, o-NO₂PhSO₂ y 2,4-dinitrobenzeno-sulfonilo .CBz.

En general, un grupo carboxilato libre no es suficientemente reactivo para reaccionar con una amina para formar el

enlace amida, por lo que preferentemente se proporcionan algunos medios que facilitan la deshidratación y, de este modo, conducen la reacción a su finalización. Esto puede conseguirse, por ejemplo, mediante la utilización de uno de dos procedimientos relacionados.

- 5 En el primer procedimiento de activación, el reactivo que contiene el ácido carboxílico se hace reaccionar con un segundo reactivo que contiene un resto hidroxilo en presencia de un reactivo de deshidratación y, en caso necesario, otros agentes de activación, para proporcionar un producto en el que el resto que contiene ácido y el resto que contiene hidroxilo están unidos por un enlace éster. Este producto es conocido como un "éster activo". El reactivo que contiene el resto hidroxilo se selecciona de modo que el éster producto reaccionará fácilmente con
- 10 aminas primarias para formar amidas con la liberación del reactivo mencionado anteriormente que contiene el resto hidroxilo. En algunos casos, el éster activo es suficientemente estable para que pueda ser aislado, purificado y almacenado antes de su uso.

- Los reactivos preferidos que contienen el resto hidroxilo son: p-nitrofenol (y otros derivados de nitro fenol); N-
- 15 hidroxisuccinimida; pentafluorofenol y trifluorofenol. Una lista más completa se proporciona en la página 197 de Sewald (mencionado anteriormente). Agentes deshidratantes preferidos son diciclohexilcarbodiimida (DCC) y N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC).

- En un segundo procedimiento de activación, el reactivo que contiene el grupo carboxilato se puede hacer reaccionar
- 20 "in situ" con un agente de activación para formar una especie de acilo que reacciona adicionalmente con aminas primarias presentes también "in situ" o añadidas después de un tiempo de activación antes apropiado para causar la formación del enlace amida requerida. Los agentes activadores preferidos son (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio (BOP), hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N'-tetrametiluronio (HATU), tetrafluoroborato de O-
- 25 (benzotriazol-1-il)-N,N,N'-tetrametiluronio (TBTU), hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N'-tetrametiluronio (HBTU). Reactivos auxiliares como 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) pueden ser necesarios para facilitar esta reacción, por ejemplo mediante la formación de intermedios activados que se sabe que reaccionan adicionalmente con aminas para formar enlaces amida.

- 30 Cualquier compuesto que contiene una o más aminas reactivas puede hacerse reaccionar con un carboxilato del ápice activado de cualquiera de una unidad estructural o un motivo dendrítico para proporcionar una macromolécula. Es necesario impedir que las aminas capaces de reaccionar de la unidad estructural o motivo dendrítico reaccionen con el carboxilato del ápice activado ya sea mediante el uso adecuado de los grupos protectores de amina, o través de la reacción previa con un resto funcional. Es necesario que el resto funcional sea inerte a la reacción de
- 35 carboxilato del ápice activado con amina reactiva.

Cualquier compuesto que contiene una o más aminas reactivas puede hacerse reaccionar con un un motivo dendrítico activado para proporcionar una macromolécula.

- 40 En una realización, el proceso para la preparación del compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico puede incluir opcionalmente la protección de un grupo carboxilato seleccionado antes de la retirada de los grupos protectores de amina superficiales presentes en la cadena principal de lisina o análogo de lisina. El grupo protector usado como grupo carboxilato protegido es preferentemente estable en las condiciones requeridas para retirar los grupos protectores presentes en las aminas superficiales. Grupos protectores de carboxilato tales como metilo o,
- 45 más preferentemente, ésteres de etilo son adecuados. Grupos protectores de carboxilato ilustrativos pueden encontrarse en las siguientes referencias: Protective groups in Organic Synthesis, 3rd Edition, John Wiley and Sons, Nueva York 1999, Greene, T.W. and Wuts, P.G.M., Protecting Groups 3rd Edition, Thieme Stuttgart 2004, Kocienski, P.J.

- 50 Cuando la síntesis del compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico requiere una etapa de desprotección adicional posterior a la adición de un resto funcional que no es un grupo protector, es importante tener en consideración la estabilidad de este resto funcional hacia las reacciones posteriores. En una secuencia preferida de adiciones de restos funcionales, el segundo resto funcional, que se selecciona, por ejemplo, para modificar la farmacocinética del agente farmacéuticamente activo y/o macromolécula, se añade primero a la cadena principal de
- 55 lisina o análogo de lisina. Por consiguiente, un resto funcional grupo no protector puede ser activado y se hace reaccionar con un grupo amina en el compuesto estructural que ha sido desprotegido. El compuesto estructura-resto funciona se puede hacer reaccionar a continuación con una unidad estructural adicional que está preferentemente ya unida a una macromolécula creciente, es decir, resto funcional no protector se hace reaccionar con el compuesto estructural a continuación se hace reaccionar con el compuesto estructural en la macromolécula creciente. Además,
- 60 en aquellas situaciones donde el agente farmacéuticamente activo se va a unir a la cadena principal de lisina o

análogo de lisina a través de un enlazador lábil (véase a continuación), puede ser necesario activar el carboxilato seleccionado del compuesto estructural antes de la reacción de los grupos amina superficiales desprotegidos de la cadena principal de lisina o análogo de lisina, y además donde el carboxilato seleccionado de la cadena principal de lisina o análogo de lisina está desprotegido será necesario que el grupo carboxilato del agente farmacéuticamente activo-resto enlazador sea activado antes de la presencia de los grupos amina superficiales no protegidos.

El proceso para la síntesis de una macromolécula de la presente invención se continúa a continuación mediante la reacción de aminas no protegidas de una macromolécula creciente con el compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico, o compuestos estructurales individuales. Los restos carboxilato se activarán para la formación de enlace amida antes de la reacción o in situ. En un procedimiento preferido, el resto carboxilato se activa in situ. Este procedimiento es preferible y es posible, a través de la inclusión de agua o de otros donantes de hidroxilo, limitar la formación adventicia de enlaces éster a la macromolécula, donde restos hidroxilo enmascarados están presentes, ya sea en el núcleo de la macromolécula creciente o el compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico o compuestos estructurales individuales

En una realización, el compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico o compuestos estructurales individuales puede unirse a la macromolécula creciente mediante un resto enlazador.

Un proceso para la síntesis de macromoléculas de esta invención pueden incluir la reacción de aminas desprotegidas de una macromolécula creciente con restos enlazadores. El grupo carbonilo del enlazador se activa para la formación de enlace amida antes de la reacción o in situ. Si el grupo enlazador incluye una amina capaz de reaccionar entonces ésta está protegido. Además, la reacción entre aminas desprotegidas de la macromolécula creciente y los enlazadores activados se lleva a cabo de tal manera que se garantice que las aminas desprotegidas se hacen reaccionar completamente con el grupo activado, normalmente mediante el uso del grupo activado en exceso.

Un ejemplo de este enfoque puede verse en la figura 16, donde PNPO-Lys(Boc)₂, el compuesto estructural reactivo, nitrógenos capaces de reaccionar están protegidos con el grupo Boc, y el carboxilato es activado como un éster de para-nitrofenol.

Por consiguiente, un proceso para preparar una macromolécula que tiene estequiometría de resto funcional controlada puede incluir las etapas de:

- (i) proporcionar una macromolécula creciente que incluye un primer grupo capaz de reaccionar, al menos uno de los cuales porta un primer resto funcional que es un grupo protector; y un enlazador que incluye un grupo carbonilo y un grupo capaz de reaccionar;
- (ii) activar el grupo carbonilo en el enlazador;
- (iii) activar el primer grupo capaz de reaccionar en la macromolécula creciente; y
- (iv) hacer reaccionar la macromolécula creciente desprotegida con el grupo carbonilo activado en el enlazador.

A continuación el proceso puede incluir además las etapas de:

- (v) proporcionar un compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico que porta al menos dos restos funcionales, teniendo el motivo una capa superficial y al menos una capa subsuperficial, y teniendo una cadena principal de hidrocarburo y portando un grupo carbonilo del ápice;
- (vi) activar el grupo carbonilo del motivo dendrítico;
- (vii) activar el grupo capaz de reaccionar del enlazador; y
- (viii) hacer reaccionar el grupo carbonilo activado y el enlazador, antes o después de la etapa (iv) del proceso anterior.

En una realización, el grupo capaz de reaccionar del enlazador es una amina capaz de reaccionar que está protegida, y la etapa de activación implica la desprotección del enlazador usando condiciones adecuadas tal como se describen en el presente documento.

En otra realización más, la macromolécula creciente puede hacerse reaccionar con un resto funcional de detención en el extremo, opcionalmente en un enlazador que porta el resto funcional de detención en el extremo. El resto funcional de detención en el extremo también puede activarse para la formación de enlace amida antes de la reacción o in situ.

La macromolécula de la presente invención puede incluir un único punto de unión para cualquiera del primer o segundo resto funcional. De esta manera, una macromolécula se puede sintetizar con un solo primer o segundo resto funcional.

- 5 En una realización alternativa, la macromolécula de la presente invención puede incluir un único punto de unión seleccionado para cualquiera del primer o segundo resto funcional.

Hay procedimientos generales descritos en la técnica para la mono-protección selectiva de moléculas de poliamina. Dichos procedimientos se describen en Krapcho and Kuell Synthetic Commun. 1990 20 2559. En un procedimiento preferido, se preparan macromoléculas con un único punto de unión a partir de un núcleo di- o tri-valente donde sólo uno de los grupos amina reactivos está protegido, y con un grupo protector que es inerte, u ortogonal, en las condiciones que se usan para retirar otros grupos protectores de amina durante el proceso por el cual se construye una macromolécula. Es posible, entonces, llevar a cabo los ciclos iterativos de condensación y desprotección de amina, para construir una macromolécula de 1 a 6 generaciones, más preferentemente de 3 a 5 generaciones, y en la que existe un grupo amina superficial individual que se distingue de los otros grupos amina superficiales por su grupo protector de amina único. Este grupo amina superficial único representa un sitio en el que una molécula individual seleccionada, por ejemplo una proteína o un péptido, un agente farmacéuticamente activo, un resto de señalización, un resto de anclaje o una molécula de direccionamiento, puede estar unido a la macromolécula. En una forma preferida de esta realización, se proporciona una macromolécula que tiene una composición de grupos superficiales controlada, incluyendo la macromolécula una capa superficial, al menos una capa subsuperficial y al menos dos restos funcionales que incluyen

un primer resto funcional unido a un único punto de unión seleccionado en la macromolécula; y

- 25 un segundo grupo de resto funcional;

donde la composición de restos funcionales se refiere al número y tipo de restos funcionales.

En un procedimiento preferido, se retira el grupo protector del grupo amina superficial único, y el grupo amina superficial se hace reaccionar con un derivado de ácido haloacético, o un derivado de maleimida tal como ácido 3-maleimidopropiónico o ácido 4-maleimidobutírico en condiciones en que se forma el enlace amida. Procedimientos generales para el acoplamiento de tiol que contiene péptidos y proteínas a dichos grupos activos tiol se describen en Hermanson, G.T. Bioconjugate Techniques (Academic Press 1996) y las referencias citadas en ese documento, Blatter y col, Biochem., 24: 1517 (1985) and Jue et al, Biochem., 17:5399 (1978).

35

Modelización por ordenador

Además de la notación de par, cuarteto, octeto y 16-teto usada para describir cada isómero topológico diferente, las macromoléculas pueden representarse gráficamente.

40

La simulación por ordenador de las macromoléculas se puede usar para ilustrar la distribución de los restos funcionales, y la estructura tridimensional adoptada por la macromolécula. Dicha ilustración ayuda a demostrar las diferencias que existen entre diferentes isómeros topológicos de macromoléculas que tienen la misma estequiometría de grupo superficial.

45

La modelización molecular molecular de un conjunto (véase la tabla 19) de macromoléculas asimétricas que se construyeron completamente a partir de unidades estructurales de lisina asimétricas se describe en el ejemplo 65. Cada uno de los conjuntos asimétricos contenía los siguientes isómeros topológicos:

50

Tabla 19 Isómeros topológicos usados en el ejemplo 65

Macromolécula	Descripción topológica
Tipo 1: Agrupamiento en 16-tetos	$((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^{8,16})^{4,8,16}$ $((((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4)^8(((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4)^{4,8,16})^{4,8,16}$
Tipo 2: Agrupamiento en octetos	$((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4)^{4,8,16})^{4,8,16}$ $((((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4)^8(((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4)^{4,8,16})^{4,8,16}$
Tipo 3: Agrupamiento en cuartetos	$((((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4)^8(((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4)^{4,8,16})^{4,8,16}$ $((((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4)^8(((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4)^{4,8,16})^{4,8,16}$

Tipo Agrupamiento pares	4:	$(((((AA)(BB))^4((AA)(BB))^{4,8})^4(((AA)(BB))^4((AA)(BB))^{4,8})^{16}))^4(((AA)(BB))^4((AA)(BB))^{4,8})^{16}$
Tipo agrupamiento	5: Sin	$(((((AB)(AB))^4((AB)(AB))^{4,8})^4(((AB)(AB))^4((AB)(AB))^{4,8})^{16}))^4(((AB)(AB))^4((AB)(AB))^{4,8})^{16}$

En general, la simulación de las macromoléculas del ejemplo 65 exhibió distribuciones significativamente diferentes de restos funcionales A y B dependientes del isómero topológico.

5 **Tabla 20. Medias y desviaciones estándar de distancias A-B y su variación con el patrón de agrupamiento.**

Patrón de agrupamiento	Distancia A-B media (Å)	Desviación estándar de la distancia A-B (Å)
Tipo 1	23,16	7,57
Tipo 2	20,81	7,09
Tipo 3	20,83	7,42
Tipo 4	20,62	7,38
Tipo 5	20:14	7,88

La figura 18 muestra la distribución de todas las distancias resto funcional-resto funcional. La diferencia más significativa es entre el agrupamiento de tipo 1 donde los restos funcionales se agrupan en 16-tetos; y el tipo 5 donde no hay agrupamiento. Estos isómeros topológicos se representan gráficamente en las figuras 16 y 17.

10

En casos donde los grupos terminales poseen diferentes cargas electrostáticas, una división del dendrímero en regiones distintas dará como resultado una molécula de dendrímero polarizada. Esto puede medirse mediante el cálculo de las distancias entre los centros de carga de los diversos restos funcionales/restos funcionales. Los resultados de estos cálculos se representan en la figura 19, se puede observar a partir de este gráfico que el

15

agrupamiento a nivel de 16-teto y octeto proporciona una distancia significativamente más grande entre el centro de masa de los diferentes restos funcionales que las topologías de agrupamiento más pequeñas.

Aplicaciones de las macromoléculas

20 Dependiendo de la macromolécula y los restos funcionales en la unidad estructural o unidad estructural superficial, las macromoléculas pueden tener un gran número de usos profilácticos y/o terapéuticos, particularmente cuando se formulan como una composición farmacéutica. Por consiguiente, se proporciona una composición farmacéutica que incluye una macromolécula que tiene un resto funcional controlado estequiométricamente, que incluye

25 al menos un motivo dendrítico que tiene una capa superficial formada a partir de al menos una unidad estructural superficial y al menos una capa subsuperficial formada a partir de al menos una unidad estructural, teniendo la unidad estructural superficial y las unidades estructurales una cadena principal de hidrocarburo que porta un grupo carbonilo y al menos un grupo amina; y

30 al menos dos restos funcionales diferentes en la unidad estructural y/o la unidad estructural superficial;

donde estequiometría de resto funcional se refiere al número y el tipo de restos funcionales; y un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 En una realización de este aspecto de la invención, la macromolécula tiene una topología controlada, donde topología se refiere a la relación entre los restos funcionales.

Los transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse de entre cualesquiera transportadores o excipientes conocidos en función de la vía de administración seleccionada para el principio activo.

40

La composición farmacéutica puede formularse para administración oral, inyectable, rectal, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular u otra. La composición farmacéutica puede formularse en forma de comprimido, cápsula, cápsula dura, vial con ampolla inyectable, o solución lista para usar, material liofilizado, supositorio, embolada o implante.

45

Las macromoléculas y composiciones de la presente invención son adecuadas para administración de cualquier manera adecuada, por ejemplo, parenteral (incluyendo intravenosa, intramuscular, subcutánea), por vía oral, por vía intraperitoneal, por vía tópica (piel), bucal, por vía vaginal, por vía rectal, a la superficie de la piel, transdérmica (preparación de liberación lenta), en el espacio articular, por vía intranasal, por aerosol, por administración pulmonar,

y directamente a una parte del cuerpo.

Es especialmente ventajoso formular la composición farmacéutica de la presente invención en forma de dosis unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Las especificaciones para las formas unitarias de dosificación usadas en la presente invención pueden ser determinadas por un experto en la materia dependiendo de, por ejemplo (a) las características únicas del ingrediente activo y el efecto terapéutico particular a conseguir, y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de mezclar dicho ingrediente activo para el tratamiento particular.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden presentarse convenientemente como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución, una suspensión o como una emulsión. El ingrediente activo también puede presentarse como una embolada, electuario o pasta. Los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden contener excipientes convencionales tales como agentes aglutinantes, cargas, lubricantes, disgregantes, o agentes humectantes. Los comprimidos se pueden revestir según procedimientos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas orales pueden estar, por ejemplo, en forma de suspensiones acuosas u oleosas, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o se pueden presentar como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos, que pueden incluir aceites comestibles o conservantes.

La macromolécula de acuerdo con la presente invención también puede formularse para administración parenteral por inyección, por ejemplo inyección en embolada, o infusión continua, y puede presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen o en contenedores multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden asumir formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos u acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico de sólido estéril o por liofilización de la solución, para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua libre de pirógenos estéril, antes del uso.

Para la administración tópica a la epidermis, la macromolécula de acuerdo con la invención se puede formular como una pomada, crema o loción, o como un parche transdérmico.

Las pomadas y cremas pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones pueden formularse con una base acuosa o aceitosa, y en general también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o goma de tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo en un transportador líquido adecuado.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración rectal en las que el transportador es un sólido se presentan de la forma más preferente como supositorios de dosis unitaria. Los transportadores adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales usados comúnmente en la técnica, y los supositorios pueden formarse convenientemente mediante mezcla de la macromolécula con el uno o más transportadores ablandado o fundidos, seguida de enfriamiento y moldes de conformación.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizadores que contienen, además del ingrediente activo, transportadores tales como se conoce en la técnica que son apropiados.

Para la administración al tracto respiratorio, incluyendo administración intranasal, la macromolécula de acuerdo con la presente invención se puede administrar por cualquiera de los procedimientos y formulaciones empleadas en la técnica para la administración al tracto respiratorio.

Por lo tanto, en general, la macromolécula de acuerdo con la presente invención se puede administrar en forma de una solución o una suspensión o como un polvo seco.

Las soluciones y suspensiones serán generalmente acuosas, por ejemplo, preparadas a partir de agua sola (por ejemplo agua estéril o libre de pirógenos) o agua y un codisolvente fisiológicamente aceptable (por ejemplo etanol, propilenglicol o polietilenglicoles tales como PEG 400).

5

Dichas soluciones o suspensiones pueden contener, adicionalmente, otros excipientes por ejemplo conservantes (tales como cloruro de benzalconio), agentes solubilizantes/tensioactivos tales como polisorbatos (por ejemplo., Tween 80, Span 80, cloruro de benzalconio), agentes tamponantes, agentes de ajuste de isotonicidad (por ejemplo cloruro sódico), potenciadores de la absorción y potenciadores de viscosidad. Las suspensiones pueden contener además agentes de suspensión (por ejemplo celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa sódica).

Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal mediante medios convencionales, por ejemplo con un cuentagotas, pipeta o pulverización. Las formulaciones pueden proporcionarse en forma única o multidosis. En el último caso deseablemente se proporciona un medio de medición de dosis. En el caso de un cuentagotas o pipeta esto puede conseguirse por el paciente administrando un volumen predeterminado apropiado de la solución o suspensión. En el caso de un pulverizador, esto puede conseguirse por ejemplo por medio de una bomba de pulverización por atomización dosificadora. La administración al tracto respiratorio también puede lograrse por medio de una formulación de aerosol en la que la macromolécula de acuerdo con la presente invención se proporciona en un envase presurizado con un propelente adecuado, tal como un clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. Más preferentemente, el propelente es un HCFC tal como R134a o R125. El aerosol también puede contener convenientemente un tensioactivo tal como lecitina. La dosis de fármaco puede controlarse mediante la provisión de una válvula dosificadora.

Como alternativa, la macromolécula de acuerdo con la presente invención puede proporcionarse en forma de un polvo seco, por ejemplo una mezcla de polvo de la macromolécula de acuerdo con la presente invención en una base de polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropilmetilcelulosa - 14 y polivinilpirrolidina (PVP). Convenientemente, el transportador en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo puede presentarse en forma de dosis unitaria, por ejemplo en cápsulas o cartuchos de, por ejemplo, gelatina, o envases blíster a partir de los cuales el polvo se pueden administrar por medio de un inhalador.

Las composiciones de la presente invención también se pueden usar en combinación con enfoques terapéuticos existentes y aceptados como terapia adyuvante. Por ejemplo, pueden utilizarse con fármacos antibacterianos, fármacos antivirales o fármacos antifúngicos. En artritis reumatoide y afecciones relacionadas, enfermedad de Behcet, enfermedad intestinal inflamatoria y psoriasis, pueden usarse con esteroides y fármacos modificadores de la enfermedad como metotrexato o anticuerpos terapéuticos modificadores de la enfermedad. En el tratamiento del rechazo del trasplante de órganos, y en enfermedad de injerto contra huésped, se pueden usar con esteroides y/o ciclosporina y/o FK506 y/o azatioprina y/o tacrolimus y/o sirolimus y/o basiliximab y/o daclizumab.

Transportadores, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen disolventes convencionales, medios de dispersión, cargas, transportadores sólidos, soluciones acuosas, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y potenciadores o que retrasan de la absorción. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica, y se describe, a modo de ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Company, Pennsylvania, USA. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, su uso en la composición farmacéutica de la presente invención se contempla. Ingredientes activos suplementarios también se pueden incorporar en la composición.

La composición farmacéutica se puede preparar mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia. Dichos procedimientos incluyen la etapa de poner el componente activo en asociación con un transportador, diluyente o excipiente, que puede incluir uno o más excipientes accesorios. Por ejemplo, la composición se puede preparar asociando uniforme e íntimamente el componente activo con un transportador líquido, un vehículo sólido finamente dividido, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.

La macromolécula de la presente invención se puede administrar en cantidades profiláctica o terapéuticamente eficaces. Una cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz significa la cantidad necesaria para, al menos en parte, alcanzar el efecto deseado, o para retrasar la aparición de, inhibir la progresión de, o detener por completo, la aparición o progresión de la afección particular que está siendo tratada. Dichas cantidades dependerán, por supuesto, de la afección particular que está siendo tratada, la gravedad de la afección y los parámetros individuales del paciente incluyendo edad, condición física, tamaño, peso y tratamiento concurrente. Estos factores son bien

conocidos por los expertos en la materia y pueden ser abordados con no más que experimentación de rutina. En general se prefiere que se use una dosis máxima, es decir, la dosis segura más alta de acuerdo con un juicio médico sólido. Se entenderá por los expertos en la materia, sin embargo, que una dosis más baja o una dosis tolerable se pueden administrar por razones médicas, razones psicológicas o por virtualmente cualquier otra razón.

5

Generalmente, las dosis diarias de la macromolécula puede ser de aproximadamente 0,01 mg/kg por día a 1000 mg/kg por día. Se pueden administrar inicialmente dosis pequeñas (0,01-1 mg), seguidas por dosis crecientes hasta aproximadamente 1000 mg/kg por día. En el caso de que la respuesta en un sujeto sea insuficiente a dichas dosis, se pueden emplear dosis incluso mayores (o dosis mayores eficaces por una vía de administración diferente, más localizada) en la medida que permita la tolerancia del paciente. Las dosis múltiples por día se contemplan para lograr niveles sistémicos apropiados de los compuestos.

En una realización preferida adicional, transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden seleccionar de entre uno o más de soluciones, suspensiones y emulsiones salinas acuosas estériles, incluyendo solución salina y medios tamponados, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, y solución de Ringer lactato. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de fluidos y nutrientes, reponedores de electrolitos, tales como los basados en dextrosa de Ringer, y similares. Para la administración por vías no intravenosas, el transportador puede estar en forma de plasma coagulado, preferentemente plasma coagulado del paciente. Como alternativa, el transportador puede ser un sólido o semi-sólido biodegradable, fisiológicamente compatible, libre de plasma, tal como un gel, suspensión o gel soluble en agua. Suspensiones o geles de goma arábica, metilcelulosa y otros derivados de celulosa, alginato de sodio y tragacanto son adecuados para uso como transportadores en la puesta práctica de esta invención, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio al 2,5%, tragacanto al 1,25% y goma guar al 0,5%.

Una serie de aplicaciones no limitantes para las macromoléculas de acuerdo con la presente invención se puede ilustrar como sigue:

1. Macromolécula anti-microbios de transmisión sexual

En un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una macromolécula que tiene una estequiometría de resto funcional controlada que incluye al menos un motivo dendrítico que tiene una capa superficial formada a partir de al menos una unidad estructural superficial y al menos una capa subsuperficial formada a partir de al menos una unidad estructural, teniendo la unidad estructural superficial y unidades estructurales una cadena principal de hidrocarburo que porta un grupo carbonilo y al menos un grupo amina y al menos dos restos funcionales diferentes en la unidad estructural y/o unidad estructural superficial; portando al menos uno de los restos funcionales un residuo sulfato, sulfonato, fosfato, fosfonato, carboxilo o carbonilo aromático o heterocíclico, o derivado del mismo, y que muestran un enriquecimiento en una estequiometría de resto funcional seleccionada, donde estequiometría de resto funcional se refiere al número y tipo de restos funcionales.

La solicitud de patente internacional no PCT/AU02/00407 (WO 02/079299), de los solicitantes, describe una clase de dendrímeros (macromoléculas altamente ramificadas con una envuelta definida de grupos superficiales polianiónicos o catiónicos) que han mostrado exhibir un rango de actividad antiviral y antimicrobiana con toxicidad mínima. Estas macromoléculas actúan para prevenir la infección de las células del organismo huésped al interferir en la unión del microbio infeccioso al huésped.

45

A pesar de estos avances en la técnica, sigue habiendo dificultades con respecto a la potencia de estas macromoléculas, en particular con respecto a las diferencias en la potencia entre sistemas de ensayo in vitro y en sistemas de ensayo in vivo. Estas macromoléculas se formulan principalmente en forma de composiciones con un único resto funcional en la superficie.

50

La presentación de una multiplicidad de restos funcionales en la superficie de una macromolécula con control sobre la topología y la estequiometría de los diferentes restos funcionales se hace posible a través de la aplicación de esta invención. En una realización preferida, el primer resto funcional es un resto aromático o heteroaromático que incluye al menos uno y preferentemente dos residuos aniónicos por resto funcional. El papel del segundo resto funcional es proporcionar un segundo mecanismo por el que la macromolécula se puede unir a las dianas a través de las cuales está mediada la infección microbiana, y se consigue eficacia antimicrobiana cuando se mejora esta unión. En una realización preferida de esta invención, el segundo resto funcional tiene propiedades lipófilas.

Por ejemplo, la macromolécula de acuerdo con este aspecto de la presente invención puede ser útil en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de ITS que incluyen una o más de virus de inmunodeficiencia humana - I y II

60

(VIH), virus del herpes simple 1 y 2 (VHS), citomegalovirus (CMV), Virus Varicela Zoster (VZV), virus de Epstein-Barr (VEB). Virus de la hepatitis A, B, C y D, virus del papiloma humano (VPH), Chlamydia trachomatis, Candida albicans, Trichomonas vaginalis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum, Calymmato bacterium granulomatis, Haemophilus ducreyi, Sarcoptes scabiei, Phthirus pubis, Mycoplasma, Gardnerella vaginalis, y otros patógenos
5 microbianos.

La macromolécula de acuerdo con la presente invención puede exhibir eficacia in vivo significativa, toxicidad y farmacocinética mejoradas con respecto a la técnica anterior.

10 En una realización preferida, se proporciona una composición para el tratamiento profiláctico o terapéutico de infecciones de transmisión sexual, que incluye una macromolécula que tiene una estequiometría de resto funcional controlada, que incluye

al menos un motivo dendrítico que tiene una capa superficial formada a partir de al menos una unidad estructural
15 superficial y al menos una capa subsuperficial formada a partir de al menos una unidad estructural, teniendo la unidad estructural superficial y las unidades estructurales una cadena principal de hidrocarburo que porta un grupo carbonilo y al menos un grupo amina; y

al menos dos restos funcionales diferentes en la unidad estructural y/o unidad estructural superficial; donde
20 estequiometría de resto funcional se refiere al número y tipo de restos funcionales; y

opcionalmente un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un ejemplo de dicha macromolécula es BHALys [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈ [ε-Boc]₈ que se describe en
25 el ejemplo antimicrobiano 9 y se ilustra en la figura 11.

Deseablemente, el segundo resto o restos funcionales se pueden seleccionar de entre uno o más de los siguientes: restos alquilo de C1 a C20, ramificados o de cadena lineal, sistemas de anillos cicloalquilo tales como ciclohexilo, decalina, y los diversos armazones esteroideos incluyendo ácidos cólicos y ácidos desoxicólicos, bencilo, naftilo,
30 tiofenos o otros restos aromáticos policíclicos; piridinas, quinolinas e isoquinolinas, pirroles e indoles, imidazoles, oxazoles, pirazoles, piridazinas, pirimidinas y quinazolininas, pirazinas y quinoxalinas; todos opcionalmente sustituidos adicionalmente con restos amina, hidroxilalquilo o halógeno, donde dicha sustitución no produzca un material químicamente lábil.

35 Se prefiere un grupo hidrófobo, tal como un alquilo C1 a C10, sistemas de anillos tales como ciclohexilo, y las diversas armazones esteroideos incluyendo ácidos cólicos y ácidos desoxicólicos, bencilo, piridina o imidazol.

En una realización preferida adicional, las macromoléculas se enriquecen en una estequiometría relativa del resto funcional aniónico respecto al resto funcional hidrófobo en el intervalo de 63:1 hasta 16:48, más preferiblemente la
40 estequiometría relativa está en el intervalo de 60:4 hasta 1:1.

En una realización preferida adicional, las macromoléculas se pueden seleccionar de entre una preparación de macromoléculas enriquecidas en topologías seleccionadas de entre: restos aniónicos agrupados a nivel de pares o cuartetos u octetos o pares de la forma (AB) donde A es un resto funcional aniónico y B es un resto hidrófobo.
45

El segundo resto funcional puede estar conectado directamente a la macromolécula o puede estar conectado a la macromolécula mediante un enlazador no escindible.

En un aspecto preferido de esta realización de la presente invención, se proporciona una macromolécula de fórmula:
50



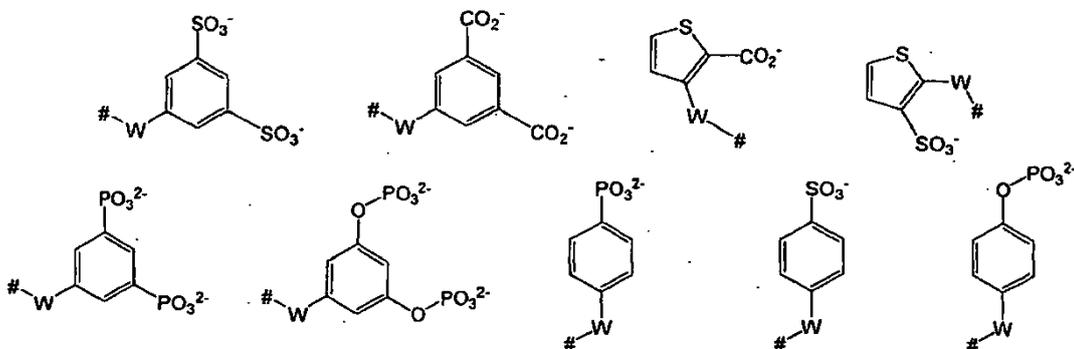
donde:

55 El núcleo se selecciona de entre el grupo que consiste en lisina, o un derivado de la misma, un compuesto de diaminoalcano, o un compuesto de trialkiltetraamina al que se añade la primera capa de unidades estructurales (abajo);

la unidad estructural se selecciona de entre lisina o análogo de lisina;

la unidad estructural superficial, que puede ser igual o diferente de la de la unidad estructural, se selecciona de entre
60 lisina o análogo de lisina;

los restos funcionales incluyen dos o más grupos diferentes, teniendo un primer resto funcional la estructura de uno o más de los siguientes:



5

donde W representa un grupo funcional unido a una amina superficial de la macromolécula y se selecciona de entre C(O) o S(O)₂

10 y;

un segundo resto funcional seleccionado de entre uno o más del grupo que consiste en modificadores de propiedades, restos alquilo de C1 a C20, ramificados o de cadena lineal, sistemas de anillos cicloalquilo tales como ciclohexilo, decalina, y los diversos armazones esteroideos incluyendo ácidos cólicos y ácidos desoxicólicos, bencilo, naftilo, tiofenos o otros restos aromáticos policíclicos; piridinas, quinolinas e isoquinolinas, pirroles e indoles, imidazoles, oxazoles, pirazoles, piridinas y quinazolinas, pirazinas y quinoxalinas; todos opcionalmente sustituidos adicionalmente con restos amina, hidroxilalquilo o halógeno, donde dicha sustitución no produzca un material químicamente lábil;

20 m representa la suma de unidades estructurales de las capas subsuperficiales de la macromolécula y es un número entero de 1 a 64;

n representa el número de unidades estructurales superficiales con una o más capas superficiales de la macromolécula y es un número entero de 2 a 64;

25

p representa el número de restos funcionales en la capa superficial de unidades estructurales y es un número entero entre 0 y 64.

La macromolécula, o precursor de la misma puede seleccionarse de entre las siguientes

30

BHALys [Lys]₄ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε-COC₅H₁₁]₄
 BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₁]₄ [ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄
 BHALys [Lys]₄ [α-CO-4-PhSO₃Na]₄ [ε-Hexil]₄
 DAH [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈ [ε-COC₅H₁₁]₈

35

BHALys [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈ [ε-CBz]₈
 BHALys [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈ [ε-CBz]₈
 DAH [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈ [ε-COC₅H₁₁]₈
 BHALys [Lys]₈ [α-CO-4-Ph(SO₃Na)]₈ [α-CBz]₈

40

BHALys [Lys]₁₆ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₁₆ [ε-CBz]₁₆
 BHALys [Lys]₁₆ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₁₆ [α-CBz]₁₆
 BHALys [Lys]₁₆ [α-CO-4-Ph(SO₃Na)]₁₆ [α-CBz]₁₆

BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂
 BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [α,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂

45

BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄
 BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [α,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄
 BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₆

BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [Lys]₃ [Boc]₆
 BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₆ [ε,ε-CBz]₂
 BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂

- 5 La macromolécula puede utilizarse en una composición para el procedimiento de uso para el tratamiento profiláctico o terapéutico de infecciones de transmisión sexual, que incluye administrar a un paciente mamífero de una cantidad efectiva de la composición, tal como se ha descrito anteriormente. La macromolécula anti-microbios de transmisión sexual también se puede usar en una composición para el tratamiento profiláctico o terapéutico de una infección de transmisión sexual en un paciente mamífero. Preferentemente, el mamífero es un ser humano.

10

2. Macromolécula de sustento de fármacos

Una macromolécula de acuerdo con la presente invención puede servir como una plataforma de administración de fármacos mejorada con perfiles farmacocinéticos y de liberación definidos.

15

Muchos fármacos fallan en los ensayos clínicos, ya sea debido a que sus propiedades físicas (en particular la solubilidad) los hacen difíciles de formular; o debido a un índice terapéutico malo, que conduce a efectos tóxicos durante las altas concentraciones de fármaco que se producen justo después de la dosificación.

- 20 Hay muchas tecnologías emergentes que tratan de proporcionar un vehículo de administración de fármacos que actuará para superar la mala solubilidad del fármaco mediante la captura del fármaco en algún tipo de matriz o partícula soluble; y reducir la toxicidad a través de liberación controlada o dirigiendo el fármaco al sitio de la enfermedad antes de la liberación.

- 25 Se ha demostrado que es posible controlar la farmacocinética de una macromolécula mediante la manipulación del tamaño del grupo PEG superficial. En la macromolécula de la figura 15 el fármaco de interés se une covalentemente a la macromolécula a través de un enlazador que se escinde de manera compatible con el tratamiento de la enfermedad (es decir, se hidroliza lentamente en plasma o se escinde específicamente en el sitio de la enfermedad).

- 30 En una realización preferida, la macromolécula de acuerdo con la presente invención incluye uno o más agentes farmacéuticamente activos diferentes, derivados de los mismos, precursores de los mismos, o residuos de los mismos, como restos funcionales. Las macromoléculas de acuerdo con este aspecto de la presente invención pueden tener aplicación en la terapia de combinación.

- 35 El agente farmacéuticamente activo puede ser un agente anti-tumoral seleccionado de entre uno o más de los siguientes:

rituximab, oxaliplatino, docetaxel, gemcitabina, trastuzumab, irinotecán, paclitaxel, bevacizumab, carboplatino, cetuximab, doxorubicina, pemetrexed, epirubicina, bortezomib, topotecán, azacitidina, vinorelbina, mitoxantrona, fludarabina, doxorubicina, alemtuzumab, carmustina, ifosfamida, idarrubicina, mitomicina, fluorouracilo, cisplatino, metotrexato, melfalán, arsénico, denileucina difitox, citarabina, levofolinato de calcio, ciclofosfamida, etopósido, Viscum album, mesna, gemtuzumab, ozogamicina, busulfán, pentostatina, cladribina, bleomicina, daunorubicina, bendamustina, dacarbazina, raltitrexed, vincristina, fotemustina, fosfato de etopósido, porfímero sódico y vinblastina.

- 45 Los agentes farmacéuticamente activos pueden ser una combinación de uno cualquiera o más de las categorías ejemplificadas en la tabla 1A o B, y / o agentes anti-tumorales enumerados anteriormente.

Las combinaciones ejemplares incluyen, aunque no se limitan a, combinaciones de: productos farmacéuticos quimioterapéuticos; productos farmacéuticos antiinflamatorios y productos farmacéuticos anti-artríticos; productos terapéuticos para obesidad y productos terapéuticos de diabetes; hormonas de crecimiento y promotores del crecimiento: relajantes musculares y antiinflamatorios; productos farmacéuticos respiratorios y broncodilatadores o antimicrobianos; productos quimioterapéuticos y vitaminas.

50

3. Macromolécula antiinflamatoria

55

Una respuesta inflamatoria se produce en respuesta a infección, respuestas inmunitarias y traumatismo. Los diversos procesos celulares implicados en la respuesta de inflamación proporcionan dianas para potenciales terapias antiinflamatorias. Los fármacos antiinflamatorios usados más comúnmente son los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). La mayoría de los AINE actúan como inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa (COX), lo que significa que ambas isoformas COX-1 y COX-2 de la enzima son dianas. Sin embargo,

60

un subconjunto de los AINE se dirigen selectivamente a la COX-2. Los fármacos antiinflamatorios esteroideos actúan mediante la unión a receptores de cortisol.

5 La unión de la proteína a carbohidratos de la superficie celular es un desencadenante clave de la respuesta inflamatoria. Por lo tanto, las interacciones receptor-ligando entre los carbohidratos y las proteínas son también un mecanismo potencial para ser diana en la modificación de la respuesta inflamatoria.

10 Los tratamientos para inhibir una respuesta inflamatoria están, a menudo, limitados por la incapacidad para dirigirse al área de la inflamación con una concentración suficientemente alta de un fármaco antiinflamatorio y/o la baja solubilidad en agua del fármaco antiinflamatorio. Otras desventajas son la mala absorción, baja biodisponibilidad, inestabilidad, efectos secundarios sistémicos debido a una incapacidad para dirigir los fármacos, e incapacidad de controlar su biodistribución, metabolismo y aclaramiento renal o hepático, una vez administrado. Además, el perfil terapéutico de muchos fármacos antiinflamatorios ya en el mercado podría mejorarse proporcionando formulaciones con una mejor biodisponibilidad, direccionamiento, etc.

15 Sería útil poder proporcionar agentes anti-inflamatorios deseablemente en una forma con toxicidad reducida y/o direccionamiento mejorado al sitio de acción y/o biodisponibilidad mejorada.

20 Por consiguiente, la macromolécula de la presente invención puede usarse como vehículos de administración para agentes moduladores de la respuesta inflamatoria, tales como fármacos antiinflamatorios o hidratos de carbono. Dichas macromoléculas tienen el potencial de proporcionar sistemas de administración multivalentes para agentes que tienen una función antiinflamatoria potencial, debido a la capacidad de los agentes individuales o múltiples de participar en interacciones polivalentes con, por ejemplo, receptores de la superficie celular. La macromolécula de la presente invención también puede utilizarse para combatir simultáneamente diferentes aspectos de la respuesta
25 inflamatoria y respuestas relacionadas mediante la combinación de dos o más agentes activos en el mismo vehículo de administración para conseguir un tratamiento más rápido y más eficaz.

Un ejemplo de dicha macromolécula se ilustra en la figura 21; véase también el ejemplo 66.

30 Las macromoléculas de la presente invención pueden incluir restos funcionales que son agentes moduladores de la respuesta inflamatoria. Estos actúan para inhibir la producción de quimiocinas y/o citocinas proinflamatorias, o pueden inhibir la acción de un segundo mensajero implicado en la respuesta inflamatoria, tales como una prostaglandina. Los inhibidores adecuados de prostaglandina incluyen inhibidores no selectivos y selectivos de la ciclooxigenasa (COX). El agente modulador de la respuesta inflamatoria puede actuar, como alternativa, inhibiendo
35 el metabolismo de fosfolípidos y la supresión de la respuesta inmunitaria o mediante la inhibición de la síntesis mediada por el receptor de citoquinas y/o quimiocinas proinflamatorias.

40 El agente modulador de la respuesta inflamatoria puede ser un esteroide; un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo; un agente que modula las interacciones receptor-ligando de la superficie celular u otro agente capaz de modular las actividades celulares responsables de la respuesta inflamatoria. Por ejemplo, el agente modulador de la respuesta inflamatoria puede ser un sacárido u oligosacárido que contiene restos de carbohidrato seleccionados de entre: glucosamina, ácido siálico, manosa, furanosa, ácido glucurónico, ácido idurónico, galactosa; o análogos o derivados
O- o N-sulfatados de los mismos.

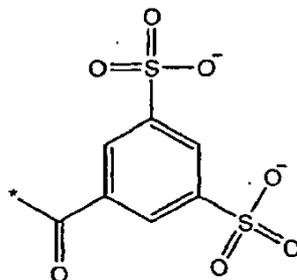
45 Ejemplos adicionales de agentes moduladores de la respuesta inflamatoria que pueden usarse en la presente invención incluyen, aunque no se limitan a, los siguientes:

diclofenaco; diflunisal; etodolaco; fenoprofeno; floctatenine; flurbiprofeno; ibuprofeno; indometacina; ketoprofeno; meclofenamato; ácido menámico; molicam; nabumentona; naproxeno; oxaprozina; fenilbutazona; piroxicam;
50 sulindac; tenoxicam; ácido tiaprofénico; tolmetina; celecoxib; valdecoxib; rofecoxib; glucosamina; glucocorticoides; y corticosteroides, tales como beclometasona, budesonida, dexametasona, fluticasona, prednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, triamcinolona e hidrocortisona.

55 La macromolécula puede modificarse para incluir un segundo resto funcional. El segundo resto puede ser capaz de modular una respuesta inflamatoria. Como alternativa, el segundo resto puede tener una actividad terapéutica o profiláctica complementaria, o puede modificar las características de la macromolécula, proporcionando, por ejemplo, la orientación de la macromolécula, el aumento de la semi-vida en plasma, o una toxicidad reducida.

60 La formación de cicatrices después de una lesión o cirugía es resultado de una combinación de una respuesta inflamatoria y una respuesta de angiogénesis que promueve la proliferación de fibroblastos. El uso de una

combinación de un agente antiinflamatorio junto con un agente antiangiogénesis como grupos terminales en la macromolécula de acuerdo con la presente invención puede permitir el direccionamiento simultáneo a ambos mecanismos responsables de la formación de cicatrices. Un ejemplo de agentes anti-angiogénicos que pueden estar incluidos como un grupo terminal es glucosamina-6-sulfato (Shaunak y col., 2004). Un ejemplo adicional de un resto funcional que tiene la función de anti-angiogénico se proporciona en AU2005905858 y se representa como sigue:



En una realización adicional, la macromolécula incluye un segundo grupo funcional que se dirige a la macromolécula a una célula y/o tipo de tejido específico. Ejemplos de grupos de direccionamiento incluyen ligandos para marcadores de la superficie celular específicos para tipos de células particulares, por ejemplo: moléculas de adhesión celular (CAM), tales como E-selectina, P-selectina, VCAM-1, ICAM-1, integrinas, receptores de quimiocinas tales como CCR3, CXCR1, CXCR3; receptores para citocinas tales como IL-1, TNF-alfa, TGF-beta, IL-6, IL-2; receptores para factores de crecimiento tales como VEGF y FGF; Receptores de tipo Toll; ligando CD40 (superfamilia de TNF); proteína de choque térmico 70 (HSP70); receptores de Fc tales como FcRII; moléculas procoagulantes, tales como el factor tisular (TF) y glucoproteínas plaquetarias tales como colágeno, fibronectina, factor de von Willebrand.

Algunas realizaciones de la invención se describirán a continuación más completamente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes y las figuras:

En las figuras:

La figura 1 ilustra una macromolécula de lisina de acuerdo con una realización preferida de la invención con un núcleo divalente de lisina benzilhidrilamida, y tres capas de unidades estructurales. La escisión del enlace L mostrado proporciona el motivo dendrítico F1.2, que es un motivo dendrítico de lisina de 3 capas (nótese que los ocho restos N en negrita representan las aminas superficiales). El resto carbonilo del ápice se encuentra ahora en L. R puede ser un resto funcional que es un grupo protector o cualquier otro tipo de resto funcional. Otra forma de este motivo dendrítico se describe en F1.3 donde el carbonilo del ápice está en forma de un resto de carboxilato se describe en su totalidad: dicho motivo puede prepararse y utilizarse como parte de las realizaciones de esta invención

La figura 2 es una representación esquemática de un isómero topológico seleccionado de entre una macromolécula dendrítica de lisina de acuerdo con una realización preferida de la invención que tiene cuatro capas de unidades estructurales desde el núcleo de etilendiamina, y que tiene un total de 32 restos funcionales A y B en una proporción de 1:1. A, B representan dos restos funcionales diferentes que pueden ser grupos protectores u otros restos funcionales. Los enlaces en negrita indican la unidad estructural más externa a la que están conectados todos los restos funcionales rodeados con un círculo, y los restos funcionales del motivo dendrítico rodeado con un círculo están subrayados en la nomenclatura. Nótese además en 2.1. la flecha para indicar el origen, y el marco de lectura, que se usa para generar la nomenclatura tipológica alfanumérica descrita en el texto. 2.1 uso de pares; 2.2 uso de cuartetos; 2.3 uso de octetos; 2.4 uso de 16-tetos. Unidades estructurales (análogos de lisina): F2.5 Núcleo; F2.6 unidad estructural subsuperficial; F2.7 unidad estructural superficial que porta restos funcionales (AA); y F2.8 (BB).

La figura 3 es una representación esquemática de isómeros topológicos seleccionados de entre macromoléculas dendríticas de lisina de acuerdo con una realización preferida de la invención que tienen cuatro capas de unidades estructurales desde el núcleo de etilendiamina y que portan un total de 32 restos funcionales A y B en una relación de 1:1. A, B representan dos restos funcionales diferentes que pueden ser grupos protectores u otros restos funcionales. Los isómeros topológicos se definen usando la nomenclatura descrita en el texto a nivel de unidades estructurales 16-tetos (análogos de la lisina): Equivalencia topológica de F3.6 y F3.7 unidades superficiales de lisina asimétrica que portan restos funcionales (AB) y la unidad estructural de lisina simétrica F3.8.

La figura 4 es una representación esquemática de isómeros topológicos equivalentes de acuerdo con una realización preferida de la invención de tres capas de unidades estructurales de lisina o análogo de lisina desde el ápice F que tiene una relación estequiométrica superficial 1:1 de A y B. A, B representan dos restos funcionales diferentes que pueden ser grupos protectores u otros restos funcionales y F representa el resto carbonilo en el ápice.

- 5 Cada representación difiere en una rotación de 180° del enlace inter-unidades estructuralmente indicado. F4.4 es una representación de un motivo dendrítico con unidades estructurales asimétricas. Dicha estructura se simplifica "simetrizando" la unidad estructural antes de realizar el análisis de rotación de enlaces.

La figura 5 es una representación esquemática de isómeros topológicos seleccionados de entre macromoléculas dendríticas de lisina de acuerdo con una realización preferida de la invención que tienen cuatro capas de unidades estructurales desde el núcleo de etilendiamina y que portan un total de 32 restos funcionales A, B y D en una relación de 2:1:1. Los isómeros topológicos se definen usando la nomenclatura descrita en el texto a nivel de 16-tetos.

15 La figura 6 es una representación esquemática de isómeros topológicos seleccionados de acuerdo con una realización preferida de la invención de macromoléculas dendríticas variegadas de lisina de cuatro capas desde el núcleo de etilendiamina en la que se han usado enlazadores. A y B representan dos restos funcionales diferentes que pueden ser grupos protectores u otros restos funcionales y 0 es el símbolo de valor nulo utilizado para representar restos funcionales perdidos de un FM_{MAX} ideal debido a enlazadores que sustituyen a unidades estructurales. **F6.1** uso de pares y la macromolécula dendrítica en la que $FM_{total} = FM_{MAX}$; **F6.2** uso de cuartetos con enlazadores que sustituyen unidades estructurales superficiales; **F6.3** uso de octetos y enlazadores que sustituyen a unidades estructurales superficiales menos una; **F6.4** uso de 16-tetos enlazadores que sustituyen a unidades estructurales superficiales menos dos. Los rectángulos resaltan restos funcionales como 0 perdidos debido al uso de enlazadores. **F6.5** enlazador interno.

25 La figura 7 es una representación esquemática de isómeros topológicos seleccionados de acuerdo con una realización preferida de la invención de macromoléculas dendríticas veteadas de lisina de cuatro capas desde el núcleo de etilendiamina en la que se han usado enlazadores. A, B y D representan tres restos funcionales diferentes que pueden ser grupos protectores u otros restos funcionales. Los isómeros topológicos se definen usando la nomenclatura descrita en el texto a nivel de 16-tetos. **F7.1** muestra una macromolécula dendrítica variegada en la que enlazadores sustituyen a unidades estructurales superficiales para proporcionar una estequiometría superficial de 8A:16B:4D; **F7.2** muestra una macromolécula dendrítica en la que enlazadores sustituyen a unidades estructurales superficiales menos una para proporcionar una estequiometría superficial de 8A:16B; **F7.3** una macromolécula dendrítica en la que enlazadores sustituyen a unidades estructurales superficiales menos dos para proporcionar una estequiometría superficial de 8A:8B:8D; **F7.4** muestra una macromolécula dendrítica en la que un enlazador sustituye a una unidad estructural superficial menos tres para proporcionar una estequiometría superficial de 12A:8B:4D; **F7.5** muestra una macromolécula dendrítica en la que enlazadores sustituyen a unidades estructurales tanto superficiales menos dos como superficiales menos tres para proporcionar una estequiometría superficial de 8B:8A.

40 La figura 8 es una representación esquemática de isómeros topológicos seleccionados de acuerdo con una realización preferida de la invención de macromoléculas dendríticas variegadas de lisina de cuatro capas desde el núcleo de etilendiamina en la que se han usado restos funcionales de detención en el extremo. A y B representan dos restos funcionales diferentes que pueden ser grupos protectores u otros restos funcionales y \emptyset es el símbolo de valor nulo usando para representar restos funcionales perdidos desde un FM_{MAX} ideal debido a un resto funcional de detención en el extremo en una unidad estructural subsuperficial **F8.1** uso de pares y los motivos dendríticos en los que $FM_{total} = FM_{MAX}$; **F8.2** uso de cuartetos con restos funcionales de detención en el extremo R1 y R2 en una unidad estructural superficial menos una; **F8.3** uso de octetos y restos funcionales de detención en el extremo R1 y R2 en una unidad estructural superficial menos dos; **F8.4** uso de 16-tetos y restos funcionales de detención en el extremo en una unidad estructural superficial menos tres. Los rectángulos resaltan restos funcionales como \emptyset perdidos debido al detención en el extremo. **F8.5** Unidades estructurales que portan restos funcionales de detención en el extremo.

La figura 9 es una representación esquemática de isómeros topológicos seleccionados de acuerdo con una realización preferida de la invención de macromoléculas dendríticas variegadas de lisina de cuatro capas desde el núcleo de etilendiamina en la que se han usado enlazadores. A y B representan dos restos funcionales diferentes y R1, R2 representan restos funcionales de detención en el extremo. Los isómeros topológicos se definen usando la nomenclatura descrita en el texto a nivel de 16-tetos. **F9.1** muestra una macromolécula dendrítica variegada en la que se han usado reacciones de detención en el extremo en la capa superficial de unidades estructurales para proporcionar una estequiometría superficial de 16R1:16R2; **F9.2** muestra una macromolécula dendrítica en la que se

- han usado reacciones de detención en el extremo en la capa superficial menos una de unidades estructurales para proporcionar una estequiometría superficial de 4R1:16B:8A; **F9.3** muestra una macromolécula dendrítica en la que se han usado reacciones de detención en el extremo en la capa superficial menos dos de unidades estructurales para proporcionar una estequiometría superficial de 4R1:16B;; **F9.4** muestra una macromolécula dendrítica en la que se han usado reacciones de detención en el extremo en la capa superficial menos tres de unidades estructurales para proporcionar una estequiometría superficial de 2R1:8B:8A; **F9.5** muestra una macromolécula dendrítica en la que se han usado reacciones de detención en el extremo en las capas tanto superficial menos una como superficial menos dos de unidades estructurales para proporcionar una estequiometría superficial de 4R1:4R2:8A.
- 5 10 La figura 10 es DAH [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈ que se describe en el ejemplo 33, como una macromolécula anti-microbios de transmisión sexual de acuerdo con una realización preferida de la invención, con moléculas superficiales polianiónicas y modificadores lipófilos que tienen actividad contra infecciones de transmisión sexual como el VIH.
- 15 La figura 11 es BHALys [Lys]₂ [Su(NPN)₂]₄ [MTX- -OtBu]₄ [PEG₂₄]₄ que se describe en el ejemplo 56, y que es una macromolécula de sustento de fármacos de acuerdo con una realización preferida de la invención, que porta grupos PEG superficiales a la que un fármaco de interés está unido covalentemente.
- La figura 12 es una ilustración esquemática de la síntesis del ejemplo 20 (esquema 1).
- 20 En el esquema 1: i. Reacción de BHALys [Boc]₂ con ácido trifluoroacético en diclorometano; ii. Reacción de BHALys [NH₂.TFA]₂ con PFP-Lys-α-Fmoc-ε-Boc en exceso y una base en DMF; iii. Reacción de BHALys [Lys]₂ [α-Fmoc]₂ [ε-Boc]₂ con ácido trifluoroacético en diclorometano; iv. Reacción de BHALys [Lys]₂ [α-Fmoc]₂ [ε-NH₂.TFA]₂ con PNPO-Lys-(Boc)₂ en exceso y una en DMF; v. Reacción de BHALys [Lys]₂ [α-Fmoc]₂ [ε-Lys]₂ [Boc]₄ con piperidina en exceso en DMF;
- 25 La figura 13 es una ilustración esquemática de la síntesis del ejemplo 18 (esquema 2).
- En el esquema 2: i. Reacción de EtOSu[NPN]₂ [Boc] [CBz] con una mezcla de TFA y ácido acético; ii. Reacción de EtOSu[NPN]₂[NH₂.TFA] [CBz] con PNPOSu[NPN]₂ [Boc]₂ en DMF y TEA; iii. Reacción de EtOSu[NPN]₂ [CBz] [Su[NPN]₂] [Boc]₂ con formiato de amonio y Pd sobre C en DMF/agua; iv. Reacción de EtOSu[NPN]₂ [NH₂] [Su[NPN]₂] [Boc]₂ con PNPOSu[NPN]₂ [Boc] [CBz] en DMF y TEA proporcionó EtOSu[NPN]₂ [Su[NPN]₂]₂ [CBz] [Boc]₃.
- 30 35 Las figuras 14A y 14B son ilustraciones esquemáticas de la síntesis de una macromolécula (ejemplo 15) que usa un motivo dendrítico preparado en el ejemplo 13.
- En el esquema 3: 13.i. Reacción de glicinato de metilo con PNPO-Lys-α-Boc-ε-CBz en DMF y TEA; 13.ii. Reacción de MeO-GlyLys [α-Boc] [ε-CBz] con TFA y ácido acético; 13.iii. Reacción de MeO-GlyLys [α-NH₂.TFA] [ε-CBz] con PNPO-Lys(Boc)₂ en DMF y TEA; 13.iv. Reacción de MeO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ con H₂ y Pd sobre carbono en metanol con TFA; 15.i. Reacción de GlyLys [ε-NH₂.TFA] [α-Lys] [Boc]₂ con PNPO-Lys-α-Boc-ε-CBz en DMF y TEA; 15.ii. Reacción de MeOGlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz] con NaOH en metanol/agua para dar HO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₃[ε,ε-CBz].
- 40 45 En el esquema 4: 15.ii Reacción de BHALys [NH₂.TFA]₂ con HO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz], DCC y DMAP en DMF y TEA para dar BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-CBz]₂.
- La figura 15A es un gráfico que muestra los niveles de concentración en plasma a lo largo del tiempo de diversas macromoléculas identificadas en la tabla 6, ejemplo 64.
- 50 La figura 15B es una serie de gráficos que ilustran la correlación entre la semivida de la macromolécula de PEG y el peso molecular, en una escala lineal y logarítmica y la correlación entre el peso molecular de la macromolécula de PEG y un % excretado en la urea a lo largo del tiempo, en una escala lineal y logarítmica.
- 55 La figura 16 muestra el conjunto de cinco isómeros topológicos de las estructuras de macromoléculas asimétricas en una representación en 2D como se describe en el ejemplo 65. Los diagramas muestran las ubicaciones de los restos funcionales etiquetados A y B para los cinco diferentes tipos de isómeros topológicos que se compararon en el ejemplo 65.
- 60 Figura 17 proporciona representaciones gráficas en 3D que se derivan de las simulaciones de modelización por

ordenador realizadas en el ejemplo 65 y demuestran las distribuciones de los restos funcionales A y B para cinco tipos de isómeros topológicos de las macromoléculas de acuerdo con la presente invención.

5 Figura 18. Las distribuciones de todas las distancias de restos funcionales A a restos funcionales B, y la variación con el tipo de agrupamiento del ejemplo 65: unidades estructurales asimétricas (véase el texto). Los resultados se muestran como la probabilidad fraccional, es decir, la probabilidad de encontrar un resto funcional de los diferentes tipos dentro de 0,5 Å de la distancia indicada.

10 La figura 19 es un gráfico de las distancias entre el centro de masa de los restos funcional A y el centro de masa de los restos funcional A para cada uno de los tipos de agrupamiento del ejemplo 65: asimétrica. Las barras de error representan ± 1 desviación estándar.

15 Figura 20 es un diagrama esquemático del protocolo usando para obtener una estructura de macromolécula equilibrada en el ejemplo 65.

La figura 21 es $\text{BHALys [Lys]}_2 \text{ [Glu]}_4 \text{ [}\alpha\text{-COC2-}\alpha\text{-S-GlcNAc]}_4 \text{ [}\gamma\text{-CO}_2\text{H]}_4$ que se describe en el ejemplo 66; ésta es una macromolécula antiinflamatoria de acuerdo con una realización preferida de la invención, que porta grupos de hidratos de carbono superficiales y restos carboxilato en una estequiometría 1:1.

20 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar la invención. Los ejemplos se basan en unidades estructurales de lisina, aunque no se limitan a las mismas. Los ejemplos 1 a 28 son ejemplos estructurales que demuestran la síntesis de las macromoléculas y motivos dendríticos de esta invención. En la sección estructural está incluida una demostración (ejemplo 28) del comportamiento cromatográfico de diferentes isómeros topológicos que tienen una estequiometría de grupo superficial común. Este ejemplo muestra que los isómeros topológicos interactúan con la fase estacionaria de manera diferente, produciendo diferentes tiempos de retención que se registran en la tabla 23.

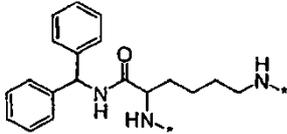
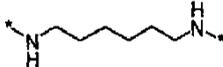
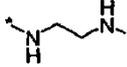
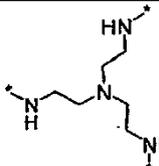
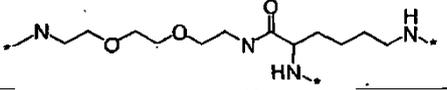
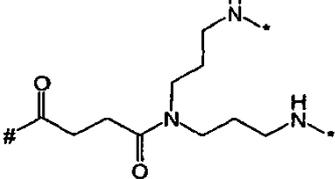
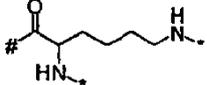
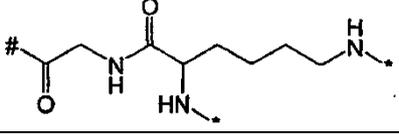
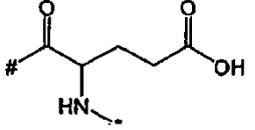
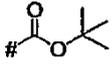
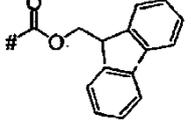
25 En la sección de antimicrobianos, los ejemplos 29 a 50 describen una serie de macromoléculas con dos restos funcionales diferentes que tienen actividad anti-VIH. Los datos de anti-VIH se recogen en la tabla 24 del ejemplo 50. Una vez más, un conjunto de datos comparativos proporciona indicios de que los isómeros topológicos con una estequiometría de grupo superficial común pueden proporcionar diferentes actividades biológicas. Es particularmente importante tener en cuenta la potente actividad antimicrobiana alcanzada con los ejemplos 46 y 48, que son significativamente más activos que SPL7013, un dendrímero superficial homogéneo. Esto demuestra la utilidad de ser capaz de proporcionar una macromolécula con estequiometría/topología controladas que incluye dos restos funcionales diferentes.

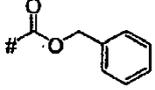
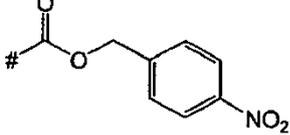
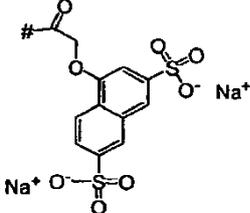
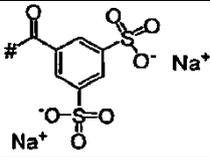
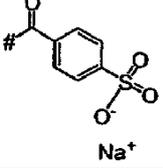
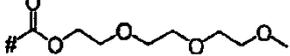
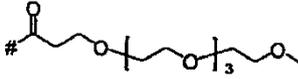
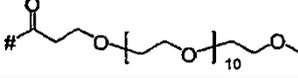
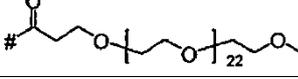
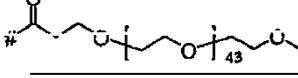
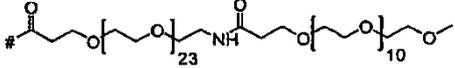
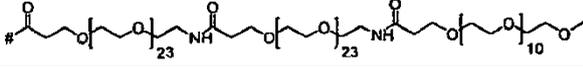
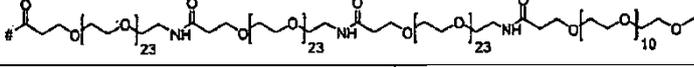
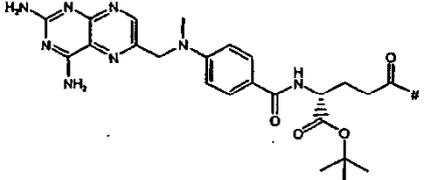
30 En la sección ADME, los ejemplos 51 a 64 proporcionan una serie de macromoléculas con superficies compuestas tanto por agentes activos farmacéuticos como por compuestos modificadores. Los datos proporcionados por el ejemplo 64: véase la tabla 25 y las figuras 15A y 15B, sirven para demostrar cómo el comportamiento farmacocinético de las macromoléculas se puede controlar a través del ajuste fino apropiado del tipo y tamaño de resto funcional modificador usado en la superficie junto con el resto farmacéuticamente activo. Una característica importante de estas macromoléculas es la estequiometría y la topología controladas del resto farmacéuticamente activo o residuo del mismo respecto al modificador de la superficie (PEG).

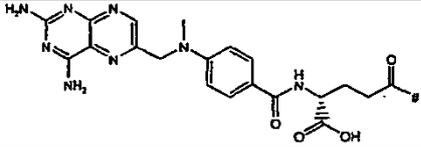
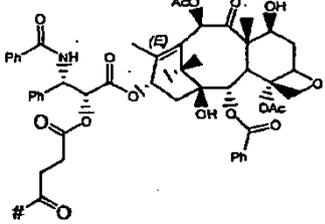
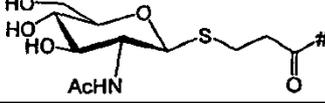
45 En la sección antiinflamatoria, se ha demostrado mediante los datos proporcionados en el ejemplo 73, tabla 27 que las macromoléculas con una superficie homogénea de restos funcionales aniónicos, 73.11 y 73.12 tienen actividad antiinflamatoria. También se ha observado que una de las macromoléculas, 73.8 con una superficie homogénea de la fracción de glucosamina: resto funcional COC2CO-2-N- α -OMe-Glc tiene actividad antiinflamatoria. Se prevé que las macromoléculas que combinan restos funcionales aniónicos con restos funcionales que incluyen el residuo de glucosamina, tales como los ejemplos 66 a la 71, con estequiometrías definidas de 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 y 1:7 de sacárido respecto resto funcional aniónico, tendrán una actividad anti-inflamatoria terapéutica sobre la base de que estas moléculas proporcionan una estequiometría/topología controladas de los dos restos funcionales que contribuyen a la actividad antiinflamatoria de los compuestos superficiales homogéneos.

55 Un sistema de nomenclatura se ha desarrollado para los fines de la identificación de los compuestos individuales descritos en esta patente. La nomenclatura de macromolécula usa las abreviaturas en la tabla siguiente.

Tabla 21: Abreviaturas de nomenclatura y estructuras de macromoléculas

Abreviatura	Función	Nombre	Estructura ¹
BHALys	Núcleo	Benzhidrilamidolisina	
DAH	Núcleo	Diaminohexano	
EDA	Núcleo	Etilendiamina	
TETA	Núcleo	Trietiltetraamina	
NEOEOENLys	Núcleo		
Su(NPN) ₂	Unidad estructural		
Lys	Unidad estructural	Lisina	
GlyLys	Unidad estructural		
NH ₂ .TFA	Representa los grupos amina superficiales de las unidades estructurales, mostrada aquí como la sal de TFA, y se trata como un "resto funcional" para los fines de la nomenclatura.		
Glu	Unidad estructural superficial	Glutamato	
CO ₂ H	Representa los grupos carboxilato superficiales de las unidades estructurales superficiales y se trata como un "resto funcional" para los fines de la nomenclatura.		
Boc	Resto funcional	t-butiloxicarbonilo	
Fmoc	Resto funcional	Fluorenilmetoxicarbonilo	

CBz	Resto funcional	Benciloxycarbonilo	
4-Nitro-CBz	Resto funcional	4-Nitro-benciloxycarbonilo	
COCH2O-3,6-Naph(SO3Na)2	Resto funcional	sal disódica del ácido 1-carboxi-3,6-naftildisulfónico	
CO-3,5-Ph(SO3Na)2	Resto funcional	sal disódica del ácido 1-carboxi-3,5-fenildisulfónico	
CO-4-Ph(SO3Na)	Resto funcional	sal disódica del ácido 1-carboxi-4-fenilsulfónico	
CO2(EtO)3CH3	Resto funcional		
PEG200	Resto funcional		
COPEG12	Resto funcional		
PEG1100	Resto funcional		
PEG2KD	Resto funcional		
PEG1716	Resto funcional		
PEG2845	Resto funcional		
PEG3974	Resto funcional		
α-tBu-MTX	Resto funcional	α-t-Butil-N-[4-[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutamato	

MTX	Resto funcional	N-[4-[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutamato	
COCH ₂ CH ₂ CO-Taxol	Resto funcional		
COCH ₃	Resto funcional	Acetamida	
COC2-α-S-GlcNAc	Resto funcional		

¹ El asterisco indica grupo amina enlazado como amida al grupo carboxilo de una unidad estructural de lisina, unidad estructural superficial o resto funcional. El numera indica el grupo carboxilo enlazado como amida a la amina del núcleo o unidad estructural

La nomenclatura de dendrímero en los siguientes ejemplos usa de la siguiente fórmula:

5 **Núcleo [Última capa completa; Unidad Estructural]ⁿ -[resto funcional]^m [Capa Externa Incompleta; Unidad Estructural]^p -[resto funcional]^q**

Donde:

10 Núcleo es la molécula a la que las unidades estructurales de lisina están unidos e incluirán al menos un resto de amina al que se añade la primera capa de unidades estructurales de lisina; donde se describe un motivo dendrítico, la unidad estructural que incluye el resto carboxilato del ápice es tratada como el núcleo, n es el número de unidades estructurales de lisina en la capa más externa completa de la macromolécula, p es el número de unidades estructurales de lisina en la capa externa incompleta de la macromolécula, m es el número de restos funcionales para restos activos farmacéuticos o grupos protectores ejemplares, en la capa más externa completa de unidades estructurales; q es el número de restos funcionales en la capa externa incompleta de unidades estructurales,

20 Opcionalmente, un resto funcional, con o sin unidades estructurales puede añadirse al núcleo; estos se indican, a continuación, como [resto funcional]_r[unidad estructural]_s Núcleo [última capa completa; unidad estructural]ⁿ -[resto funcional]^m [capa externa incompleta; unidad estructural]^p [resto funcional]_q.

Donde:

25 r es el número de restos funcionales añadidos, y s es el número de unidades estructurales de lisina en la capa externa del motivo añadido al núcleo.

30 Estas fórmulas son capaces de describir completamente el tamaño de una macromolécula a través de la provisión del núcleo y las una o más capas externas, ya que se proporciona información suficiente sobre las unidades estructurales y restos funcionales usados en la construcción de estas estructuras de macromoléculas y la valencia del núcleo es conocida.

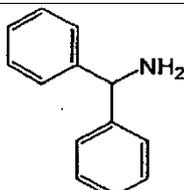
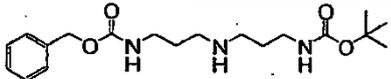
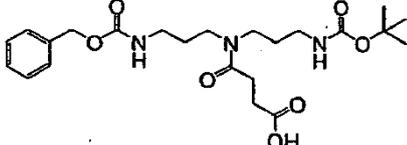
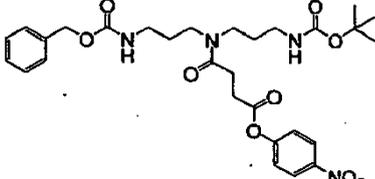
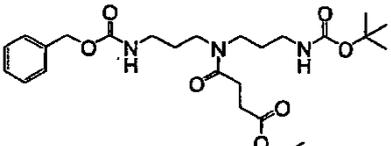
35 Todas las macromoléculas de lisina preparadas como las formas totalmente protegidas con Boc, se sintetizaron y se purificaron de acuerdo con los procedimientos descritos en la patente WO95/34595. La retirada del grupo protector Boc se llevó a cabo de acuerdo con los procedimientos descritos en la misma patente.

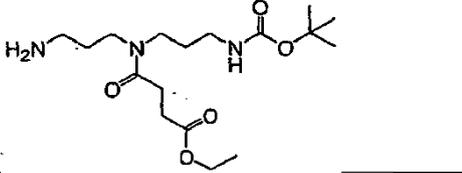
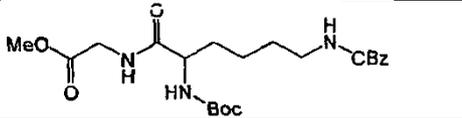
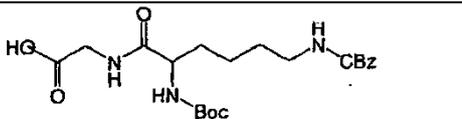
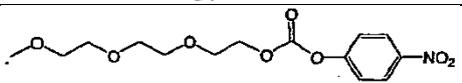
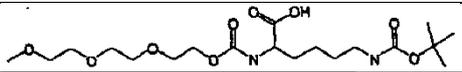
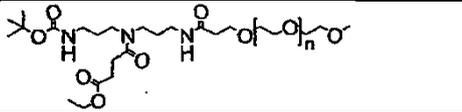
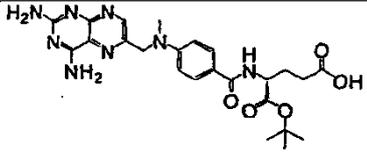
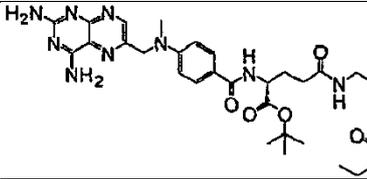
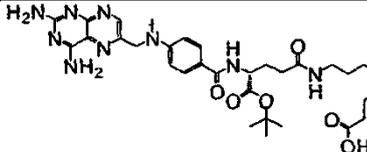
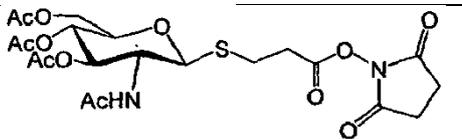
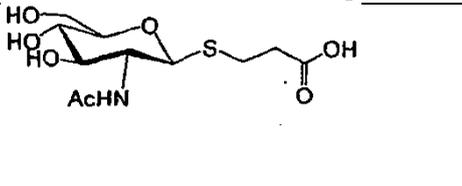
Abreviaturas químicas adicionales se enumeran en la tabla 22.

Tabla 22: Nombres químicos y abreviaturas.

Abreviatura	Nombre completo
PyBop	Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfonio
DMF	Dimetilformamida
DCM	Diclorometano
TFA	Ácido trifluoroacético
DIPEA	Diisopropilamina
TEA	triethylamina
Éter	Éter dietílico
EtOAc	acetato de etilo
DMSO	Dimetilsulfóxido
can	Acetonitrilo
Ta	temperatura ambiente
Ca	alrededor de
Ppt	Precipitado
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
MS	Espectrometría de masas
CE	Electroforesis capilar
PFP-Lys- α -Fmoc- ϵ -Boc	éster activo de pentafluorofenol de α -Fmoc- ϵ -Boc-Lisina
PFP-Lys- α -Boc- ϵ -Fmoc	éster activo de pentafluorofenol de α -Boc- ϵ -Fmoc-Lisina
HO-Lys- α -Fmoc- ϵ -Boc	α -Fmoc- ϵ -Boc-Lisina
HO-Lys- α -NH ₂ - ϵ -Boc	α -NH ₂ - ϵ -Boc-Lisina
PNPO-Lys- α,ϵ -(Boc) ₂	éster activo de p-nitrofenol de α,ϵ -(Boc) ₂ -Lisina
PNPO-Lys(CBz) ₂	éster activo de p-nitrofenol de α,ϵ -(CBz) ₂ -Lisina
PNPO- α -Boc- ϵ -CBz-Lys	éster activo de p-nitrofenol de α -Boc- ϵ -CBz-Lisina
PNPO- α -CBz- ϵ -Boc-Lyx	éster activo de p-nitrofenol de α -CBz- ϵ -Boc-Lisina

Tabla 22 continuación: Nombres químicos y abreviaturas.

Abreviatura	Nombre completo	Estructura
BHA	Benzhidrilamina	
[NPN] ₂ [Boc] [CBz]		
HO-Su[NPN] ₂ [Boc] [CBz]		
PNPO-Su[NPN] ₂ [Boc] [CBz]		
[BOC][CBz][NPN] ₂ SuOE _t		

<p>[BOC][NH₂][NPN]₂SuOE t</p>		
<p>MeO-GlyLys [α-Boc] [ε-CBz]</p>		
<p>HO-GlyLys [α-Boc] [ε-CBz]</p>		
<p>PNPO-CO₂PEG₃</p>		
<p>HO-Lys-α-CO₂PEG₃-ε-Boc</p>		
<p>EtO-Su(NPN)₂[Boc] [COPEG] PEG₁₂ n = 10 PEG₂₄ n = 22</p>		
<p>MTX-α-OtBu</p>		
<p>EtO-Su(NPN)₂[γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG] PEG₁₂ n = 10 PEG₂₄ n = 22</p>		
<p>HO-Su(NPN)₂[γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG] PEG₁₂ n = 10 PEG₂₄ n = 22</p>		
<p>NHS-COC2-(perAc)-α-S-GlcNAc</p>	<p>2-desoxi-2-acetamido-3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido de (-) 2-carboxietilo.</p>	
<p>HO-COC2-α-S-GlcNAc</p>	<p>2-desoxi-2-acetamido-1-tio-α-D-glucopiranosido de (-) 2-carboxietilo</p>	

HO-COC2CO-2-N- α -OMe-Glc	2-desoxi-2-[3-(metoxicarbonil)propanamido]- α -D-glucopiranosido de metilo	
PNPO-COC5- α -S-(perAc)-GlcNAc	2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-1-tio- β -D-glucopiranosido de 5-[[[(4-nitrofenil)oxi]carbonil]pentilo	
PNPO-Glu- α -Boc- δ -OBn	éster activo de p-nitrofenol de α -Boc- δ -Bn-Glutamato	
PNPO-Glu- α -Boc- δ -OMe	éster activo de p-nitrofenol de α -Boc- δ -Me-Glutamato	
PNPO-Glu- α -Boc- δ -OFm	éster activo de p-nitrofenol de α -Boc- δ -Fluorenilmetil-Glutamato	
HO-Lys- α -CBz- ϵ -Alloc	Lisina- α -CBz- ϵ -Aliloxicarbonilo	
NHS-COPEG ₁₂	éste de N-hidroxisuccinimida de MeO-(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ C O ₂ H	
HO-COPEG ₂₄		
NHS-COPEG ₂₄		
NHS-COPEG ₂₃₀₀		
α -tBu- γ -MTX-OH	α -t-Butil-N-[4-[[2,4-diamino-6-pteridinil]metil]metilamino]benzoi]-L-glutamato	

Detalles de Centramate:

El sistema de calibre Pall Filtron Centramate™ 3 (nº de pieza FS011K10) con cartucho 3K Centramate con 5 membrana Omega - Medium Screen (nº de pieza OS003C12).

Funcionando con una contrapresión de 20-30 psi.

Detalles del equipo de RMN:

5 Instrumento de RMN Bruker 300 UltraShield™ de 300 MHz.

Detalles del equipo de HPLC y MS

HPLC - Waters 2795 con detector de matriz de diodos (DAD) 2996

10 MS - Waters ZQ4000 con sonda ESI, flujo de entrada dividido para dar aproximadamente 50 µl/min a la MS.

Los datos de espectros de masas se adquirieron en modo de ionización por electropulverización negativa. Los datos en bruto se deconvolucionaron usando un algoritmo de máxima entropía (MaxEnt) tal como se aplica en el software MassLynx v4.0, suministrado por Waters Corporation. Los datos reportados en los detalles experimentales se
15 corresponde con el valor observado después de deconvolución a un estado de carga cero teórico.

Equipo de CE

Beckman P/ACE MDQ con detector de matriz de diodos

20 El capilar es sílice fusionado sin derivatizar, 75 µm i.d. x 40 cm hasta el detector

Preparación de:

Preparación de BHALys [Lys]₁₆ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₃₂SPL7013

25 según la solicitud de patente internacional no PCT/AU02/00407 (WO 02/079299).

Ejemplos estructurales

Ejemplo 1

30

BHALys [Lys]₂ [α-Boc]₂ [ε-NH₂]₂

i. BHALys [Lys]₂ [α-Boc]₂ [ε-CBz]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴	2	Boc
	2	CBz

Se disolvió BHALys [NH₂.TFA] (200 mg, 0,371 mmol) en DMF (2,0 ml) y se trató con TEA (258 µl, 1,85 mmol),
35 agitando a temperatura ambiente y dando como resultado una solución transparente. Se añadió PNPO-α-Boc-ε-CBz-Lys (446 mg, 0,890 mmol) en una porción y la mezcla de reacción se volvió inmediatamente amarilla brillante, y después de cinco minutos toda la materia sólida se había disuelto. La agitación se continuó durante 24 h, a continuación la mezcla de reacción se vertió sobre agua con hielo y se agitó. Esta suspensión se filtró y el sedimento sólido resultante se aclaró repetidamente con agua. El sedimento sólido se secó al aire, se resuspendió en ACN, se
40 filtró y se secó al aire para dar BHALys [Lys]₂[α-Boc]₂[ε-CBz]₂ (343 mg, 89%) como un sólido de color blanquecino.

LC/MS (Hidrófobo/TFA); FSI (+ve) m/z = 1037,19 [M+H]⁺; calculado (C₅₇H₇₇N₇O₁₁) 1036,29 g/mol. Rf (min) = 13,8.

45 **ii. BHALys [Lys]₂[α-Boc]₂[ε-NH₂]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴	2	Boc
	2	NH ₂

Se suspendió BHALys [Lys]₂[α-Boc]₂ [ε-CBz]₂ (170 mg, 0,164 mmol) en 9:1 DMF/H₂O (5,0 ml) y se añadió formiato de amonio (41 mg, 0,656 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 10 min a continuación se
50 añadió Pd/C (10% p/p, 87 mg) y la agitación se continuó durante 2 h. La reacción se interrumpió retirando por filtración el catalizador y el filtro se aclaró con 9:1 DMF/H₂O (5,0 ml). Los filtrados combinados fueron de color amarillo pálido y transparente, y se concentraron al vacío para dar un jarabe de color amarillo pálido. El jarabe se trató con agua (15 ml) que se retiró al vacío, a continuación se liofilizó en agua (10 ml) para dar BHALys [Lys]₂ [α-Boc]₂ [ε-NH₂]₂ como un liofilizado fino de color blanco (120 mg, 96%).

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 882,12 [M+H+TFA]⁺, 769,08 [M+H]⁺, 384,66 [M+2H]²⁺; calculado (C₄₁H₆₅N₇O₇) 768,01 g/mol. Rf (min) = 15,9.

5 Ejemplo 2

BHALys [Lys]₄ [α-NH₂]₄ [ε-Boc]₄

i. BHALys [Lys]₄-[α-CBz]₄ [ε-Boc]₄

10

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸	4	Boc
	4	CBz

Una solución de BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (501 mg, 0,98 mmol), TEA (0,7 ml, 5,02 mmol) y DMF (10 ml) se trató con PNPO-α-CBz-ε-Boc-Lys (1,18 g, 2,35 mmol) siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i. El producto BHALys [Lys]₄ [α-CBz]₄ [ε-Boc]₄ (830 mg, 84%) se obtuvo como un sólido incoloro.

15

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1009,71 [M+2H]²⁺; calculado C₁₀₇H₁₅₃N₁₅O₂₃ 2017,48 g/mol. Rf (min) = 7,58.

ii. BHALys [Lys]₄[α-NH₂]₄ [εBoc]₄

20

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴) ⁸	4	Boc
	4	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₄ [α-CBz]₄ [ε-Boc]₄ (400 mg, 0,3 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (8 ml) se le añadió Pd/C al 10% (203 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (T_a, presión atmosférica) durante 19 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto BHALys [Lys]₄[α-NH₂]₄ [ε-Boc]₄ (285 mg, 96%) como un sólido de color beige claro.

25

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1481,32 [M+H]⁺, 741,10 [M+2H]²⁺; calculado C₇₅H₁₂₉N₁₅O₁₅ 1480,94 g/mol. Rf (min) = 8,40.

30

Ejemplo 3

BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-NH₂]₄

i. BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-CBz]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸	4	Boc
	4	CBz

35

Una solución de BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (503 mg, 0,49 mmol), TEA (0,7 ml, 5,02 mmol) y DMF (10 ml) se trató con PNPO-α-Boc-ε-CBz-Lys (1,18 g, 2,35 mmol). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i. El producto BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-CBz]₄ (875 mg, 88%) se aisló como un sólido incoloro.

40

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1009,71 [M+2H]²⁺; calculado C₁₀₇H₁₅₃N₁₅O₂₃ 2017,48 g/mol. Rf(min) = 7,40.

ii. BHALys [Lys]₄ [α-BOC]₄ [α-NH₂]₄

45

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc NH ₂)) ⁴ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴) ⁸	4	Boc
	4	NH ₂

A una solución de BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-CBz]₄ (400 mg, 0,2 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (8 ml) se le añadió Pd/C al 10% (205 mg). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 2.ii para dar el producto BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-NH₂]₄ (288 mg, 98%) como un aceite cristalino.

5

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 741,1 [M+2H]²⁺, 494,6 [M+3H]³⁺; calculado C75H129N15O15 1480,94 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1480,52. Rf (min) = 1,04.

Ejemplo 4

10

BHALys [Lys]₈[α-Boc]₈[ε-NH₂]₈

i. BHALys [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-CBz]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ¹⁶	8	Boc
	8	CBz

15

Una solución de BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ (1,59 mmol), TEA (4,50 ml, 32,30 mmol) y DMF (30 ml) se trató con PNPO-α-Boc-ε-CBz-Lys (7,75 g, 15,45 mmol) como un sólido. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para dar BHALys [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-CBz]₈ (5,52 g, 87%) como un sólido incoloro.

20

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) observado [M+H]³⁺ m/z = 1328; calculado para C207H305N31O47 3979,9; Rf (min) = 20,22 min.

ii. BHALys [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-NH₂]₈

25

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴) ⁸ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴) ¹⁶	8	Boc
	8	NH ₂

Se suspendió BHALys [Lys]₈[α-Boc]₈ [ε-CBz]₈ (500 mg, 0,126 mmol) en 9:1 DMF/H₂O (12,5 ml) y se añadieron formiato de amonio (127 mg, 2,01 mmol) y Pd/C (10% p/p, 266 mg). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.ii para dar el producto BHALys [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-NH₂]₈ como un liofilizado fino de color blanco (155 mg, 42%).

30

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 969,83 [M+3H]³⁺, 727,67 [M+4H]⁴⁺, 582,39 [M+5H]⁵⁺; calculado (C143H257N31O31) 2906,8 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 2906,5. Rf (min) = 14,7.

35

Ejemplo 5

BHALys [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [ε-CBz]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴ ((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴) ⁸ ((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴ ((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴) ¹⁶	8	NH ₂
	8	CBz

40

Se suspendió BHALys [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-CBz]₈ (1000 mg, 0,251 mmol) en ácido acético (5,5 ml) y se agitó a 0°C mientras que se añadía TFA (5,5 ml) gota a gota. Se dejó calentar a la mezcla de reacción a T_a y se dejó agitar durante 17 h, momento en el cual la mezcla de reacción se trituró en Éter. La suspensión resultante se agitó durante 10 min, y los líquidos se retiraron mediante centrifugado y decantación. El precipitado restante se lavó mediante agitación durante 10 min con Éter, que se retiró de nuevo mediante centrifugado y decantación, a continuación el precipitado se secó al vacío, se disolvió en agua y se liofilizó para dar BHALys [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈[ε-CBz]₈ como un polvo de color blanco (840 mg, 105%).

45

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1060,70 [M+3H]/3+, 795,51 [M+4H]/4+, 636,30 [M+5H]/5+; calculado (C167H241N31O31) 3178,95 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 3178,0. Rf (min) = 19,1.

5

Ejemplo 6**BHALys [Lys]₈ [α-NH]₈ [ε-Boc]₈**10 **i. BHALys [Lys]₈ [α-CBz]₈ [ε-Boc]₈**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ^{8,16}	8	Boc
		CBz

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ (1,59 mmol), TEA (4,40 ml, 31,57 mmol) y DMF (32 ml) se le añadió PNPO-α-CBz-s-Boc-Lys (7,69 g, 15,33 mmol) como un sólido y en una porción a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para dar BHALys [Lys]₈[α-CBz]₈ [ε-Boc]₈ (5,41 g, 85%) como un sólido de color blanquecino.

LC/MS (Fobo/TFA/Rampa rápida): ESI (+ve) observado [M+H/3]+ m/z = 1328; calculado para C207H305N31O47 3979,9; Rf (min) = 12,98 min.

20

ii. BHALys [Lys]₈ [α-NH₂]₈ [ε-Boc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴) ⁸ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴ ((Boc NH ₂)(Boc NH ₂)) ⁴) ^{8,16}	8	Boc
	8	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₈ [α-CBz]₈ [ε-Boc]₈ (200 mg, 0,05 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (2 ml) se le añadió Pd/C al 10% (198 mg). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 2.ii para dar el producto BHALys [Lys]₈ [α-NH₂]₈[ε-Boc]₈ (140 mg, 96%) como un aceite casi incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1454,45 [M+2H]/2+, 969,74 [M+3H]/3+, 727,56 [M+4H]/4; calculado C143H257N31O31 2906,80 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 2906,68. Rf (min) = 1,25.

Ejemplo 735 **BHALys [Lys]₈ [α-CBz]₈[ε-NH₂.TFA]₈**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4$	8	NH ₂
	8	CBz

Se suspendió BHALys [Lys]₈ [α-CBz]₈ [ε-Boc]₈ (20,0 mg, 0,005 mmol) en ácido acético (109 μl) y se agitó en un baño de agua. Se añadió cuidadosamente TFA (109 μl). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 5.i para dar BHALys [Lys]₈[α-CBz]₈ [ε-NH₂.TFA]₈ (12,1 mg, 76%) como un sólido de color blanco.

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1060,43 [M+3H]/3+, 795,63 [M+4H]/4+, 636,79 [M+5H]/5+; calculado (C₁₆₇H₂₄₁N₃₁O₃₁) 3178,95 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 3179,25. Rf (min) = 16,6.

Ejemplo 8

BHALys [Lys]₄ [Su[NPN]₂]₈ [NH₂.TFA]₈ [CBz]₈

15

i. N-(Benciloxycarbonil)-3-bromopropilamina

Se añadió TEA (6,91 g, 68,5 mmol) gota a gota a una mezcla enfriada con hielo de bromhidrato de 3-bromopropilamina (10,0 g, 45,6 mmol) y N-(Benciloxycarbonilo)-succinimida (11,22 g, 47,9 mmol) en DCM (200 ml). Se dejó calentar la mezcla agitada a Ta durante una noche, a continuación se lavó con agua, solución saturada de cloruro sódico, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró, proporcionando 11,43 g (92%) de N-(Benciloxycarbonil)-3-bromopropilamina, como un aceite de color amarillo pálido. RMN de ¹H (CDCl₃): 7,35 (m, 5H), 5,10 (s, 2H), 4,89 (s ancho, 1 H), 3,44 (t, J = 6,6 Hz), 3,35 (dd, J = 12,9, 6,3 Hz, 2H), m (2,06, 2H). LCMS (LC: Hidrófobo/TFA, TR = 6,4 min; MS: 294, 296 ([M+ NH₄]⁺, 22%), 272, 274 ([M+ H]⁺, 100%).

25

ii. [NPN]₂[Boc] [CBz]

Se añadió TEA (17,1 ml, 123,5 mmol) gota a gota a una mezcla agitada de N-(Benciloxycarbonil)-3-bromopropilamina (11,20 g, 41,2 mmol) y N-Boc diaminopropano (7,16 g, 41,2 mmol) en DMF (150 ml) a Ta. La mezcla se calentó a 70°C durante una hora, a continuación ca. 2/3 del disolvente se retiraron al vacío. La mezcla de DMF concentrada se diluyó a continuación con agua y se lavó con éter. La mezcla DMF/acuosa se basificó a continuación (NaOH 1,0 M), y se extrajo con éter. Los extractos en éter combinados se lavaron a continuación con agua, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para proporcionar 7,13 g (47%) de [NPN]₂ [Boc] [CBz] como un aceite incoloro transparente. LCMS (LC: Hidrófobo/TFA, TR = 14,0 min; MS: 366 ([M+ H]⁺, 100%), 310 ([M - tBu]⁺, 94%), 266 ([M - Boc]⁺, 94%).

35

iii. HO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO (Boc CBz)	1	CO ₂ H
	1	Boc
	1	CBz

A una mezcla agitada de [NPN]₂ [Boc] [CBz] (6,55 g, 17,9 mmol) en tolueno (60 ml) a Ta se le añadió anhídrido succínico (1,79 g, 17,9 mmol). La mezcla se calentó a 70°C durante una hora y a continuación se concentró. El residuo se disolvió a continuación en EtOAc/éter (5:1) y se lavó con NaOH. Los lavados de base se lavaron a continuación con éter, y a continuación se acidificaron (HCl, 1,0 M, 250 ml). La mezcla acuosa se lavó a continuación con EtOAc (3 x 250 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró, proporcionando 6,97 g (84%) de HO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz] como un aceite viscoso incoloro. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 7,36 (m, 5H), 5,65 (s ancho, 1H), 5,08, 5,10 (2s, 2H), 4,74 (s ancho, 1H), 3,00-3,45 (m, 8H), 2,54-2,72 (m, 4H), 1,60-1,89 (m, 4H), 1,43, 1,45 (2s, 9H). LCMS (LC: hidrófilo/TFA TR = 15,0 min; MS: 466 ([M+ H]⁺, 15%), 366 ([M - Boc]⁺, 100%).

45

iv. PNPO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz]

50

Topología superficial	Estequiometría superficial	
PNPO-CO (Boc CBz)	1	CO-OPNP
	1	Boc
	1	CBz

A una mezcla agitada de 4-nitrofenol (1,91 g, 13,7 mmol) y HO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz] (6,39 g, 13,7 mmol) en EtOAc (150 ml) a Ta, se le añadió DCC (2,97 g, 14,4 mmol), disuelto en EtOAc (50 ml). La mezcla se dejó agitar a Ta durante una noche, a continuación se filtró. La mezcla se lavó a continuación con K₂CO₃ (1,0 M)/solución saturada de cloruro sódico 1:1, solución saturada de cloruro sódico, se secó (MgSO₄), se filtro y se concentró, proporcionando 7,80 g de material impuro. El impuro se purificó a continuación mediante fcc (2% de MeOH en DCM), proporcionando 7,07 g (88%) de PNPO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz]. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 8,24 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,13-7,39 (m, 8H), 5,63 (s ancho, 1H), 5,12 (s ancho, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,95 (s ancho, 1H), 4,62 (s ancho, 1H), 2,98-3,48 (m, 8H), 2,86-2,94 (m, 2H), 2,66-2,74 (m, 2H), 1,58-1,89 (m, 4H), 1,43 (s, 9H). LCMS (LC: Hidrófilo/formiato, TR = 21,0 min; MS: 604 ([M + NH₄]⁺, 36%), 587 ([M + H]⁺, 100%), 531 ([M - tBu]⁺, 19%), 487 ([M - Boc]⁺, 12%).

v. BHALys [Lys]₄ [Su[NPN]₂]₈ [Boc]₈ [CBz]₈

15

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴ ((Boc CBz)(Boc CBz)) ⁴) ⁸ ¹⁶	8	CBz
	8	Boc

A una mezcla agitada de PNPO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz] (564 mg, 0,96 mmol, 9,6 eq.) y BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ (200 mg, 0,10 mmol, 1,0 eq.) en DMF (17 ml), se le añadió TEA (0,28 ml, 2,0 mmol, 20,0 eq.). La mezcla se agitó a Ta durante una noche, el disolvente se retiró al vacío, y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (residuo preadsorbido sobre sílice; impurezas eluidas con el 5% de MeOH en DCM, producto eluido en 10-15% de MeOH) para proporcionar BHALys [Lys]₄ [Su[NPN]₂]₈ [Boc]₈ [CBz]₈ (455 mg, 95%) como un aceite de color amarillo viscoso.

LCMS (LC: Hidrófilo/TFA, TR = 17,05 min; MS: (transformada) 4660 ([M + H]⁺, 10%), 4561 ([M - Boc + H]⁺, 8%), 4460 ([M - 2Boc + H]⁺, 7%), 4360 ([M - 3Boc + H]⁺, 10%), 4260 ([M - 4Boc + H]⁺, 100%).

25

vi. BHALys [Lys]₄ [Su[NPN]₂]₈ [NH₂.TFA]₈ [CBz]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴ ((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴) ⁸ ((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴ ((NH ₂ CBz)(NH ₂ CBz)) ⁴) ⁸ ¹⁶	8	CBz
	8	NH ₂

Se disolvió BHALys [Lys]₄ [Su[NPN]₂]₈ [Boc]₈ [CBz]₈ (93 mg, 19,9 μmol) en ácido acético (2 ml) y se enfrió. A esta mezcla agitada se le añadió a continuación TFA (2 ml), gota a gota, a continuación se dejó calentar a la mezcla a Ta. Después de agitar durante una noche, la mezcla se vertió en agua fría, y a continuación se concentró. El residuo se recogió en agua y se concentró de nuevo (2x), a continuación se liofilizó, proporcionando 103 mg de material sólido de color blanco (108% si se calcula como sal de TFA). LCMS (LC: Hidrófilo/ácido fórmico, TR = 12,57 min; MS: (transformada) 3858 ([M + H]⁺, 100%), 3724 ([M - CBz + H]⁺, 20%), 3589 ([M - 2CBz + H]⁺, 7%).

35

Ejemplo 9

BHALys [Lys]₁₆ [α-Boc]₁₆ [ε-NH₂1]₁₆

40

i. BHALys [Lys]₁₆ [α-Boc]₁₆ [ε-CBz]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{Boc CBz}\right)\left(\text{Boc CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc CBz}\right)\left(\text{Boc CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\text{Boc CBz}\right)\left(\text{Boc CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc CBz}\right)\left(\text{Boc CBz}\right)\right)^4\right)^{8,16}$	16	Boc
	16	Boc
	16	CBz

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₁₆ (0,81 mmol), TFA (4,50 ml, 32,30 mmol) y DMF (30 ml) se le añadió PNPO- α -Boc- ϵ -CBz-Lys (7,94 g, 15,83 mmol) como un sólido y en una porción a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para dar BHALys [Lys]₁₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -CBz]₁₆ (5,79 g, 91%) como un sólido incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) observado [M+H/4]⁺ m/z = 1977; [M+H/5]⁺ m/z = 1582; calculado para C407H609N63O95 7904,9; Rf (min) = 23,51 min.

ii. BHALys [Lys]₁₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -NH₂]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\right)^{8,16}$	16	Boc
$\left(\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\right)^{8,16}$	16	NH ₂

Una suspensión de BHALys [Lys]₁₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -CBz]₁₆ (50 mg, 0,006 mmol), 10% de Pd/C (53 mg) y ácido acético (2 ml) se agitó vigorosamente en hidrógeno a Ta durante 16 h. La suspensión de color negro se filtró. La concentración del filtrado *al vacío* produjo el producto (26 mg, 71%) como un aceite de color pajizo.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) observado [M+H/5]⁺ m/z = 1152; [M+H/6]⁺ m/z = 961; [M+H/7]⁺ m/z = 824; [M+H/8]⁺ m/z = 721; [M+H/9]⁺ m/z = 641; calculado para C279H513N63O63 5758,53; Rf (min) = 2,37 min.

Ejemplo 10

BHALys [Lys]₁₆ [α -NH₂.TFA]₁₆ [ϵ -CBz]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\right)^{8,16}$	16	NH ₂
$\left(\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\left(\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\left(\text{NH}_2\text{ CBz}\right)\right)^4\right)^{8,16}$	16	CBz

Se suspendió BHALys [Lys]₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -CBz]₆ (1000 mg, 0,127 mmol) en ácido acético (5,5 ml) y se agitó a 0°C mientras que se añadía TFA (5,5 ml) gota a gota. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 5.i para dar el producto BHALys [Lys]₁₆ [α -NH₂.TFA]₁₆ [ϵ -CBz]₁₆ como un polvo de color blanco (832 mg, 114%).

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1576,85 [M+4H]⁺/4+, 1261,34 [M+5H]⁺/5+, 1051,27 [M+6H]⁺/6+, 901,15 [M+7H]⁺/7+; calculado (C327H481N63O6 6302,83 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 6301,5. Rf (min) = 19,0.

Ejemplo 11

BHALys [Lys]₁₆ [α -NH₂]₁₆ [ϵ -Boc]₁₆

i. BHALys [Lys]₁₆ [α -4-Nitro-CBz]₁₆ [ϵ -Boc]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8(((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8)^{16}$	16	Boc
$(((((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8(((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8)^{16}$	16	4-Nitro-CBz

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₁₆ (59 mg, 0,015 mmol) y DMF (5 ml) se le añadió pyBOP (248 mg, 0,48 mmol). A esta solución se le añadió una mezcla de HO- α -4-Nitro-CBz- ϵ -Boc-Lys (194 mg, 0,46 mmol), DIPEA. (0,35 ml, 2,00 mmol) y DMF (3 ml) a Ta. La agitación continuó durante 24 h a Ta. Después de este tiempo, la solución transparente pero ahora de color marrón se transfirió a un matraz cónico que contenía ACN (500 ml). Se observó la formación de un fino precipitado que posteriormente se recogió por filtración. A esto se le dejó secar al aire con succión durante una noche, produciendo de este modo el producto BHALys [Lys]₁₆ [α -4-nitro-CBz]₁₆ [ϵ -Boc]₁₆ (98 mg, 76%) como un sólido de tipo vidrio de color naranja/marrón.

10

ii. BHALys [Lys]₁₆ [α -NH₂]₁₆ [ϵ -Boc]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4)^8(((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4)^8)^{16}$	16	Boc
$(((((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4)^8(((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4((\text{Boc NH}_2)(\text{Boc NH}_2))^4)^8)^{16}$	16	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₁₆ [α -4-nitro-CBz]₁₆ [ϵ -Boc]₁₆ (10 mg, 0,0012 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (1 ml) se le añadió Pd/C al 10% (12 mg). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 2.ii para dar el producto BHALys [Lys]₁₆ [α -NH₂]₁₆ [ϵ -Boc]₁₆ (5,4 mg, 81%) como un aceite cristalino de color beige.

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1440,49 [M+4H]⁴⁺. 1152,45 [M+5H]⁵⁺; calculado C₂₇₉H₅₁₃N₆₃O₆₃ 5758,53 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 5757,88. Rf (min) = 8,22.

Ejemplo 12

25 BHALys [Lys]₁₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -NH₂]₁₆

i. BHALys [Lys]₁₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -4-nitro-CBz]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8(((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8)^{16}$	16	Boc
$(((((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8(((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4((\text{Boc 4-Nitro-CBz})(\text{Boc 4-Nitro-CBz}))^4)^8)^{16}$	16	4-Nitro-CBz

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₁₆ (0,25 g, 0,13 mmol), TEA (0,35 ml, 2,51 mmol) y DMF (4 ml) se le añadió PNPO- α -Boc- ϵ -4-nitro-CBz-Lys (0,67 g, 1,23 mmol) como un sólido y en una porción a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i y proporcionaron finalmente BHALys [Lys]₁₆ [α -Boc]₁₆ [ϵ -4-nitro-CBz]₁₆ (500 mg, 91%) como un sólido de color blanquecino.

35

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1725,94 [M+5H]⁵⁺; calculado C₄₀₇H₅₉₃N₇₉O₁₂₇ 8624,64 g/mol. Rf (min) = 8,60.

ii. BHALys [Lys]₁₆[α-Boc]₁₆[ε-NH]₂₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^8\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^8\right)^{16}$	16	Boc
$\left(\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^8\right)^{16}\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^4\left(\left(\text{Boc NH}_2\right)\left(\text{Boc NH}_2\right)\right)^8\right)^{16}$	16	NH ₂

- 5 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₁₆[α-Boc]₁₆[ε-4-nitro-CBz]₁₆ (103 mg, 0,023 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (2 ml) se le añadió Pd/C al 10% (106 mg). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con los procedimientos descritos en el ejemplo 2.ii para dar el producto BHALys [Lys]₁₆ [α-Boc]₁₆ [ε-NH₂]₁₆ (68 mg, 98%) como un aceite cristalino de color beige.
LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1152,51 [M+5H]⁵⁺, 960,59 [M+6H]⁶⁺, 823,70 [M+7H]⁷⁺; calculado
- 10 C279H513N63O63 5758,53 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 5757,94. Rf (min) = 7,06.

Ejemplo 13**15 BHALys [GlyLys]₂[Lys]₄[α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-NH₂]₂ [ε,ε-NH₂]₂**

Parte de este ejemplo se describe en la figura 14A (esquema 3).

i. MeO-GlyLys [α-Boc] [ε-CBz]

20

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO(BocCBz)	1	CO ₂ Me
	1	Boc
	1	CBz

- A una suspensión agitada magnéticamente de MeOGly.HCl (12,56 g, 0,11 mol) y DMF (200 ml) se le añadió lentamente TEA (42 ml, 0,3 mol) a Ta. El éster activo, PNPO-α-Boc-ε-CBz-Lys (50,15 g, 0,1 mol), se añadió a la suspensión en porciones de 2-3 g. La mezcla de reacción ahora de color amarillo brillante se dejó agitar a Ta durante 18 h. Los volátiles se retiraron al vacío y el residuo resultante se repartió entre EtOAc (200 ml), solución al 10% de Na₂CO₃ acuoso (100 ml) y agua (175 ml). La capa orgánica separada se lavó secuencialmente con Na₂CO₃ ac. al 5% (4 x 200 ml), HCl ac. 0,25 M (3 x 50 ml) y solución saturada de cloruro sódico (1 x 50 ml) antes de secarla (MgSO₄), filtrarla y concentrarla a presión reducida para dar MeO-GlyLys [α-Boc] [ε-CBz] (44,39 g, 98%) de un aceite incoloro.
- 25
- 30 LC/MS (Fobo/Formiato): ESI (+ve) m/z = 452,02 [M+H]⁺; calculado C22H33N3O7 451,52 g/mol. Rf (min) = 5,22.

ii. MeO-GlyLys [α-NH₂.TFA] [ε-CBz]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO (NH ₂ CBz)	1	CO ₂ Me
	1	NH ₂
	1	CBz

- 35 A una solución enfriada (baño de agua con hielo) y agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [α-Boc] [ε-CBz] (43,4 g, 96,03 mmol) en ácido acético (150 ml) se le añadió TFA neto en porciones de 1 ml (volumen total de ácido añadido = 150 ml). El baño de refrigeración se retiró y se dejó agitar la mezcla de reacción a Ta durante 4 h. Después de este tiempo, se añadieron otros 20 ml de TFA a la mezcla de reacción y la agitación continuó durante 1 h adicional a Ta. Los volátiles se retiraron posteriormente mediante evaporación rotatoria. Las trazas finales de ácido se retiraron del producto impuro mediante azeotropización con metanol (5 x 200 ml). El producto, MeO-GlyLys [α-NH₂.TFA] [ε-CBz] (46,04 g, 103%), se obtuvo como un aceite de color amarillo pálido.
- 40
- LC/MS (Hidrófilo/Formiato): ESI (+ve) m/z = 352 [M+H]⁺; calculado C17H25N3O5 351,40 g/mol. Rf (min) = 12,33.

iii. MeO-GlyLys [ε-CBz][α-Lys] [Boc]₂

45

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((CBz \emptyset)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ Me
	2	Boc
	1	CBz

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [α -NH₂.TFA] [ϵ -CBz] (96,0 mmol) y DMF (200 ml) se le añadió TEA (33,5 ml, 0,24 mol) seguido por PNPO-Lys(Boc)₂ (49,37 g, 0,106 mol). La solución homogénea se dejó agitar a Ta durante 17 h. se añadió una solución de glicina (3,98 g, 53 mmol) en agua (50 ml) a la mezcla de reacción impura y la agitación continuó durante 18 h adicionales. Se añadió agua (200 ml) al matraz de reacción lo que indujo la precipitación de un sólido de color amarillo. Este material se recogió por filtración y a continuación se resuspendió en Na₂CO₃ ac. al 5% (200 ml). Esta suspensión se dejó agitar durante 1,5 h a Ta. El producto impuro se recogió por filtración y se resuspendió en agua 3 veces más (3 x 200 ml). Los sólidos recogidos por filtración para el momento final se dejaron secar al aire en succión durante 17 h y las trazas finales de humedad se retiraron en alto vacío (bomba de aceite). El compuesto deseado, MeO-GlyLys [ϵ -CBz] [α -Lys] [Boc]₂ (61,07 g, 94%), se obtuvo en última instancia como un polvo fino de color amarillo pálido.
LC/MS (Fobo/Formiato): ESI (+ve) m/z = 680,15 [M+H]⁺; calculado C₃₃H₅₃N₅O₁₀ 679,82 g/mol. Rf (min) = 7,90.

iv. MeO-GlyLys [ϵ -NH₂.TFA] [α -Lys] [Boc]₂

15

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((NH ₂ \emptyset)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ M
	2	Boc
	1	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [ϵ -CBz] [α -Lys] [Boc]₂ (2,00 g, 2,94 mmol), TFA (0,23 ml, 2,99 mmol) y metanol (60 ml) se le añadió cuidadosamente Pd/C al 10% (322 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (Ta, presión atmosférica) durante 4 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto MeO-GlyLys [ϵ -NH₂.TFA] [α -Lys] [Boc]₂ (1,93 g, 99%) como una espuma incolora.
LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 546:45 [M+H]⁺; calculado C₂₅H₄₇N₅O₈ 545,68 g/mol. Rf (min) = 1,27.

v. MeO-GlyLys [Lys]₂ [α , α -Boc] [α , ϵ -Boc] [ϵ , α -CBz] [ϵ , ϵ -CBz]

25

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ M
	2	Boc
	2	CBz

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [ϵ -NH₂.TFA] [α -Lys] [Boc]₂ (922 mg, 1,40 mmol), TEA (0,5 ml, 3,59 mmol) y DMF (25 ml) se le añadió PNPO- α -CBz- ϵ -Boc-Lys (822 mg, 1,65 mmol) como un sólido. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i y proporcionaron finalmente MeO-GlyLys [Lys]₂ [α , α -Boc] [α , ϵ -Boc] [ϵ , α -CBz] [ϵ , ϵ -CBz] (452 mg, 34%) como un sólido de color blanquecino.
LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 942,53 [M+H]⁺; calculado C₄₇H₇₁N₇O₁₃ 942,13 g/mol. Rf (min) = 5,28.

vi. HO-GlyLys [Lys]₂ [α , α -Boc] [α , ϵ -Boc] [ϵ , α -Boc] [ϵ , ϵ -CBz]

35

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ H
	2	Boc
	2	CBz

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [Lys]₂ [α , α -Boc] [α , ϵ -Boc] [ϵ , α -CBz] [ϵ , ϵ -CBz] (452 mg, 0,48 mmol), metanol (6 ml) y agua (3 ml) se le añadió solución de NaOH ac. 1M (1 ml) a Ta. La agitación continuó a Ta durante 3,5 h. la mezcla de reacción ahora transparente pero de color amarillo se concentró a sequedad a presión reducida y el residuo similar a un gel resultante se trató con agua (20 ml) y Éter (20 ml). A la mezcla bifásica se le añadió solución de KHSO₄ ac. 1 M (3 ml) e inmediatamente se formó un precipitado de color blanco. El precipitado se recogió por filtración y se dejó secar al aire en succión durante 48 h. El producto, HO-GlyLys [Lys]₂ [α , α -Boc] [α , ϵ -Boc] [ϵ , ϵ -CBz] [ϵ , ϵ -CBz] (343 mg, 77%), se obtuvo como un sólido incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 928,54 [M+H]⁺; calculado C46H69N7O13 928,10 g/mol. Rf (min) = 4,73.

vii. BHALys [GlyLys]₂[Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [α,α-CBz]₂ [ε,ε-CBz]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	4	Boc
	4	CBz

5

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [NH₂.TFA]₂ (21 mg, 0,039 mmol) y DMF (1,5 ml) se le añadió pyBOP (82 mg, 0,16 mmol). A esta solución se le añadió una mezcla de HO-GlyLys [Lys]₂ [α,α-Boc] [α,ε-Boc] [ε,α-CBz] [ε,ε-CBz] (138 mg, 0,15 mmol), DIPEA (0,1 ml, 0,60 mmol) y DMF (1 ml) a Ta. La agitación continuó durante 48 h a Ta. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción impura se transfirió a un vaso de precipitados que contenía

10 ACN (300 ml). La solución se agitó a Ta durante 2 h tiempo durante el cual, se formó un fino precipitado. Este material se recogió por filtración y se secó al aire en succion durante una noche Este proceso produjo el producto BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-CBz]₂ [ε,ε-CBz]₂ (66 mg, 83%) como un sólido de color blanquecino.

15 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1066,52 [M+2H]²⁺; calculado C111 H159N17O25 2131,58 g/mol. Rf (min) = 7,07.

viii. BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-NH₂]₂ [ε,ε-NH₂]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ NH ₂)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ NH ₂)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	4	Boc
	4	NH ₂

20 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [GlyLys(Boc)₂(CBz)₂]₂ (60 mg, 0,028 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (3 ml) se le añadió Pd/C al 10% (59 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (Ta, presión atmosférica) durante 17 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-NH₂]₂ [ε,ε-NH₂]₂ (42 mg, 95%) como un sólido cristalino de color beige.

25 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1595,71 [M+H]⁺, 798,20 [M+2H]²⁺; calculado C79H135N17O17 1595,05 g/mol. Rf (min) = 8,69.

Ejemplo 14

30 **BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-NH₂]₄ [ε,ε-NH₂]₄**

i. BHALys [Lys]₂[GlyLys]₄ [Lys]₈[α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-CBz]₄ [ε,ε-CBz]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz CBz)(Boc Boc)) ⁴) ¹⁶	8	Boc
	8	CBz

35 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (21 mg, 0,021 mmol) y DMF (1,5 ml) se le añadió pyBOP (88 mg, 0,17 mmol). A esta solución se le añadió una mezcla de HO-GlyLys [Lys]₂ [α,α-Boc] [α,ε-Boc] [ε,α-CBz] [ε,ε-CBz] (148 mg, 0,16 mmol), DIPEA (0,11 ml, 0,63 mmol) y DMF (1 ml) a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 11.i para proporcionar los productos BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄[ε,α-CBz]₄ [ε,ε-CBz]₄ (78 mg, 70%)

40 como un sólido de color blanquecino.
LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1403,39 [M+3H]³⁺; calculado C215H317N35O51 4208,09 g/mol. Rf (min) = 8,10.

ii. BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄[ε,ε-NH₂]₄

45

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((((\text{NH}_2 \text{ NH}_2)(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \text{ NH}_2)(\text{Boc Boc}))^4)^8((\text{NH}_2\text{NH}_2)(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \text{ NH}_2)(\text{Boc Boc}))^4)^{16}$	8	Boc
	8	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂[GlyLys(Boc)₂(CBz)₂]₄ (64 mg, 0,015 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (3 ml) se le añadió Pd/C al 10% (65 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (Ta, presión atmosférica) durante 17 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto BHALys [Lys]₂[GlyLys]₄[Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-NH₂]₄ [ε,ε-NH₂]₄ (43 mg, 90%) como un sólido cristalino de color beige. LC/MS (Filo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1568,12 [M+2H]/2+, 1045,70 [M+3H]/3+, 784,54 [M+4H]/4+; calculado C₁₅₁H₂₆₉N₃₅O₃₅ 3135,01 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 3134,15. Rf (min) = 8,75.

Ejemplo 15

HOGlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz]

Esta síntesis se representa en las figuras 14A y 14B como los esquemas 3 y 4.

i. MeO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((CBz Boc)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ Me
	3	Boc
	1	CBz

Se añadió PNPO-Lys-α-Boc-ε-CBz (535 mg, 1,07 mmol) a una solución agitada de MeO-GlyLys [ε-NH₂.TFA] [α-Lys] [Boc]₂ (640 mg, 0,97 mmol) en dimetilformamida (10 ml). Se añadió TEA (340 μl, 2,43 mmol) y la reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para dar MeOGlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz] (818 mg, 93%) como una espuma quebradiza de color blanco.

rmn de ¹H (300 MHz, CD₃OD δ (ppm): 1,2-2,0 (m, 45H); 3,03 (t, J 6,6 Hz, 2H); 3,12 (t, J 6,6 Hz, 2H); 3,19 (m, 2H); 3,71 (s, 3H); 3,88 (d, J 17,4 Hz, 1H); 3,93-4,06 (m, 2H); 4,00 (d, J 17,7 Hz, 1H); 4,38 (dd, J 5,4, 8,4 Hz, 1 H) ; 5,07 (s, 2H); 7,25-7,45 (m, 5H).

LC/MS (Hidrófobo/Formiato): ESI (+ve) observado [M + H]⁺ m/z = 908,4; calculado para C₄₄H₇₄N₇O₁₃ 908,5; observado [M + NH₄]⁺ m/z = 925,4; calculado para C₄₄H₇₇N₈O₁₃ 925,5. Rf (min) = 9,5.

ii. HO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((CBz Boc)(Boc Boc)) ₄	1	CO ₂ H
	3	Boc
	1	CBz

Se disolvió MeOGlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz] (500 mg, 0,55 mmol) en una solución de hidróxido sódico (44 mg, 1,10 mmol) en metanol (8 ml) y agua (4 ml). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 13.vi para dar HO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz] (481 mg, 96%) como un sólido amorfo de color blanco.

rmn de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 1,2-2,0 (m, 45H); 3,03 (t, J 6,6 Hz, 2H); 3,12 (t, J 6,6 Hz, 2H); 3,19 (m, 2H); 3,84 (d, J 18,0 Hz, 1H); 3,95-4,07 (m, 2H); 3,97 (d, J 17,7 Hz, 1 H); 4,39 (dd, J 5,4, 8,4 Hz, 1 H); 5,07 (s, 2H); 7,25-7,38 (m, 5H).

LC/MS (Hidrófobo/TFA): ESI (+ve) observado [M + H]⁺ m/z = 894,3; calculado para C₄₃H₇₂N₇O₁₃ 894,5. Rf (min) = 8,4.

iii. BHALys-[GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-CBz]₂ (C₁₀₅H₁₆₃N₁₇O₂₅ MW 2063.5)

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{CBz Boc})(\text{Boc Boc}))^4((\text{CBz Boc})(\text{Boc Boc}))^4)^8$	6	Boc
	2	CBz

Se añadió *N,N*-Diciclohexilcarbodiimida (186 mg, 0,90 mmol) a una solución de HOGlyLys [Lys]₂ [Boc]₃ [ε,ε-CBz]₂ (536 mg, 0,60 mmol), BHALys [NH₂.TFA]₂ (135 mg, 0,250 mmol), 4,4-dimetilaminopiridina (7,3 mg, 60 μmol) y TEA (210 μl, 1,50 mmol) en dimetilformamida (10 ml). La solución se agitó a Ta durante 15 h y los componentes volátiles se retiraron a continuación al vacío. Cromatografía en gel de sílice (gradiente de metanol/DCM) dio BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-CBz]₂ (245 mg, 47%). Una pequeña muestra (20 mg) se trató con ácido acético/TFA de la manera habitual para proporcionar datos analíticos.

LC/MS (Filo/TFA): ESI (+ve) observado [M + H]⁺ m/z = 1463,2; calculado para C₇₅H₁₁₆N₁₇O₁₃ 1462,9.

10

iv. BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-NH₂]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{NH}_2 \text{ Boc})(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \text{ Boc})(\text{Boc Boc}))^4)^8$	2	NH ₂
	6	Boc

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [GlyLys(Boc)₃(CBz)₂] (95 mg, 0,046 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (2 ml) se le añadió Pd/C al 10% (16,4 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (Ta, presión atmosférica) durante 19 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [box]₆ [ε,ε-NH₂]₂ (83 mg, 93%) como un sólido similar al cristal.

LC/MS (Fobo/Formiato): ESI (+ve) m/z = 898,50 [M+2H]²⁺; calculado C₈₉H₁₅₁N₁₇O₂₁ 1795,23 g/mol. Rf (min) = 4,34.

20

Ejemplo 16

BHALys [Lys]₁₆ [α,α-Boc]₈ [α,ε-Boc]₈ [ε,α-Boc]₈ [ε,ε-CBz]₈

25

i. BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((((\text{CBz } \emptyset)(\text{Boc Boc}))_4((\text{CBz } \emptyset)(\text{Boc Boc}))_4)_8(((\text{CBz } \emptyset)(\text{Boc Boc}))_4((\text{CBz } \emptyset)(\text{Boc Boc}))_4)_8)_8$	16	Boc
	8	CBz

Se añadieron PNPO-Lys(Boc)₂ (3,6 g, 7,2 mmol) y TEA (2,1 ml, 15 mmol) a una solución agitada de BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-NH₂.TFA]₈ (3 g, 0,75 mmol) en DMF (30 ml). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para proporcionar BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ como un polvo de color blanco (4,2 g, 98%).

LC/MS (Hidrófobo rápido/TFA): Rf(min)= 13,70; ESI (+ve) m/z= 1936 ([M+3]/3), 1452 ([M+4]/4), 1062 ([M+5-Boc]/5).; Calc. C₂₉₅H₄₆₅N₄₇O₇₁. M+1. 5083,4

35

ii. BHALys [Lys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{box Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4)^8(((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4)^8)_8$	16	Boc
$((((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4)^8(((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4)^8)_8$	8	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (2,2 g, 0,38 mmol) en ácido acético (30 ml) se le añadió Pd/C al 10% (101 mg, 0,095 mmol). La mezcla homogénea resultante estuvo a Ta durante 16 h en hidrógeno. La solución se filtró y se concentró al vacío. El residuo pegajoso resultante se redisolvió en agua y se liofilizó para proporcionar BHALys [Lys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (1,97 g, 0,38 mmol) que contenía algo

40

de residuo de ácido acético.

LC/MS (Hidrófilo/TFA): Rf(min)= 18,53; ESI (+ve) m/z= 1184 ([M+4]/4), 947 ([M+5]/5), 790 ([M+6]/6).; Calc. C231H417N47O55. M+1. 4731,1

5 **iii. BHALys [Lys]₁₆ [α,α-Boc]₈ [α,ε-Boc]₈ [ε,α-Boc]₈ [ε,ε-CBz]₈**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^8\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^{8,16}\right)$	24	Boc
$\left(\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^8\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{CBz Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^{8,16}\right)$	8	CBz

Se añadieron PNPO-α-Boc-ε-CBz-Lys (90 mg, 0,18 mmol) y TEA (0,05 ml, 0,35 mmol) a una solución agitada de BHALys [Lys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (90 mg, 0,019 mmol) en DMF (10 ml). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para proporcionar BHALys [Lys]₁₆ [α,α-Boc]₈ [α,ε-Boc]₈ [ε,α-Boc]₈ [ε,ε-CBz]₈ (51 mg, 35%)
 10 LC/MS (Fobo TFA Rp rápida): Rf(min)= 14,32; ESI (+ve) m/z= 2544 ([M+3]/3), 1909 ([M+4]/4), 1527 ([M+5]/5).; Calc. C383H625N63O95. M+1. 7629

15 **Ejemplo 17**

BHALys [Lys]₁₆ [α,α-Boc]₈ [α,ε-Boc]₈ [ε,α-Boc]₈ [ε-ε-Fmoc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$\left(\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^8\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^{8,16}\right)$	24	Boc
	8	Fmoc
$\left(\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^8\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^4\left(\left(\text{Fmoc Boc}\right)\left(\text{Boc Boc}\right)\right)^{8,16}\right)$		

20 Se añadieron PFP-Lys-α-Boc-ε-Fmoc (96 mg, 0,15 mmol) y TEA (0,04 ml, 0,27 mmol) a una solución agitada de BHALys [Lys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (100 mg, 0,017 mmol) en DMF (10 ml). Se agitó la solución a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se añadió a continuación a ACN (100 ml) produciendo un precipitado gelatinoso transparente. Este precipitado se recogió por filtración y se lavó con ACN. El precipitado se secó a Ta para proporcionar BHALys [Lys]₁₆ [α,α-Boc]₈ [α,ε-Boc]₈ [ε,α-Boc]₈ [ε,ε-Fmoc]₈ (30 mg, 21 %)

25 LC/MS (Hidrófobo/TFA): Rf (min)= 7,72 ; ESI (+ve) m/z= 1667 ([M+5]/5), 1389 ([M+6]/6), 1191([M+7]/7).; Calc. C439H657N63O95. M+1 8332

Ejemplo 18

30 **HO Su(NPN)₂ [Su(NPN)₂]₂ [CBz] [Boc]₃**

Parte de esta síntesis se ilustra esquemáticamente en la figura 13 (esquema 2).

i. EtO-Sur[NPN]₂[Boc] [CBz]

35

Topología superficial	Estequiometría superficial	
EtO-CO(Boc CBz)	1	CO-OEt
	1	Boc
	1	CBz

Una mezcla agitada de PNPO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz] (1,0 g, 1,7 mmol) y TEA (0,5 g, 4,95 mmol) en EtOH (80 ml) se calentó a 70°C durante 16 h, se concentró, a continuación se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (PNPOH retirado con hexano/EtOAc 1:1, éster etílico con EtOAc solamente) para dar EtO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz] como un
 40 aceite. LCMS (LC: Hidrófilo/formiato, TR = 17,8 min; MS: 511 ([M + NH₄]⁺, 10%), 494 ([M+ H]⁺, 100%).

ii. EtO-Su[NPN]₂ [NH₂.TFA] [CBz]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
EtO-CO (NH ₂ CBz)	1	CO-OEt
	1	NH ₂
	1	CBz

Se disolvió EtO-Su[NPN]₂ [Boc] [CBz] (720 mg, 1,46 mmol) en ácido acético (10 ml) y se enfrió ligeramente. A esta mezcla agitada se le añadió a continuación TFA (10 ml), gota a gota. Después de 30 min., el baño con hielo se retiró, y después de 5 horas la mezcla se concentró al vacío. El residuo se recogió en agua, a continuación se concentró para retirar el exceso de ácido. esto se repitió (2x), a continuación la muestra se recogió en agua y se liofilizó, proporcionando EtO-Su[NPN]₂ [NH₂.TFA] [CBz] como un aceite incoloro, 715 mg (97% si calc. sal de TFA). LCMS (LC: Hidrófilo/TFA, TR = 12,47 min; MS: 394 ([M+ H]⁺, 100%).

iii. EtO-Su[NPN]₂ [CBz] [Su[NPN]₂] [Boc]₂

10

Topología superficial	Estequiometría superficial	
EtO-CO ((CBz Ø)(Box Boc)) ⁴	1	CO-OEt
	2	Boc
	1	CBz

A una mezcla agitada de EtO-Su[NPN]₂ [NH₂.TFA] [CBz] (715 mg, 1,41 mmol) en DMF (20 ml), se le añadió PNPOSu[NPN]₂ [Boc]₂ (778 mg, 1,41 mmol) y TEA (0,49 ml, 3,52 mmol). La mezcla se agitó a Ta durante una noche, el disolvente se retiró al vacío, y el residuo se recogió en EtOAc (100 ml). Esta mezcla se lavó con una solución de K₂CO₃ (5%), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró. El impuro se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (MeOH al 10% en DCM), proporcionando 0,95 g (84%) de EtO-Su[NPN]₂ [CBz] [Su[NPN]₂] [Boc]₂ como un aceite viscoso. LCMS (LC: Hidrófobo/formiato, TR = 6,91 min; MS: 807 ([M+ H]⁺, 100%), 824 ([M + NH₄]⁺, 32%).

20

iv. EtO-Su[NPN]₂ [NH₂] [Su[NPN]₂] [Boc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
EtO-CO ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴	1	CO-OEt
	2	Boc
	1	NH ₂

A una mezcla agitada de EtO-Su[NPN]₂ [CBz] [Su[NPN]₂] [Boc]₂ (865 mg, 1,07 mmol) en DMF/H₂O (9:1, 19 ml) se le añadió formiato de amonio (135 mg, 1,07 mmol) y Pd/C al 10% (288 mg, 0,25 equiv. Pd). La mezcla se agitó durante 2 h a Ta, se filtró y se concentró. El residuo se recogió en agua, a continuación se concentró para retirar el exceso de ácido. Esto se repitió (2x), a continuación la muestra se recogió en agua y se liofilizó, proporcionando 672 mg (93%) de EtO-Su[NPN]₂ [NH₂] [Su[NPN]₂] [Boc]₂ como un aceite incoloro. LCMS (LC: Hidrófilo/TFA, TR = 13,9 min; MS: 673 ([M+ H]⁺, 37%), 259 (100%).

30

v. EtO-Su[NPN]₂ [Su[NPN]₂] [CBz] [Boc]₃

Topología superficial	Estequiometría superficial	
EtO-CO ((CBz Boc)(Boc Boc)) ⁴	1	CO-OEt
	3	Boc
	1	CBz

A una mezcla agitada de EtO-Su[NPN]₂ [NH₂] [Su[NPN]₂] [Boc]₂ (739 mg, 1,1 mmol) en DMF (20 ml), se le añadió PNPOSu[NPN]₂ [Boc] [CBz] (644 mg, 1,1 mmol) y TEA (0,38 ml, 2,7 mmol). La mezcla se agitó a Ta durante una noche, el disolvente se retiró al vacío, y el residuo se recogió en EtOAc (150 ml). Esta mezcla se lavó con una solución de K₂CO₃ (5%), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró, proporcionando 1,30 g (106%) de material impuro, EtO-Su[NPN]₂ [Su[NPN]₂] [CBz] [Boc]₃ como un aceite de color amarillo pálido. LCMS (LC: Hidrófobo/formiato, TR = 3,3 min; MS: 1138 ([M + NH₄]⁺, 2%), 1121 ([M+ H]⁺, 3%), 561 ([M + 2H/2]⁺, 100%).

40

vi. HO-Su[NPN]₂ [Su[NPN]₂] [CBz] [Boc]₃

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((CBz Boc)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ H
	3	Boc
	1	CBz

A una mezcla agitada de EtOSu[NPN]₂ [Su[NPN]₂]₂ [CBz] [Boc]₃ (0,6 g, 0,6 mmol) en THF (10 ml) se le añadió una solución de NaOH (H₂O 4 ml, NaOH 127 mg, 3,0 mmol). La mezcla se agitó durante 2 d a Ta, se concentró, y a continuación se diluyó con HCl diluido (50 ml). La fase acuosa se lavó a continuación con EtOAc, los extractos orgánicos se combinaron, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para proporcionar 0,8 g de un sólido de color blanco.

Ejemplo 19

10

BHALys [α-GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ [ε-GlyLys] [Lys]₂[NH₂]₄

i. MeO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ Me
	4	Boc

15

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [ε-NH₂.TFA] [α-Lys] [Boc]₂ (968 mg, 1,47 mmol), TEA (0,51 ml, 3,66 mmol) y DMF (25 ml) se le añadió PNPO-α-Boc-ε-Boc-Lys (1,38 g, 2,95 mmol) como un sólido y en una porción a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 13.iii para dar MeO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ (1,19 g, 93%) como un sólido casi incoloro.

20 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 874,40 [M+H]⁺; calculado C₄₁H₇₅N₇O₁₃ 874,09 g/mol. Rf (min) = 4,83.

ii. MeO-GlyLys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((NH ₂ NH ₂)(NH ₂ NH ₂)) ⁴	1	CO ₂ Me
	4	Boc

25 A una suspensión enfriada (baño de agua con hielo) y agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ (1,19 g, 1,36 mmol) y DCM (60 ml) se le añadió TFA neto (4,2 ml, 54,5 mmol) gota a gota. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 12. El producto MeO-GlyLys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (1,15 g, 91%) se obtuvo como un sólido cristalino.

LC/MS (Filo/TFA): ESI (+ve) m/z = 474,23 [M+H]⁺; calculado C₂₁H₄₃N₇O₅ 473,62 g/mol Rf (min) = 0,59.

30

iii. MeO-GlyLys [Lys]₂ [4-Nitro-CBz]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
MeO-CO ((4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)(4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)) ⁴	1	CO ₂ M
	4	4-Nitro-CBz

35 A una mezcla agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [Lys]₂[NH₂.TFA]₄ (606 mg, 0,65 mmol), THF (12 ml) y DIPEA (1,4 ml, 8,03 mmol) se le añadió, en una porción y como un sólido, 4-nitrobencilcloroformiato (853 mg, 3,96 mmol). La suspensión se dejó agitar a Ta durante 19 h adicionales. La mezcla de reacción impura se transfirió a un vaso de precipitados que contenía una mezcla 1:1 de ACN y agua (200 ml). La suspensión se agitó durante 2 h antes de ser filtrada y los sólidos recogidos se dejaron secar durante una noche en succión. El producto deseado MeO-GlyLys [Lys]₂ [4-Nitro-CBz]₄ (367 mg, 47%) se obtuvo como un sólido de color amarillo pálido.

40 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1190,35 [M+H]⁺; calculado C₅₃H₆₃N₁₁O₂₁ 119 RF (min) = 5,17.

iv. HO-GlyLys [Lys]₂ [4-Nitro-CBz]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)(4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)) ⁴	1	CO ₂ H
	4	4-Nitro-CBz

A una suspensión agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [Lys]₂ [4-Nitro-CBz]₄ (297 mg, 0,25 mmol), metanol (3ml) y agua (1,5 ml) se le añadió solución de NaOH ac. 1 M (1 ml). La suspensión se agitó a 60 °C durante ca. 5 h tiempo después del cual, el análisis por LCMS de la mezcla de reacción impura consideró la reacción completa. A la mezcla se le añadió solución de KHSO₄ ac. 1 M (2 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 min, la suspensión se filtró. Los sólidos retenidos se dejaron secar al aire en succión durante una noche. El producto, HO-GlyLys [Lys]₂ [4-Nitro-CBz]₄ (41 mg, 14%) se obtuvo como un sólido de color gris claro. LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1176,35 [M+H]⁺; calculado C₅₂H₆₁N₁₁O₂₁ 1176,13 g/mol. Rf (min) = 4,85.

10

v. HO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ H
	4	Boc

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ (1,0 g, 1,14 mmol), metanol (12 ml) y agua (6 ml) se le añadió solución de NaOH ac. 1M (2,2 ml) a Ta. La mezcla de reacción se agitó a Ta durante 18 h. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 13.vi para dar HO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ (1,05 g, 107%) como un sólido incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 860,62 [M+H]⁺; calculado C₄₀H₇₃N₇O₁₃ 860,07 g/mol. Rf (min) = 4,41.

20 vi. PNPO-GlyLys [Lys]₂[Boc]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
PNPO-CO ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴	1	CO-OPNP
	4	Boc

A una solución agitada magnéticamente de HOGlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ (983 mg, 1,14 mmol) y EtOAc (20 ml) se le añadieron, en el siguiente orden, *p*-nitrofenol (175 mg, 1,26 mmol) y DCC (260 mg, 1,26 mmol). Después de agitar a Ta durante ca. 5 min, la mezcla de reacción se convirtió en una pasta semilíquida debido a la formación de un precipitado similar a un gel. La agitación continuó a Ta durante 22 h adicionales. La mezcla de reacción impura se diluyó tras la adición de EtOAc (10 ml) y a continuación se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para dar PNPO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ como un sólido de color naranja/amarillo.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 981,71 [M+H]⁺; calculado C₄₆H₇₆N₈O₁₅ 981,16 g/mol. Rf (min) = 5,65.

30

vii. BHALys [α-Boc] [ε-Fmoc]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(Boc Fmoc)	1	Boc
	1	Fmoc

Se disolvió HO-Lys-α-Boc-ε-Fmoc (10,34g, 22,1 mmol) en DMF seco (100 ml) y se enfrió. Se añadió DCC (4,74, 23,0 mmol) seguido por HOBt (3,12 g, 23,1 mmol). Se disolvió BHA (5 ml, 28,9 mol) en DMF seco (25 ml) y se añadió gota a gota a la reacción en argón. La reacción se agitó a Ta durante una noche. Se filtró DCU y el filtrado se repartió entre EtOAc y agua. la capa orgánica se lavó con Na₂CO₃ 0,3 M, a continuación con solución saturada de cloruro sódico, seguida por KHSO₄ 0,1 M y a continuación solución saturada de cloruro sódico. La solución de EtOAc se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para dar BHALys [α-Boc] [ε-Fmoc] como un sólido de color amarillo pálido. El material se sometió a alto vacío durante una noche (14,36 g, 22,6 mmol, 103%) EtOAc, ¹H (300MHz, D₆DMSO) λ 1-1,7 (15H); 2,9 (2H); 4,15-4,4 (3H) 6,1 (1 H) 7,1-8 (18H)HPLC (Hidrófobo) TR 12,92 min

ESI MS (+ve) 634,16 (M+H)⁺; Calc. MF C₃₉H₄₃N₃O₅ M+H. 633,79

45 viii. BHALys [ε-Fmoc] [α-NH₂.TFA]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(Boc NH ₂)	1	NH ₂
	1	Fmoc

Se suspendió BHALys [α -Boc] [ϵ -Fmoc] (14,26g, 22,5mmol) en DCM (40 ml) y se enfrió, formando un gel. Se añadió TFA (30 ml, 43,2 mmol) lentamente mediante un embudo de decantación que disolvió el gel y la solución homogénea se agitó durante 4 horas a Ta y a continuación se concentró para dar BHALys [ϵ -Fmoc] [α -NH₂.TFA] como un aceite amarillo. HPLC (hidrófobo) TR = 8,59 min; ESI MS (+ve) 534,19 (M+H)⁺; Calc MF: C₃₄H₃₅N₃O₃; M+H: 533,68 rmn de ¹H (MG-036-110-04) (300MHz, D₆DMSO) λ (ppm) 1,0-1,8 (30H); 2,8-3,0 (4H); 3,9 (1 H); 4,2-4,5 (4H); 6,1 (1 H); 7,2-7,9 (18H)

10 **ix. BHALys [ϵ -Fmoc] [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((4-Nitro-CBz \emptyset)(\emptyset)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	1	4-Nitro-CBz
	4	Boc

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [α -NH₂.TFA]₄ [ϵ -Fmoc] (75 mg, 0,12 mmol) y DMF (2 ml) se le añadió PNPO-GlyLys [Lys]₂ [Boc]₄ (230 mg, 0,23 mmol) seguido por trietilamina (22 μ l, 0,16 mmol). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 13.iii para dar HALys [ϵ -Fmoc] [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄, en forma impura, (314 mg) como un residuo similar a goma de color amarillo claro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1375,69 [M+H]⁺; calculado C₇₄H₁₀₆N₁₀O₁₅ 1375,73 g/mol. Rf (min) = 7,14.

20 **x. BHALys [ϵ -NH₂] [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ \emptyset)(\emptyset)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	1	NH ₂
	4	Boc

Se añadió piperidina (1 ml) a una mezcla agitada magnéticamente de BHALys[α -GlyLys(Boc)₄][ϵ -Fmoc] (0,12 mmol) y DMF (4 ml). La agitación continuó a temperatura ambiente durante 50 min. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se trató con acetato de etilo (ca. 100 ml). El precipitado que se formó se recogió y se dejó secar al aire en succión durante 2 h. El producto, BHALys [ϵ -NH₂] [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ (33 mg, 24%) se obtuvo como un sólido de color amarillo claro.

LC/MS (Filo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1153,70 [M+H]⁺; calculado C₅₉H₉₆N₁₀O₁₃ 1153,47 g/mol. Rf (min) = 10,51.

30 **xi. BHALys [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ [ϵ -GlyLys] [Lys]₂ [4-NitroCBz]₄**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)(4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	4	4-Nitro-CBz
	4	Boc

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [ϵ -NH₂] [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ (26 mg, 0,02 mmol) y DMF (1 ml) se le añadió pyBOP (23 mg, 0,044 mmol). A esta solución se le añadió una mezcla de HO-GlyLys [Lys]₂ [4-Nitro-CBz]₄ (40 mg, 0,034 mmol), DIPEA (25 μ l, 0,14 mmol) y DMF (0,5 ml) a Temperatura ambiente. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 11.i. El producto BHALys [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ [ϵ -GlyLys] [Lys]₂ [4-NitroCBz]₄ (7,8 mg,15%) se obtuvo como un sólido de color gris.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1156,63 [M+2H]²⁺; calculado C₁₁₁H₁₅₅N₂₁O₃₃ 2311,59 g/mol. Rf (min) = 7,02

40

xii. BHALys [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ [ϵ -GlyLys] [Lys]₂[NH₂]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)(4-Nitro-CBz 4-Nitro-CBz)) ⁴ ((NH ₂ NH ₂)(NH ₂ NH ₂)) ⁴) ⁸	4	4-Nitro-CBz
	4	NH ₂

Una suspensión de BHALys [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ [ϵ -GlyLys] [Lys]₂ [4-NitroCBz]₄, 2,2,2-trifluoroetanol (3 ml) y Pd/C al 10% se sometió a condiciones de hidrogenación a alta presión (temperatura ambiente, 50 PSI) durante 1,5 h. Después de ese tiempo, la suspensión de color negro se filtró y el filtrado recogido se concentró a presión reducida.

- 5 El producto BHALys [α -GlyLys] [Lys]₂ [Boc]₄ [ϵ -GlyLys] [Lys]₂ [NH₂]₄ (4,1 mg, 76%) se obtuvo como una mancha oleosa clara e incolora.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 798,08 [M+2H]²⁺; calculado C₇₉₅H₁₃₅N₁₇O₁₇ 1595,06 g/mol. Rf (min) = 3,33.

Ejemplo 20

10

BHALys [Lys]₂ [α -NH₂]₂ [ϵ -Lys]₂ [Boc]₄

Parte de esta síntesis se ilustra esquemáticamente en la figura 12 (esquema 1).

- 15 **i. BHALys [NH₂.TFA]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(NH ₂ NH ₂)	2	NH ₂

Se suspendió BHALys [Boc]₂ (10,014 g, 19,6 mmol) en DCM (30 ml) y se enfrió, formando un gel. Se añadió TFA (30 ml, 43,2 mmol) lentamente mediante un embudo de decantación, que disolvió el gel y la solución homogénea se agitó durante una noche a Ta. La mezcla de reacción se añadió lentamente a Éter enfriado con hielo (300 ml) con agitación, para formar un fino precipitado de color blanco. El sólido suspendido se recogió por filtración, se lavó con Éter (50 ml x2) disuelto en agua y se liofilizó para dar BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₂ (10,2 g, 18,9 mmol, 97%).

- 20 HPLC (hidrófilo/formiato) TR = 11,8 min; ESI MS (+ve) 311,83 (M+H)⁺; Calc MF: C₁₉H₂₅N₃O; M+H: 311.43

- 25 **ii. BHALys [Lys]₂ [α -Fmoc]₂ [ϵ -Boc]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Fmoc Boc)(Fmoc Boc)) ⁴	1	Fmoc
	3	Boc

Se disolvieron DIPEA (6,8 ml, 39,0 mmol) y BHALys [NH₂.TFA]₂ (10,2 g, 18,9 mmol) en DMF seco (30 ml) gota a gota en argón a una solución de PFP-Lys- α -Fmoc- ϵ -Boc (37,4 g, 38,9 mmol) en DMF seco (70 ml). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para proporcionar BHALys [Lys]₂ [α -Fmoc]₂ [ϵ -Boc]₂ como un precipitado de color blanco (18,9 g, 15,6 mmol, 79,5%).

- 30 **iii. BHALys [Lys]₂ [α -Fmoc]₂ [ϵ -NH₂.TFA]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((NH ₂ Boc)(Fmoc Boc)) ⁴	1	NH ₂
	3	Boc

35

Se suspendió BHALys [Lys]₂ [α -Fmoc]₂ [ϵ -Boc]₂ (18,4 g, 15,2 mmol) en DCM (75 ml) y se enfrió, formando un gel. Se añadió TFA (75 ml, 1,08 mol) lentamente. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 19.ii para dar BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -NH₂.TFA]₂ en rendimiento cuantitativo. (19,2 g, 15,8 mmol) - TFA residual presente.

- 40 HPLC (hidrófobo) TR = 10,4min; ESI MS (+ve) 1012,15 (M+H)⁺; Calc MF: C₆₁H₆₉N₇O₇; M+H: 1013,27

- iv. BHALvs [Lys]₂ [α -Fmoc]₂ [ϵ -Lys]₂ [Boc]₄**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Fmoc Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((Fmoc Ø)(Boc Boc)) ⁴) ^B	2	Fmoc
	4	Boc

- 45 Se añadió BHALys [Lys]₂ [α -Fmoc]₂ [ϵ -NH₂.TFA]₂ (19,2 g, 15,5 mmol) disuelto en DMF seco (90 ml) gota a gota en argón a una solución de PNPO-Lys(Boc)₂ (17,4 g, 37,2 mmol) y DIPEA (8,5 ml, 48,8 mmol) en DMF seco (250 ml) en hielo. Una vez que la adición estaba completa, la reacción se agitó durante una noche a Ta. La mezcla de reacción se añadió lentamente a ACN (2 l) con agitación vigorosa para formar un precipitado de color blanco. La suspensión

- se agitó durante 30 minutos, después de los cuales el precipitado se recogió. El sólido filtrado se lavó con ACN y se secó dando un sólido de color blanco (20,42 g), que era insoluble en un disolvente de HPLC adecuado. 23 mg se desprotegeron para análisis por LCMS usando el procedimiento de desprotección de Boc estándar y los datos mostraron reacción incompleta. Se añadió PNPO-Lys(Boc)₂ (7,1 g, 15,2 mmol) a una solución del material que reaccionó parcialmente (20,4g) disuelto en DMF (315 ml), seguido por DIPEA (2,6 ml, 15,2 mmol) y se agitó durante una noche a Ta. La mezcla de reacción se vertió en ACN (2 l) y el precipitado se recogió. El sólido filtrado se lavó con ACN (250 ml x 3) y se secó durante una noche a 40°C para dar BHALys [Lys]₂ [α-Fmoc]₂ [Lys]₂ [Boc]₄ como un sólido de color blanco (19,6 g, 11,7 mmol, 72%)
 HPLC (Hidrófobo): rf 8,2min. ESI MS (+ve) 1268,72 (M+H)⁺; 634,97((M+2H⁺)/2). Calc. MF C₉₃H₁₂₅N₁₁O₁₇; M+H⁺.
 10 1669.1

v. BHALys [Lys]₂ [α-NH₂]₂ [ε-Lys]₂ [Boc]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ₄ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ₄) ₈	2	NH ₂
	4	Boc

- 15 Una solución de piperidina (11,6 ml, 145 mmol) en DMF (120 ml) se añadió a BHALys [Lys]₂ [α-Fmoc]₂ [ε-Lys]₂ [Boc]₄ (19,6 g) a Ta formando una solución de color amarillo. La reacción se agitó a Ta durante 3 horas, después de las cuales se desarrolló una ligera turbidez. La suspensión se concentró a aproximadamente 70 ml y se añadió a una pasta semilíquida de agua con hielo con agitación. Se formó un fino, precipitado ligeramente amarillo y este se recogió. Se añadió metanol para disolver el sólido. El filtrado se concentró (10,2 g) y el sólido se purificó mediante
 20 cromatografía ultrarrápida usando 50:1:1 Isopropanol:agua:amoníaco concentrado, dando BHALys [Lys]₂ [α-NH₂]₂ [ε-Lys]₂ [Boc]₄ como un sólido de color blanco (7,83 g, 6,4 mmol, 54%)
 HPLC (Hidrófobo) TR = 8,75 min. ESI MS (+ve) 1224,81 (M+H)⁺; 612,85 ((M+2H⁺)/2) Calc MF: C₆₃H₁₀₅N₁₁O₁₃; M+H: 1224,61. ¹H (300MHz, MeOD) λ (ppm) 1,2-1,8 (66H); 2,9-3,35 (5H); 3,85-4,0 (3H); 4,45 (1 H); 6,2 (1 H); 7,2-7,4 (10H)

25 Ejemplo 21

Demostración de retirada de grupo protector ortogonal.

30 BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-NH₂]₈ [ε-Boc]₈

i. BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [Boc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((((CBz Ø)(Fmoc Boc)) ₄ ((CBz Ø)(Fmoc, Ø)(Fmoc Boc)) ₄ ((CBz Ø)(Fmoc Boc)) ₄) ₈ ^{8,16} (((CBz Ø)(Fmoc Boc)) ₄ ((CBz Ø)(Fmoc, Boc)) ₄) ₈ ⁸ (((CBz Ø)(Fmoc Boc)) ₄ ((CBz Ø)(Fmoc Boc)) ₄) ₈ ¹⁶	8	CBz
	8	Fmoc
	8	Boc

- 35 A una mezcla de BHALys [Lys]₈ [α-NH₂]₈ [α-CBz]₈ (0,025 mmol), TFA y DMF, se le añadió *N, N*-diisopropiletilamina (0,105 ml, 0,60 mmol) y PFP-Lys-α-Fmoc-ε-Boc (154 mg, 0,24 mmol) a Ta. La mezcla de reacción transparente, incolora se agitó durante 16 h adicionales a Ta. Después de ese tiempo, la solución de reacción se transfirió a un vaso de precipitados que contenía ACN (ca. 150 ml) e inmediatamente se formó un precipitado incoloro. Este precipitado, después de ser recogido mediante filtración y lavado con ACN, se secó al aire en succión durante una
 40 noche, se obtuvo BHALys [Lys]₈ [ε-CDz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-Boc]₈ (157 mg, 92%) como un sólido incoloro.
Los grupos protectores pueden retirarse a continuación mediante uno de los tres procesos siguientes:

ii. BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-NH₂]₈ [ε-Boc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((((CBz Ø)(NH ₂ Boc)) ₄ ((CBz Ø)(NH ₂ Boc)) ₄) ₈ ⁸ (((CBz Ø)(NH ₂ Boc)) ₄ ((CBz Ø)(NH ₂ Boc)) ₄) ₈ ¹⁶ (((CBz Ø)(NH ₂ Boc)) ₄ ((CBz Ø)(NH ₂ Boc)) ₄) ₈ ¹⁶	8	CBz
	8	NH ₂
	8	Boc

- 45 Una suspensión de BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-Boc]₈ (20 mg, 0,0029 mmol) y DMF se trató con

pipridina a Ta. La agitación se continuó a Ta durante 18 h adicionales. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se diluyó con DMF (ca. 2 ml), y se concentró a presión reducida. El producto se obtuvo como un residuo sólido incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) observado [M+H/3]⁺ m/z = 1670; [M+H/4]⁺ m/z = 1252; [M+H/5]⁺ m/z = 1002; [M+H/6]⁺ m/z = 825; calculado para C255H401N47O55 5005,27; Rf (min) = 10,10 min.

iii. BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-NH₂.TFA]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4)^8((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4$	8	CBz
$((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4)^8)^{16}(((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4)^8$	8	Fmoc
$\text{NH}_2)^4)^8(((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4((\text{CBz } \emptyset)(\text{Fmoc NH}_2))^4)^8)^{16}$	8	NH ₂

10 Una suspensión de BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-Boc]₈ (20 mg, 0,0029 mmol) y AcOH se trató con TFA neto a Ta. La agitación se continuó a Ta durante 16 h adicionales. Después de ese tiempo, la mezcla de reacción se diluyó con AcOH (ca. 2 ml), y se concentró a presión reducida. Se obtuvo BHALys [Lys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-NH₂.TFA]₈ como un residuo oleoso incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) observado [M+H/4]⁺ m/z = 1496; [M+H/5]⁺ m/z = 1197; [M+H/6]⁺ m/z = 998; [M+H/7]⁺ m/z = 855; calculado para C355H417N47O55 5982,28; Rf (min) = 13,86 min.

iv. BHALys [Lys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-Boc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4)^8((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4$	8	NH ₂
$\text{Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4)^8)^{16}(((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4)^8$	8	Fmoc
$\text{Boc}))^4)^8(((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Fmoc Boc}))^4)^8)^{16}$	8	Boc

20 Una suspensión de BHALys [Lys]₈ [ε-CCz]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-Boc]₈ (19,6 mg, 0,0029 mmol), Pd/C al 10% (22 mg) y AcOH se agitó vigorosamente en hidrógeno a Ta durante 18 h. La suspensión de color negro se diluyó con AcOH (ca. 5 ml) y se filtró. La concentración del filtrado transparente e incoloro a presión reducida dio BHALys [Lys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [α-Fmoc]₈ [ε-Boc]₈ como un aceite transparente.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) observado [M+H/4]⁺ m/z = 1429; [M+H/5]⁺ m/z = 1143; calculado para C311H433N47O55 5710,14; Rf (min) = 14,67 min.

Ejemplo 22

BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [ε-NH₂]₄ [α-Lys]₁ [Boc]₈

30

i. HO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((CBz ∅)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ H
	1	CBz
	2	Boc

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (1,0 g, 1,47 mmol), metanol (32 ml) y agua (16 ml) se le añadió solución de NaOH ac. 1M (3 ml) a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 13.vi para dar HO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (942 mg, 96%) como una espuma incolora.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 666,40 [M+H]⁺; calculado C33H54N5O9 664,83 g/mol. Rf (min) = 3,53.

40 ii. PNPO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
PNPO-CO ((CBz ∅)(Boc Boc)) ⁴	1	CO-OPNP
	1	CBz
	2	Boc

- A una solución agitada magnéticamente de HO-GlyLys [ϵ -CBz] [α -Lys] [Boc]₂ (430 mg, 0,65 mmol) y EtOAc (10 ml) se le añadieron, en el siguiente orden, p-nitrofenol (99 mg, 0,71 mmol) y DCC (147 mg, 0,71 mmol). Después de agitar a Ta durante ca. 5 min, la mezcla de reacción se convirtió en una pasta semilíquida debido a la formación de un precipitado similar a un gel. La agitación continuó a Ta durante 22 h adicionales. La mezcla de reacción impura se diluyó tras la adición de EtOAc (15 ml) y a continuación se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para dar un sólido de color naranja/amarillo. Después de someter el material impuro a cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (EtOAc), el producto PNPO-GlyLys [ϵ -CBz] [α -Lys] [Boc]₂ (Rf 0,4) (344 mg, 66%) se obtuvo como un sólido de color blanquecino.
- 10 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 787,31 [M+H]⁺; calculado C₃₈H₅₄N₆O₁₂ 786,89 g/mol. Rf (min) = 5,24.

iii. BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [ϵ -CBz]₄ [α -Lys] [Boc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((CBz \emptyset)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz \emptyset)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((CBz \emptyset)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz \emptyset)(Boc Boc)) ⁴) ¹⁶	4	CBz
	8	Boc

- 15 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (30 mg, 0,029 mmol), TEA (0,06 ml, 0,43 mmol) y DMF (0,5 ml) se le añadió una solución de PNPOGlyLys(α -DBL)(ϵ -CBz) (172 mg, 0,22 mmol disuelto en 2 ml de DMF) a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i. El producto BHALys [Lys]₂[GlyLys(Boc)₂(CBz)₄ (87 mg, 94%) se obtuvo como un sólido de color blanquecino.
- 20 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1580,31 [M+2H]²⁺, 1053,90 [M+3H]³⁺; calculado C₁₅₉H₂₄₅N₂₇O₃₉ 3158,85 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 3158,29. Rf (min) = 7,75.

iv. BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [ϵ -NH₂]₄ [α -Lys] [Boc]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ \emptyset)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ \emptyset)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((NH ₂ \emptyset)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ \emptyset)(Boc Boc)) ⁴) ¹⁶	4	NH ₂
	8	Boc

- 25 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂[GlyLys(Boc)₂(CBz)₄ (82 mg, 0,026 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (2 ml) se le añadió Pd/C al 10% (55 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (Ta, presión atmosférica) durante 17 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto BHALys [Lys]₂[GlyLys(Boc)₂(NH₂)₄ (68 mg, 99%) como un sólido cristalino de color marrón claro.
- 30 LC/MS (Filo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1311,90 [M+2H]²⁺, 874,92 [M+3H]³⁺, 656,46 [M+4H]⁴⁺; calculado C₁₂₇H₂₂₁N₂₇O₃₁ 2622,32 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 2621,78. Rf (min) = 9,55.

35 Ejemplo 23

BHALys [Lys]₄ [ϵ , α -Boc] [ϵ , ϵ -NH₂] [Boc]₆

i. BHALys [α -Fmoc] [ϵ -Boc]

40

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(Boc Fmoc)	1	Boc
	1	Fmoc

- Se disolvió HO-Lys- α -Fmoc- ϵ -Boc (13,6g, 29,1 mmol) en DMF seco (100 ml) y se enfrió. Se añadió DCC (6,3 g, 30,6 mmol) seguido por HOBt (4,1 g, 30,6 mmol). Se disolvió Benzhidrilamina 5 ml, 28,9 mol en DMF seco (40 ml) y se añadió gota a gota a la reacción en argón. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 19.vi para dar BHALys [α -Fmoc] [ϵ -Boc] como un sólido de color amarillo pálido. El material se secó a 40°C durante 2 horas (17,36 g, 27,3 mmol, 94%).
- 45 HPLC (Hidrofobo) rf 12,92 min. ESI MS (+ve) 634,12 (M⁺H)⁺; Calc. MF C₃₉H₄₃N₃O₅ M+H. 633,79

ii. BHALys [α -Fmoc] [ϵ -NH₂.TFA]

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(NH ₂ Fmoc)	1	NH ₂
	1	Fmoc

Se desprotegió BHALys [α -Fmoc] [ϵ -Boc] (17,3 g, 27,3 mmol) con DCM (60 ml) TFA (100 ml, 1,43 mol) y DCM (40 ml) en el procedimiento del ejemplo 19.ii para dar BHALys [α -Fmoc] [ϵ -NH₂.TFA] como un sólido de color blanco. HPLC (hidrófobo) TR = 6,59min; ESI MS (+ve) 533,9 (M+H)⁺; Calc MF: C₃₄H₃₅N₃O₃; M+H: 533,68
 rmn de ¹H (300MHz, D₆DMSO) λ (ppm) 1,15-1,75 (6H); 2,65-2,85 (2H); 4,05-4,45 (3H); 6,1 (1H); 7,0-8,0 (18H)
 rmn de ¹³C (300MHz, D₆DMSO) λ (ppm) 22,47 (1CH₂); 26,55 (1CH₂); 31,39 (1CH₂); 46,65 (1CH₂); 54,38 (1 CH); 55,90 (1C); 65,59 (1C); 119,06-143,87 16 picos (24 Ar-C); 155,98 (1 C-Carbamato); 171,28 (1C- Amida)

iii. BHALys [α -Fmoc] [ϵ -Lys] [Boc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Fmoc \emptyset (Boc Boc)) ⁴)	2	Boc
	1	Fmoc

Se hizo reaccionar BHALys [α -Fmoc] [ϵ -NH₂.TFA] (14,64 g, 22,6 mmol) con PNPO-Lys(Boc)₂ (13,4g, 28,7mmol) en DMF seco (80 ml) y DIPEA (7,2 ml, 37,3 mmol) en DMF (145 ml), de la misma manera que en el ejemplo 1.i. El sólido se recogió y se lavó repetidamente con Éter para dar BHALys [α -Fmoc] [ϵ -Lys] [Boc]₂ como un sólido de color blanco (13,8 g, 16,0 mmol, 60%)
 HPLC (Hidrófobo) rf 13,59 min. ESI MS (+ve) 862,17 (M+H)⁺; 879,27 (M+NH₄⁺); Calc. MF C₅₀H₆₃N₅O₈ M+H. 862,09.
 rmn de ¹H (300MHz, D₆DMSO) λ (ppm) 1,15-1,75 (30H); 2,8-3,2 (4H); 4,3 (1H); 4,1-4,3 (3H); 7,2-7,95 (18H)

iv. BHALys [α -NH₂] [ϵ -Lys] [Boc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((NH ₂ \emptyset (Boc BOC)) ⁴)	2	Boc
	1	NH ₂

El grupo protector Fmoc se retiró de BHALys [α -Fmoc] [ϵ -Lys] [Boc]₂ (13,8 g, 16,0 mmol) usando piperidina (20 ml, 25,0 mmol) en DMF (80 ml) de manera similar al ejemplo 1.v. El material se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (EtOAc:PM 17:2 (PM = Isopropanol:agua:amoniaco concentrado 20:1:1) para dar BHALys [α -NH₂] [ϵ -Lys] [Boc]₂ como un sólido de color blanco (8,04g, 12,5mmol, 79%) rf producto = 0,35.
 rmn de ¹H (300MHz, MeOD) λ 1,2-1,9 (30H); 3,0-3,3 (4H); 3,4 (1H); 3,95 (1 H); 6,2(1 H); 7,2-7,4 (10H)
 HPLC (Hidrófobo) TR = 7,15 min. ESI MS (+ve) 640,5 (M+H)⁺; Calc MF: C₃₅H₅₃N₅O₆; M+H: 639,84

v. BHALys [Lys]₂ [α,ϵ -Fmoc] [Boc]₃

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Fmoc Boc)(Boc Boc)) ⁴	3	Boc
	1	Fmoc

Se disolvió HO-Lys- α -Boc- ϵ -Fmoc (2,94g, 6,3mmol) en DMF seco (10 ml) y se enfrió. Se añadió DCC (1,36 g, 6,60 mmol) en DMF (5 ml) seguido por HOBt (893 mg, 6,60 mmol) en DMF (5 ml). Se disolvió BHALys [α -NH₂] [ϵ -Lys] [Boc]₂ (4,02 g, 6,3 mol) en DMF seco (12 ml) y se añadió gota a gota a la reacción en argón. La reacción se agitó a Ta durante una noche. Se filtró DCU y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se trituró con Éter, se filtró y se lavó con EtOAc para dar BHALys [Lys]₂ [α,ϵ -Fmoc] [Boc]₃ como un sólido de color blanco (5,33 g, 4,88 mmol, 78%).
 HPLC (Hidrófobo) rf 14,58min. ESI MS (+ve) 1090,31 (M+H)⁺; 1107,39 (M+NH₄⁺); Calc. MF C₆₁H₈₃N₇O₁₁ M+H. 1090,38

vi. BHALys [Lys]₂ [α,ϵ -Fmoc] [NH₂.TFA]₃

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Fmoc NH ₂)(NH ₂ NH ₂)) ⁴	3	NH ₂
	1	Fmoc

Se desprotegió BHALys [Lys]₂ [α,ε-Fmoc] [Boc]₃ (92 mg, 84,4 μmol) usando TFA y DCM según el procedimiento del ejemplo 19.ii. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se lavó con éter para dar BHALys [Lys]₂ [α,ε-Fmoc] [NH₂.TFA]₃ como un sólido (85 mg, 82%)

HPLC (Hidrófobo) rf 15,77 min. ESI MS (+ve) 790,09 (M+H)⁺; 395,71 (M+2H⁺)/2; Calc. MF C₄₆H₅₉N₇O₅ M+H. 790,03
 rmn de ¹H (300MHz, MeOD) λ (ppm); 1,25 (18H); 2,8-3,0 (4H); 3,8 (1H); 4,0-4,5 (5H); 6,2 (1H); 7,2-7,8 (18H)

vii. BHALys [Lys]₂ [α,ε-Fmoc] [Lys]₃ [Boc]₆

10

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Fmoc Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	6	Boc
	1	Fmoc

Se disolvió BHALys [Lys]₂ [α,ε-Fmoc] [NH₂.TFA]₃ (75 mg, 66,3 μmol) en DMF seco (1 ml) y se añadió gota a gota a una solución de PNPO-Lys(Boc)₂ (120 mg, 0,25 mmol) y DIPEA (50 μl, 1,5 eq/NH₂) en DMF seco (1 ml) en argón. Una vez que la adición estaba completa, la reacción se agitó a Ta durante una noche. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se lavó con Éter, se filtró y a continuación se lavó con EtOAc repetidamente para dar BHALys [Lys]₂ [α,ε-Fmoc] [Lys]₃ [Boc]₆ como un sólido (113 mg, 63,6 μmol, 96%)

HPLC (Hidrófobo) rf 16,52 min. ESI MS (+ve) 888 (M+2H⁺)/2; Calc. MF C₆₁H₈₃N₇O₁₁ M+H. 1775,26

viii. BHALys [Lys]₂ [α,ε-NH₂] [Lys]₃ [Boc]₆

20

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Fmoc Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	6	Boc
	1	Fmoc

Se disolvió BHALys [Lys]₂ [α,ε-Fmoc] [Lys]₃ [Boc]₆ (113 mg, 63,6 μmol) en DMF seco (1 ml) usando piperidina (0,2 ml) de manera similar al ejemplo 1.v. El material se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para dar BHALys [Lys]₂ [α,ε-NH₂] [Lys]₃ [Boc]₆ como un aceite (50 mg, 30 μmol).

25

ix. BHALys [Lys]₄ [α,ε,α-Boc] [α,ε,ε-4-Nitro-CBz] [Boc]₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((4-Nitro-CBz Boc)(Boc Boc)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	7	Boc
	1	4-Nitro-CBz

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [α,ε-NH₂] [Lys]₃ [Boc]₆ (99,5 mg, 0,064 mmol), DMF (2 ml) y TEA (25 μl, 0,18 mmol) se le añadió PNPO-Lys-α-Boc-ε,4-Nitro-CBz (45,2 mg, 0,083 mmol) en una porción a Ta. La solución de color amarillo brillante se dejó agitar a Ta durante 22 h. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i. El producto BHALys [Lys]₄ [α,ε-Boc] [α,ε,ε-4-Nitro-CBz] [Boc]₆ (105 mg, 83%) se obtuvo como un sólido de color blanquecino.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1961,39 [M+H]⁺, 981,00 [M+2H]²⁺; calculado C₉₈H₁₅₈N₁₆O₂₅ 1960,44 g/mol.

Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1959,99. Rf (min): 7,37.

x. BHALys [Lys]₄ [α,ε,α-Boc] [α,ε,ε-NH₂] [Boc]₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ Boc)(Boc Boc)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	7	Boc
	1	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₄ [ε,α-Boc] [ε,ε-4-Nitro-CBz] [Boc]₆ (100 mg, 0,051 mmol) y TFE (2 ml) se le añadió Pd/C al 10% (27,2 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó a Ta y presión durante 5 h. La suspensión se filtró a través de un tapón de sílice y la concentración del filtrado produjo BHALys [Lys]₄ [α,ε,α-Boc] [α,ε,ε-NH₂] [Boc]₆ (68,6 mg, 75%) como un sólido similar a cristal, de color beige.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1781,34 [M+H]⁺, 891,63 [M+2H]²⁺; calculado C₉₀H₁₅₃N₁₅O₂₁ 1781,31 g/mol.

Rf (min): 6,05.

Ejemplo 24

5 **BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [NH₂]₂ [Lys]₃ [Boc]₆**

i. BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [Boc]₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{CBz CBz})(\text{Boc Boc}))^4((\text{Boc Boc})(\text{Boc Boc}))^4)^8$	6	Boc
	2	CBz

- 10 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [α,ε-NH₂] [Lys]₃ [Boc]₆ (50 mg, 0,032 mmol), DMF (1 ml) y TEA (11 μl, 0,08 mmol) se le añadió PNPO-Lys(CBz)₂ (35 mg, 0,064 mmol) en una porción a Temperatura ambiente. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para dar BHALys [Lys]₂[α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [Boc]₆ (48,2mg, 770%) como un sólido de color blanquecino. ESI (+ve) m/z = 1950,01 [M+H]⁺, 975,50 [M+2H]²⁺; calculado C₁₀₁H₁₅₇N₁₅O₂₃ 1949,46 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1948,94. Rf (min): 7,61.

ii. BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [NH₂]₂ [Lys]₃ [Boc]₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{NH}_2 \text{NH}_2)(\text{Boc Boc}))^4((\text{Boc Boc})(\text{Boc Boc}))^4)^8$	6	Boc
	2	NH ₂

- 20 A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [Boc]₆ (13,4 mg, 7 μmol) y TFE (2 ml) se le añadió Pd/C al 10% (15,9 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó a temperatura ambiente y a presión (50 PSI) durante ca. 10 h. La suspensión se filtró y la concentración del filtrado produjo BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [NH₂]₂ [Lys]₃ [Boc]₆ (7,6 mg, 66%) como un aceite de color marrón claro. LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1680,93 [M+H]⁺, 841,14 [M+2H]²⁺; calculado C₈₅H₁₄₅N₁₅O₁₉ 1681,19 g/mol. Rf (min): 5,53.

Ejemplo 25

BHALys [Lys]₂ [Lys]₄ [α,ε,α-CBz] [α,ε,ε-Alloc] [Boc]₆

30

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{CBz Alloc})(\text{Boc Boc}))^4((\text{Boc Boc})(\text{Boc Boc}))^4)^8$	6	Boc
	1	CBz
	1	Alloc

- A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [α,ε-NH₂] [Lys]₃ [Boc]₆ (46,7 mg, 0,03 mmol) y DMF (0,5 ml) se le añadió pyBOP (43 mg, 0,083 mmol) en una porción a temperatura ambiente. A esta mezcla se le añadió una solución de sal de HO-Lys-α-CBz-ε-Alloc dicitohexilamina (39 mg, 0,071 mmol), DIPEA (45 μl, 0,26 mmol) y DMF (0,5 ml). El matraz que contenía el grupo de recubrimiento se aclaró con DMF (0,5 ml) que también se añadió a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción transparente y casi incolora se dejó agitar a temperatura ambiente durante 44 h. La mezcla de reacción impura se transfirió a un vaso de precipitados que contenía acetonitrilo (250 ml) y el precipitado floculante que se formó se recogió por filtración y se dejó secar durante una noche en succión. El producto, BHALys [Lys]₂ [Lys]₄ [α,ε,α-CBz] [α,ε,ε-Alloc] [Boc]₆ (33 mg, 58%) se obtuvo como un sólido de color blanquecino. LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1899,80 [M+H]⁺, 950,83 [M+2H]²⁺; calculado C₉₇H₁₅₅N₁₅O₂₃ 1899,40 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1898,91. Rf (min): 7,39.

Ejemplo 26

45

BHALys [Lys]₂ [ε-NH₂]₂ [α-Lys]₂ [Boc]₄

i. BHALys [Lys]₂ [α-Boc]₂ [ε-Fmoc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((\text{Boc Fmoc})(\text{Boc Fmoc}))^4$	2	Boc
	2	Fmoc

A una solución de HQ-Lys- α -Boc- ϵ -Fmoc (18,3 g, 39,1 mmol) en DMF (150 ml) en hielo, se le añadió DCC (8,47 g, 41,1 mmol) y HOBt (41,1 mmol). Se añadió BHALys [NH₂.TFA]₂ (10,23 g, 19,6 mmol) gota a gota como una solución en DMF (50 ml) con DIPEA (9 ml, 52 mmol). Una vez que la adición estaba completa, la reacción se agitó a Ta durante una noche. El DCU formado se filtró y el filtrado se añadió a Éter (2 l) con agitación. El precipitado se recogió y se lavó con Éter. El sólido filtrado se suspendió a continuación en MeOH al 20% en EtOAc y se sonicó durante 20 minutos. Una suspensión fina de color blanco se filtró y el proceso se repitió usando MeOH al 20% en EtOAc (100 ml) para proporcionar BHALys [Lys]₂ [α -Boc]₂ [ϵ -Fmoc]₂ como un sólido de color blanco (18,6 g, 15,3 mmol, 78%).

10

ii. BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -NH₂.TFA]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((\text{NH}_2 \text{ Fmoc})(\text{NH}_2 \text{ Fmoc}))^4$	2	NH ₂
	2	Fmoc

Se suspendió BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -Boc]₂ (18,9 g, 15,6 mmol) en DCM (75 ml) y se enfrió. Se añadió TFA (75 ml, 1,08 mol) lentamente. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 19.ii para dar BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -NH₂.TFA]₂ en rendimiento cuantitativo. (19,6 g, 15,8 mmol) - cierto exceso de TFA presente.

HPLC (hidrófobo) TR = 10,4min; ESI MS (+ve) 1012,15 (M+H)⁺; Calc MF: C₆₁H₆₉N₇O₇; M+H: 1013,27

20 iii. BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -Lys]₂ [Boc]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((\text{Fmoc } \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4((\text{Fmoc } \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4)^8$	4	Boc
	2	Fmoc

Se añadió BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -NH₂.TFA]₂ (19,6 g, 15,8 mmol) disuelto en DMF seco (80 ml) gota a gota en argón a una solución de PNPO-Lys(Boc)₂ (18,4g, 39,4mmol) y DIPEA (7,88 ml, 45,2 mmol) en DMF seco (200 ml) en hielo. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para dar el producto BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -Lys]₂ [Boc]₄ en rendimiento del 85% (22,3 g, 13,4 mmol).

HPLC (Hidrófobo) TR = 6,8 min. ESI MS (+ve) 1269 (M+H)⁺; Calc. MF C₇₃H₉₃N₁₁O₉; M+H. 1269,1

rmn de ¹H (300MHz, D₆DMSO) λ (ppm) 1,4-2,3 (66H); 3,2-3,5 (10H); 4,3 (2H); 4,5-4,9 (9H); 6,5 (1H); 7,6-7,9 (28H)

30 iv. BHALys [Lys]₂ [ϵ -NH₂]₂ [α -Lys]₂ [Boc]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4((\text{NH}_2 \emptyset)(\text{Boc Boc}))^4)^8$	4	Boc
	2	NH ₂

Se suspendió BHALys [Lys]₂ [ϵ -Fmoc]₂ [α -Lys]₂ [Boc]₄ (22,3 g, 13,4 mmol) en DMF seco (120 ml) y se añadió piperidina (32 ml, 402 mmol) en DMF (40 ml) lentamente a la mezcla con agitación. La reacción se volvió homogénea después de 15 minutos y se agitó durante 45 minutos adicionales a Ta y a continuación se enfrió durante una noche. El DMF se retiró a presión reducida. El material se purificó mediante cromatografía ultrarrápida con el sistema disolvente 13:1:1 Isopropanol:agua:amoniaco concentrado para dar un sólido de color blanco BHALys [Lys]₂ [ϵ -NH₂]₂ [α -Lys]₂ [Boc]₄; 9,28 g, 7,58 mmol, 58%). HPLC (Hidrófobo): TR = 6,84 min. ESI MS (+ve) 1224,57 (M+H)⁺; 612,96 ((M+2H⁺)/2) Calc MF: C₆₃H₁₀₅N₁₁O₁₃; M+H: 1224,61

40 rmn de ¹H (300MHz, D₆DMSO) λ (ppm) 1,2-1,8 (66H); 2,9-3,35 (5H); 3,85-4,0 (3H); 4,45 (1 H); 6,2 (1H); 7,2-7,4 (10H)

Ejemplo 27

45 BHALys [Lys]₄ GlyLys]₈ [ϵ -NH₂]₈ [α -Lys]₈ [Boc]₁₆

i. HO-GlyLys [ϵ -CBz] [α -Lys] [Boc]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
HO-CO ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ H
	2	Boc
	1	CBz

A una solución agitada magnéticamente de MeO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (1,0 g, 1,47 mmol), metanol (32 ml) y agua (16 ml) se le añadió solución de NaOH ac. 1M (3 ml) a temperatura ambiente. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 13.vi para dar HO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (942 mg, 96%) como una espuma incolora.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 666,40 [M+H]⁺; calculado C33H54N5O9 664,83 g/mol. Rf (min) = 3,53.

ii. PNPO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂

10

Topología superficial	Estequiometría superficial	
PNPO-CO ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴	1	CO ₂ PNP
	2	Boc
	1	CBz

A una solución agitada magnéticamente de HO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (430 mg, 0,65 mmol) y EtOAc (10 ml) se le añadieron, en el siguiente orden, p-nitrofenol (99 mg, 0,71 mmol) y DCC (147 mg, 0,71 mmol). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 19.vi.

15 Cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (EtOAc) proporcionó PNPO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (Rf 0,4) (344 mg, 66%) como un sólido de color blanquecino.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 787,31 [M+H]⁺; calculado C38H54N6O12 786,89 g/mol. Rf (min) = 5,24.

iii. BHALys [Lys]₄ [GlyLys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆

20

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ (((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ (((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ (((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((CBz Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	16	Boc
	8	CBz

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ (30 mg, 0,015 mmol), TEA (0,06 ml, 0,43 mmol) y DMF (0,5 ml) se le añadió una solución de PNPO-GlyLys [ε-CBz] [α-Lys] [Boc]₂ (172 mg, 0,22 mmol) en DMF (2ml) a Ta. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el ejemplo 1.i para proporcionar BHALys [Lys]₄ [GlyLys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (80 mg, 85%) como un sólido de color blanquecino.

25 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1566,46 [M+4H]⁴⁺; calculado C311H489N55O79 6262,63 g/mol. Rf (min) = 8,95.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1566,46 [M+4H]⁴⁺; calculado C311H489N55O79 6262,63 g/mol. Rf (min) = 8,95.

iv. BHALys [Lys]₄ [GlyLys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆

30

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ (((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ (((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸ (((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴ ((NH ₂ Ø)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	16	Boc
	8	NH ₂

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₄ [GlyLys]₈ [ε-CBz]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (73,5 mg, 0,012 mmol) y 2,2,2-trifluoroetanol (3 ml) se le añadió Pd/C al 10% (44 mg). La suspensión de color negro se hidrogenó en condiciones estándar (temperatura ambiente, presión atmosférica) durante 17 h. El análisis por LCMS de una parte alícuota tomada de la mezcla de reacción impura indicó que la reacción estaba incompleta. Se añadió una porción adicional de catalizador (44 mg) y la suspensión de reacción impura se sometió de nuevo a hidrogenólisis a presión reducida (50 PSI) a temperatura ambiente durante 48 h. Después de ese tiempo, la suspensión se filtró a través de un disco de filtración de 0,45 micrómetros. El filtrado se concentró a presión reducida para dar el producto BHALys [Lys]₄ [GlyLys]₈ [ε-NH₂]₈ [α-Lys]₈ [Boc]₁₆ (52 mg, 85%) como un sólido cristalino de color marrón.

40 LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1298,13 [M+4H]⁴⁺, 1038,76 [M+5H]⁵⁺, 865,61 [M+6H]⁶⁺; calculado

C247H441N55O63 5189,55 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 5188,51. Rf (min) = 3,99.

Ejemplo 28

5

Comportamiento cromatográfico de isómeros topológicos

HPLC - Waters 2795 con detector de matriz de diodos (DAD) 2996

Disolvente A: TFA al 1% en agua; Disolvente B: Acetonitrilo; Disolvente C: Agua.

10 Columna: Waters Xterra MS-C8, 3,5 um, 3 mm x 50 mm a 0,4 ml/min

Gradiente: Eluyente de partida A(10%) B(40%) C(50%) isocrático durante 1 min; gradiente lineal hasta A(10%) B(90%) C(0%) durante 6 min; isocrático durante 2 min; gradiente lineal hasta eluyente de partida durante 2 min; acondicionar columna a eluyente de partida durante 4min (Total de la serie 15 min).

15

Tabla 23: Tiempos de retención de HPLC para conjuntos de isómeros topológicos

Conjunto	Topología	A:B	A+B	Ejemplo: Nombre	TR (UV) (min)
1	$((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4^8$	1:1	8	3.ii: BHALys [Lys]4 [α-Boc]4 [ε-NH ₂]4	0,87
1	$((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4^8$	1:1	8	2.ii: BHALys [Lys]4 [α-CBz]4 [ε-Boc]4	1,55
1	$((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4^8$	1:1	8	13.viii: BHALys [GlyLys] ₂ [Lys]4 [α,α-Boc] ₂ [α,ε-Boc] ₂ [ε,α-NH ₂] ₂ [ε,ε-NH ₂] ₂	1,73
1	$((AA)(AA))^4((BB)(BB))^4^8$	1:1	8	19.xii: BHALys [a-GlyLys] [Lys] ₂ [Boc]4 [e-GlyLys] [Lys] ₂ [NH ₂] ₄	3,37
2	$((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4^8 \times 2$	1:1	16	4.ii: BHALys [Lys] ₈ [α-Boc] ₈ [ε-NH ₂] ₈	1,01
2	$(AB)(AB))^4((AB)(AB))^4^8 \times 2$	1:1	16	6.ii: BHALys [Lys] ₈ [α-NH ₂] ₈ [ε-Boc] ₈	1,02
2	$((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4^8 \times 2$	1:1	16	14.ii BHALys [Lys] ₂ [GlyLys] ₄ [Lys] ₈ [α,α-Boc] ₄ [α,ε-Boc] ₄ [ε,α-NH ₂] ₄ [ε,ε-NH ₂] ₄	1,01
3	$((AB)(BB))^4((AB)(BB))^4^8$	1:3	8	15.iv: BHALys [GlyLys] ₂ [Lys] ₄ [Boc] ₆ [ε,ε-NH ₂] ₂	4,5
3	$((AA)(BB))^4((BB)(BB))^4^8$	1:3	8	24.ii: BHALys [Lys] ₂ [α,ε-Lys] [NH ₂] ₂ [Lys] ₃ [Boc] ₆	5,46
4	$((AB)(BB))^4((AB)(BB))^4^8$	1:3	8	15.iii: BHALys [GlyLys] ₂ [Lys] ₄ [Boc] ₆ [ε,ε-CBz] ₂	7,14
4	$((AA)(BB))^4((BB)(BB))^4^8$	1:3	8	24.i: BHALys [Lys] ₂ [α,ε-Lys] [CBz] ₂ [Lys] ₃ [Boc] ₆	7,56

*TR = Tiempo de retención del isómero topológico.

Estos datos sirven para demostrar que macromoléculas que tienen diferentes topologías de la misma estequiometría de resto funcional superficial se comportan de forma diferente cuando interactúan con un entorno fisicoquímico.

20 Ejemplos antimicrobianos

Ejemplo 29

BHALys [Lys]₄ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Hex B)(Hex B)) ⁴ ((Hex B)(Hex B)) ⁴) ⁸	4	COC ₅ H ₁₂ = Hex
	4	COCH ₂ O-3,6-Naph[SO ₃ Na] ₂ = B

i. BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄ SPL8059

- 5 Se añadió PyBOP (0,20 g, 0,38 mmol) a una solución agitada de BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-NH₂.TFA]₄ (60 mg, 0,032 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (6 ml). Una solución de ácido hexanoico (42 mg, 0,36 mmol) y diisopropiletilamina (0,3 ml, 1,72 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en ACN (0,3 l) y se filtró. El precipitado se secó al vacío para dar BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄ como un sólido de color blanco (53 mg, 70%).
- 10 LC/MS (fobo) ESI (+ve) m/z = 1873,32 M+; 937,54 ((M+2H)²⁺). Calculado (C₉₉H₁₆₉N₁₅O₁₉) 1873,49 (M+). Rf(min) = 7,27

ii. BHALys [Lys]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄

- 15 Una solución de TFA / DCM (1:1) (2 ml) se añadió lentamente a BHALys [Lys]₄ [α-Boc]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄ (25 mg, 0,013 mmol) dispersado en DCM (3 ml). La mezcla se agitó a Ta durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con Éter. El residuo se lavó con Éter (3 x 10 ml), se secó al vacío para dar BHALys [Lys]₄ [α-NH₂. TFA]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄ como un sólido de color blanco (28 mg, 108%).
- LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 1473,12 (M+); 737,21 ((M+2H)²⁺); 491,93 ((M+3H)³⁺). Calculado (C₇₉H₁₃₇N₁₅O₁₁) 1473,03 (NH₂ forma). Rf (min) = 8,75
- 20

iii. BHALys [Lys]₄ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄

- Se añadió PyBOP (0,07 g, 0,13 mmol) a una solución agitada de BHALys [Lys]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄ (24 mg, 0,012 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml). Una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,05 g, 0,12 mmol) y diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,57 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (0,3 l) y se filtró. La purificación se realizó mediante filtración por flujo tangencial en un Centramate (membrana 2K, depósito de muestras de 0,5 l). Después de un lavado inicial con agua Milli-Q (5 l) el retentado se lavó con dos alícuotas de carbonato sódico 1 M (100 ml) separados por un lavado con agua Milli-Q (1 l), a continuación, la filtración continuó hasta que el pH del filtrado fue neutro (aprox. 5 l). El retentado se conc. al vacío, y se liofilizó para dar BHALys [Lys]₄ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε-COC₅H₁₂]₄ como un sólido de color blanco (26 mg, 69%).
- 25
- 30 rmn de ¹H (300 MHz, D₂O) λ (ppm): 0,5-0,7 (12H); 0,8 -1,8 (68H); 1,9-2,1 (8H); 2,9-3,3 (14H); 4,0-4,3 (7H); 5,9 (1H); 7,0-7,3, 7,8-8,1, 8,2-8,5 (30H). Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,4-4,9 ppm).
- 35 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1424,09 ((M-2H)²⁻); 948,86 ((M-3H)³⁻); 711,49 ((M-4H)⁴⁻); 569,04 ((M-5H)⁵⁻); 473,98 ((M-6H)⁶⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 2850,00 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₂₇H₁₆₉N₁₅O₄₃S₈) 2850,30 (M-). Rf (min) = 9,46 CE (pH 9): 76,0% de pureza Rf (min) = 7.63
- 40

Ejemplo 30**BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄ [ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ SPL8018**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Hex B)(Hex B)) ⁴ ((Hex B)(Hex B)) ⁴) ⁸	4	COC ₅ H ₁₂ = Hex
	4	COCH ₂ O-3,6Naph[SO ₃ Na] = B

45

i. BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄ [ε-Boc]₄

- Preparado a partir de BHALys [Lys]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [ε-Boc]₄ (81 mg, 0,055 mmol) de manera similar al ejemplo 29.i. El precipitado se secó al vacío para dar BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄ [ε-Boc]₄ como un sólido de color blanco (0,07 g, 69%).
- 50 LC/MS (fobo) ESI (+ve) m/z = 1873,32 M+; 937,61 ((M+2H)²⁺). Calculado (C₉₉H₁₆₉N₁₅O₁₉) 1873,49 (M+). Rf (min) = 7,95

ii. BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄ [ε-NH₂.TFA]₄

BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄[ε-Boc]₄ (35 mg, 0,019 mmol) se desprotegió como para 29.ii para dar BHALys [Lys]₄ [α-Hexil]₄[ε-NH₂.TFA]₄ como un sólido de color blanco (38 mg, 105%).

LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 1473,12 (M+); 737,21 ((M+2H)²⁺); 491,87 ((M+3H)³⁺). Calculado (C₇₉H₁₃₇N₁₅O₁₁) 1473,03 (NH₂ forma). Rf (min) = 8,23

iii. BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄[ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄

Preparado a partir de BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄[ε-NH₂.TFA]₄ (36 mg, 0,019 mmol) y HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,07 g, 0,16 mmol) de manera similar al ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₄ [α-COC₅H₁₂]₄[ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ como un sólido de color blanco (0,04 g, 78%).

LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1423,62 ((M-2H)²⁻); 949,13 -((M-3H)³⁻); 711,49 ((M-4H)⁴⁻); 568,98 ((M-5H)⁵⁻); 473,98 ((M-6H)⁶⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 2850,00 (m-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₂₇H₁₆₉N₁₅O₄₃S₈) 2850,30 (M-). Rf (min) = 9,26

15 CE (pH 9): 85,9% de pureza Rf (min) = 7,61

Ejemplo 31

BHALys [Lys]₄ [α-CO-4-PhSO₃Na]₄[ε-COC₅H₁₂]₄

20

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Hex B)(Hex B)) ⁴ ((Hex B)(Hex B)) ⁴) ⁸	4	COC ₅ H ₁₂ = Hex
	4	CO-4-PhSO ₃ Na = B

Preparado a partir de BHALys [Lys]₄ [α-NH₂.TFA]₄[ε-COC₅H₁₂]₄ (26 mg, 0,013 mmol) y ácido 4-sulfobenzoico (0,03 g, 0,15 mmol) de manera similar al ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₄ [α-CO-4-PhSO₃Na]₄[ε-COC₅H₁₂]₄ como un sólido de color blanco (25 mg, 80%).

25 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1103,74 ((M-2H)²⁻); 735,25 ((M-3H)³⁻); 551,36 ((M-4H)⁴⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 2209,54 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₀₇H₁₅₃N₁₅O₂₇S₄) 2209,70 (M-). Rf (min) = 10,30

CE (pH 9): 85,7% de pureza Rf (min) = 5,24

30 Ejemplo 32

DAH [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈[ε-COC₅H₁₂]₈ SPL7919

i. DAH [Lys]₂[Boc]₄

35

Una suspensión de PNPO-Lys(Boc)₂ (44,3 g, 94,9 mmol) en DMF (124 ml) y una solución de 1,6-diaminohexano (4,95 g, 42,6 mmol) y TEA (13,2 ml, 94,7 mmol) en DMF (160 ml) se hicieron reaccionar y se aisló un producto como para el ejemplo 1.i para dar DAH [Lys]₂ [Boc]₄ como un sólido incoloro (19,3 g, 59% de rendimiento, 95,6% de pureza mediante LCMS, [TR = 5,85 min]). Se obtuvieron segundo y tercer cultivos de producto (3,68 g y 4,47 g respectivamente) a partir de la concentración de los disolventes de lavado. La masa total de producto obtenido = 27,5 g (84% de rendimiento). ESMS m/z 796 (20, M+Na); 674 (100, [M-Boc]+1); 574 (12, [M-Boc]+1).

40

ii. DAH [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄

45 Se desprotegió DAH [Lys]₂ [Boc]₄ (20,0 g, 25,9 mmol) usando DCM (110 ml), se añadió TFA (280 ml, 3,63 mol) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 19.ii. El sólido resultante se disolvió en la cantidad mínima de agua y a continuación se liofilizó para dar DAH [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ como un sólido incoloro floculante. La mayor parte de este material se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

50 iii. DAH [Lys]₄ [Boc]₈

Una suspensión de PNPO-Lys(Boc)₂ (55,2 g, 118 mmol) en DMF (190 ml) se hizo reaccionar con una solución de DAH [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (24,6 mmol), TEA (TEA) (35,0 ml, 251 mmol) y DMF (180 ml) se hizo reaccionar y un producto se aisló de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 1.i. El producto, DAH [Lys]₄ [Boc]₈ se obtuvo como un sólido incoloro (34,9 g, 84% de rendimiento, >99,5% de pureza mediante LCMS, [TR = 13,6 min]). ESMS m/z 1587 (8, [M-Boc]+1); 744 (100, ½[M-2Boc]+1); 644 (60, ½[M-4Boc]+1); 544 (10, ½[M-6Boc]+1).

55

iv. DAH [Lys]₄[NH₂.TFA]₈

Se desprotegió DAH [Lys]₄ [Boc]₈ (1,0 g, 0,60 mmol) usando DCM (12,8 ml), y TFA (12,8 ml, 166 mmol) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 19.ii. El sólido resultante se disolvió en la cantidad mínima de agua y a continuación se liofilizó para dar DAH [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ como un sólido incoloro floculante.

v. DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-CBz]₈

Una solución de DAH [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ (0,59 mmol), TEA (TEA) (1,65 ml, 11,84 mmol) y DMF (12 ml) y PNPO-Lys-a-Boc-ε-CBz sólido (2,84 g, 5,66 mmol) se hicieron reaccionar, y se aisló un producto, de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 1.i. El producto, DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-CBz]₈, se obtuvo como un sólido incoloro (1,94 g, 87%).

vi. DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-NH₂]₈

Se añadió DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-CBz]₈ (994 mg, 0,26 mmol), como un sólido y en una porción a una solución enfriada (-78 °C) y agitada magnéticamente de amoníaco líquido (ca. 90 ml) y metal sodio (ca. 200 mg) mantenida en una atmósfera de argón. El baño frío se retiró y la mezcla de reacción de color azul se dejó a reflujo a temperatura ambiente durante 40 min. Después de este tiempo, el matraz de reacción se enfrió de nuevo a -78 °C y se añadió metanol seco (3 ml) lentamente a la mezcla de reacción. La mezcla ahora de color blanco se abrió a la atmósfera y se dejó calentar a Ta durante una noche. El residuo sólido de color gris resultante se trató con metanol (ca. 200 ml). La suspensión se filtró y el filtrado se concentró al vacío para producir DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-NH₂]₈ (0,53 g, 73%) como una espuma incolora.
LC/MS (Hidrófilo/TFA) ESI (+ve) m/z = 1356 [M+2H]/2+, 905 [M+3H]/3+; calculado C₁₃₀H₂₄₈N₃₀O₃₀ 2711,58 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 2711,17. Rf (min) = 13,1

vii. DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈

Se añadió PyBOP (0,53 g, 1,01 mmol) a una solución agitada de DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-NH₂]₈ (152 mg, 0,056 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (10 ml). Una solución de ácido hexanoico (0,10 g, 0,89 mmol) y diisopropiltilamina (0,7 ml, 4,02 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (5 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en ACN (0,4 l) y se filtró. El precipitado se secó al vacío para dar DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈ como un sólido de color blanquecino (0,16 g, 66%).
LC/MS (fobo) ESI (+ve) m/z = 1166,47 ((M+3H)³⁺); 874,96 ((M+4H)⁴⁺). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 3496,50 (M+) Calculado (C₁₇₈H₃₂₈N₃₀O₃₈) 3496,74 (M+). Rf (min) = 18,59

viii. DAH [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈

DAH [Lys]₈ [α-Boc]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈ (126 mg, 0,036 mmol) dispersado en DCM (3 ml) se desprotegió con una solución de TFA/DCM (1:1) (3 ml) como para el ejemplo 29.ii para dar DAH [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈ como un sólido pegajoso de color blanco (0,15 g, 117%).
LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 899,38 ((M+3H)³⁺); 674,76 ((M+4M)⁴⁺). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 2695,50 (M+, en forma NH₂) Calculado (C₁₃₈H₂₆₄N₃₀O₂₂) 2695,80 (forma NH₂). Rf (min) = 15,87

ix. DAH [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈

AH [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈ (76 mg, 0,021 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (4 ml) y PyBOP (0,25 g, 0,48 mmol) se hicieron reaccionar con solución de ácido 3,5-disulfobenzoico (0,16 g, 0,56 mmol) y diisopropiltilamina (0,3 ml, 1,72 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (5 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar DAH [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈ como un sólido de color blanco (0,11 g, 75%).
LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 686,05 ((M-7H)⁷⁻); 600,21 ((M-8H)⁸⁻); 533,51 ((M-9H)⁹⁻); 480,14 ((M-10H)¹⁰⁻); 436,43 ((M-11H)¹¹⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 4809,50 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₉₄H₂₉₆N₃₀O₇₈S₁₆) 4809,70 (M-). Rf (min) = 9,30
CE (pH 9): 76,4% de pureza Rf (min) = 19,56

Ejemplo 33**DAH [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈ [ε-COC₅H₁₂]₈**

60

El ejemplo 33 se representa en la figura 10.

Topología superficial	Estequiometría superficial
$(((((\text{Hex B})(\text{Hex B}))^4((\text{Hex B})(\text{Hex B}))^4)^8(((\text{Hex B})(\text{Hex B}))^4((\text{Hex B})(\text{Hex B}))^4)^8)^{16})$	8 COC ₅ H ₁₂ = Hex
	8 COCH ₂ O-3,6-Naph[SO ₃ Na] ₂ = B

- 5 DAH [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈[ε-COC₅H₁₂]₈ (76 mg, 0,021 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (4 ml) y PyBOP (0,30 g, 0,57 mmol) se hicieron reaccionar con una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,21 g, 0,51 mmol) y diisopropiletilamina (0,3 ml, 1,72 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (5 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar DAH [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈[ε-COC₅H₁₂]₈ como un sólido de color blanco (0,16 g, 130%).
 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 907,50 ((M-6H)⁶⁻); 777,73 ((M-7H)⁷⁻); 604,44 ((M-9H)⁹⁻); 543,88 ((M-10H)¹⁰⁻); 494,54 ((M-11H)¹¹⁻); 453,32 ((M-12H)¹²⁻). Los datos se deconvolucionaron usando
 10 cálculo de transformada para dar PM = 5450,95 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₃₄H₃₂₈N₃₀O₈₆S₁₆) 5450,38 (M-). Rf (min) = 9,27
 CE (pH 9): 79,2% de pureza Rf (min) = 17,03

Ejemplo 34

- 15 **BHALys [Lys]₈[α-CO₂PEG₃]₈[ε-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈**

Topología superficial	Estequiometría superficial
$(((((\text{PEG B})(\text{PEG B}))^4((\text{PEG B})(\text{PEG B}))^4)^8(((\text{PEG B})(\text{PEG B}))^4((\text{PEG B})(\text{PEG B}))^4)^8)^{16})$	8 CO ₂ PEG ₃ = PEG
	8 CO-3,5-Ph[SO ₃ Na] ₂ = B

i. PNPO-CO₂PEG₃

- 20 A una mezcla agitada enfriada con hielo de éter monometílico de trietilenglicol (2,5 g, 15,2 mmol), N-metilmorfolina (2,08 g, 20,6 mmol) y DMAP (93 mg, 0,76 mmol) en DCM, se le añadió 4-nitrofenilclorofornio (3,38 g, 16,75 mmol) en una porción. La mezcla se dejó calentar a Ta durante una noche, a continuación se concentró. El residuo se recogió en EtOAc (120 ml) y se lavó con HCl dil. (2 x 100 ml, 1,0 M), NaHCO₃ saturado (100 ml), K₂CO₃ (5%, 4 x 100
 25 ml) y solución saturada de cloruro sódico. La fase orgánica se secó a continuación (MgSO₄), se filtró y se concentró, proporcionando 3,90 g (78%) de PNPO-CO₂PEG₃ como un aceite de color amarillo pálido. LCMS (LC: fobo, TFA, TR = 3,8 min.; MS (M_{calc.} C₁₄H₁₉NO₈ = 329,31): 352 ([M + Na]⁺, 70%), 330([M + H]⁺, 48%). ¹H (CDCl₃): δ 8,27 (d, J = 9,3 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 9,3 Hz, 2H), 4,42-4,45 (m, 2H), 3,79-3,82 (m, 2H), 3,64-3,74 (m, 6H), 3,55-3,58 (m, 2H), 3,37 (s, 3H).

i. OH Lys α-CO₂PEG₃-ε-Boc

Topología superficial	Estequiometría superficial
HO-CO (CO ₂ PEG ₃ Boc)	1 CO ₂ H
	1 CO ₂ PEG ₃
	1 Boc

- 35 A una mezcla agitada de PNPO-CO₂PEG₃ (3,90 g, 11,84 mmol) en DMF (60 ml) se le añadió HO-Lys-α-NH₂-ε-Boc (2,78 g, 11,28 mmol). La suspensión se agitó a 60°C durante una noche, a continuación se enfrió y se vertió en solución de NaHCO₃ (5%, 150 ml). La solución acuosa se lavó a continuación con EtOAc (2 x 150 ml), a continuación se acidificó (HCl, 1,0 M, 180 ml). La fase acuosa se lavó a continuación con EtOAc (3 x 200 ml) de nuevo, y los 3 últimos extractos se combinaron, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó a continuación mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 10% /DCM al 90%), proporcionando HO-Lys-α-CO₂PEG₃-ε-Boc como un aceite viscoso (2,50 g, 51%).
 40 LCMS (LC: filo, TFA, TR = 11,0 min; MS (M_{calc.} C₁₉H₃₆N₂O₉ = 436,51): 459([M + Na]⁺, 20%), 337([M - BOC + H]⁺, 100%).
¹H (CDCl₃): δ 5,64 (s ancho, 1H), 4,03-4,41 (m, 3H), 3,52-3,71 (m, 9H), 3,37 (s, 3H), 3,01-3,20 (m, 4H), 1,81-1,95 (m, 2H), 1,64-1,80 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

45

ii. BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈[ε-Boc]₈

Una solución de BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ y (0,095 g, 0,048 mmol) y PyBOP (0,30 g, 0,57 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (10 ml) se hizo reaccionar con una solución de HO-Lys-α-CO₂PEG₃-ε-Boc (0,20 g, 0,45 mmol) y diisopropiletilamina (0,4 ml, 2,30 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (5 ml). Se agitó la mezcla a Ta durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con ACN. El precipitado, BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈[ε-Boc]₈ se recogió por filtración. (0,15 g, 68%).

LC/MS (Hidrófobo): ESI (+ve) m/z = 1377,1 ((M-3Boc)+H³⁺); 1008,2 ((M-4Boc)+H⁴⁺). PM calculado = 4431 (M+) Calculado (C₂₀₇H₃₆₉N₆₃C₇₁) 4428 (M+). Rf(min) = 14,30

iii. BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈[ε-NH₂.TFA]₈

BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈ [ε-Boc]₈ (0,15 g, 0,034 mmol) se suspendió en DCM (4 ml). Se añadió una solución de TFA/DCM (1:1) (4 ml) y la mezcla se agitó a Ta durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con Éter. El disolvente se retiró del producto impuro, BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈ [ε-NH₂.TFA]₈ mediante decantación y la trituración se repitió tres veces.

LC/MS (Hidrófilo): ESI (+ve) m/z = 1210,10 ((M³⁺+1H)); 907,82 ((M⁴⁺+1H)); 726,32 ((M⁵⁺+1H)). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 3627 (M+, forma de base libre) Calculado (forma de base libre) (C₁₆₇H₃₀₅N₃₁O₅₅) 3627 (M+). Rf (min) = 11,84

iv. BHALys [Lys]₈[α-CO₂PEG₃]₈[ε-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈

Una solución de BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈ [ε-NH₂.TFA]₈ (0,086 g, 0,019 mmol) y PyBOP (0,19 g, 0,37 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (4 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido 3,5-disulfobenzóico (0,10 g, 0,34 mmol) y diisopropiletilamina (0,3 ml, 1,72 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈[ε-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈ como un sólido de color blanco (0,15 g, 130%).
 rmn de ¹H (300 MHz, D₂O) λ (ppm): 1,0-1,8 (90H); 2,9-3,2, 3,2-3,4, 3,4-3,7 y 3,9-4,3 (165H); 6,0 (1H); 7,1-7,3 (10H); 8,2-8,4 (24H).

LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1912,76 ((M-3H)³⁻); 1434,27 ((M-4H)⁴⁻); 1147,39 ((M-5H)⁵⁻); 955,63 ((M-6H)⁶⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 5742 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₂₃H₃₃₇N₃₁O₁₁₁S₁₆) 5741 (M-). Rf (min) = 6,54
 CE (procedimiento a pH 9): 87,5% de pureza Rf (min) = 11,09

Ejemplo 35**BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈[ε-CO-3,5-PhSO₃Na]₈**

Topología superficial	Estequiometría superficial
(((PEG B)(PEG B)) ⁴ ((PEG B)(PEG B)) ⁴) ⁸ ((PEG B)(PEG CO-4-Ph[SO ₃ Na])) ⁴ ((PEG B)(PEG B)) ⁴) ⁸ , ¹⁶	8 CO ₂ PEG ₃ = PEG
	8 CO-4-Ph[SO ₃ Na] = B

Una solución de BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈ [ε-NH₂.TFA]₈ (0,086 g, 0,019 mmol) y PyBOP (0,17 g, 0,33 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (4 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido 4-sulfobenzóico (0,07 g, 0,35 mmol) y diisopropiletilamina (0,3 ml, 1,75 mmol) en DMF/DMSO (1:1) según el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₈ [α-CO₂PEG₃]₈[ε-CO-4-PhSO₃Na]₈ como un sólido de color blanco (0,12 g, 120%).

rmn de ¹H (300 MHz, D₂O) A (ppm): 1,0-1,8 (90H); 2,9-3,1, 3,2-3,3, 3,4-3,6, y 3,9-4,3 (165H); 6,0 (1 H); 7,1-7,3 (10H); 7,7-7,9 (32H).

LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1274,17 ((M-4H)⁴⁻); 1019,09 ((M-5H)⁵⁻); 849,10 ((M-6H)⁶⁻); 727,71 ((M-7H)⁷⁻); 636,78 ((M-8H)⁸⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 5100 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₂₃H₃₃₇N₃₁O₈₇S₈) 5101 (M-). Rf (min) = 7,25
 CE (pH 9): 93,11% Rf (min) = 7,31

Ejemplo 36**BHALys [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈[ε-CBz]₈ SPL7966**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4)^8((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4)^{8,16}$	8	COCH ₂ O-3,6-Naph[SO ₃ Na] ₂ = A
	8	CBz

Una solución de BHALys [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈[ε-CBz]₈ (35 mg, 0,009 mmol) y PyBOP (79 mg, 0,15 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se hizo reaccionar con una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (59 mg, 0,15 mmol) y diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,57 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₈ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₈[ε-CBz]₈ como un sólido de color blanco (18 mg, 33%).
 5 rmn de 1 H (300 MHz, D₂O) λ (ppm): 0,9-1,8 (90H); 2,7-3,1 (30H); 4,0-4,4 (15H); 5,9 (1 H); 6,8-7,2 y 7,7-8,3 (90H).
 Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,5-4,9 ppm).
 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1185,65 ((M-5H)⁵⁻); 846,66 ((M-7H)⁷⁻); 740,78 ((M-8H)⁸⁻); 658,32 ((M-9H)⁹⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de transformación para dar PM = 5934,40 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₆₃H₃₀₅N₃₁O₉₅S₁₆) 5933,43 (M-). Rf (min) = 8,43
 10 CE (pH 9): 72,8% de pureza Rf (min) = 13,67

Ejemplo 37

15

BHALys [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈[ε-CBz]₈ SPL7862

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4)^8((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4)^{8,16}$	8	CO-3,5-Ph[SO ₃ Na] ₂ = A
	8	CBz

Una solución de (BHALys [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈[ε-CBz]₈) (0,102 g, 0,025 mmol) y PyBOP (0,29 g, 0,55 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (7 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido 3,5-disulfobenzoico (0,16 g, 0,55 mmol) y diisopropiletilamina (0,4 ml, 2,30 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₈ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₈ [ε-CBz]₈ como un sólido de color blanco (0,17 g, 124%).
 20 rmn de 1H (300 MHz, D₂O) λ (ppm): 1,0-1,8 (90H); 2,8-3,3 (30H); 4,0-4,4 (15H); 6,0 (1H); 7,0-7,3 y 8,1-8,4 (74H). Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,6-5,0 ppm).
 25 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1762,92 ((M-3H)³⁻); 1321,95 ((M-4H)⁴⁻); 1057,38 ((M-5H)⁵⁻); Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 5295 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₇₃H₂₇₃N₃₁O₈₇S₁₆) 5293(M-). Rf (min) =8,04
 CE (procedimiento a pH 9): 83,7% de pureza Rf (min) = 19,62

30 Ejemplo 38

BHALvs [Lys]₈[α-CO-4-Ph(SO₃Na)]₈[ε-CBz]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$((((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4)^8((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4((A \text{ CBz})(A \text{ CBz}))^4)^{8,16}$	8	CO-4-Ph[SO ₃ Na] = A
	8	CBz

35 Una solución de (BHALys [Lys]₈ [α-NH₂.TFA]₈[ε-CBz]₈) (0,104 g, 0,025 mmol) y PyBOP (0,30 g, 0,57 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (7 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido 4-sulfobenzoico (0,12 g, 0,60 mmol) y diisopropiletilamina (0,4 ml, 2,30 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₈ [α-CO-4-Ph(SO₃Na)]₈[ε-CBz]₈ como un sólido de color blanco. (0,17 g, 108%). La rmn de 1H indicaba que el ácido 4-sulfobenzoico estaba presente. El producto se recrystalizó a partir de metanol/agua
 40 (1:1) para dar un sólido de color blanco (15 mg, 9%).
 rmn de 1H (300 MHz, D₂O) A (ppm): 1,0-1,8 (90H); 2,8-3,2 (30H); 4,0-4,4 (15H); 5,9 (1H); 7,0-7,3 y 7,6-7,8 (82H).
 Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,5-5,0 ppm).
 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 929,31 ((M-5H)⁵⁻); 774,48 ((M-6H)⁶⁻); 663,69 ((M-7H)⁷⁻); 580,67 ((M-8H)⁸⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 4654 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₂₃H₂₇₃N₃₁O₆₃S₈) 4652 (M-) Rf (min) =9,65

CE (procedimiento a pH 9): 86,7% de pureza Rf (min) = 14,3

Ejemplo 39

5 BHALys [Lys]₁₆[α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₁₆[ε-CBz]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial
$\left(\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^{16}$	16 COCH ₂ O-3,6-Naph[SO ₃ Na] ₂ = A
$\left(\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^{16}$	16 CBz

Una solución de BHALys [Lys]₁₆ [α-NH₂.TFA]₁₆[ε-CBz]₁₆ (0,102 g, 0,013 mmol) y PyBOP (0,29 g, 0,56 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (10 ml) se hizo reaccionar con una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,21 g, 0,51 mmol) y diisopropiltilamina (0,5 ml, 2,87 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (5 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₁₆ [α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₁₆[ε-CBz]₁₆ como un sólido de color blanco (0,21 g, 136%).

rmn de ¹H (300 MHz, D₂O) A (ppm): 1,0-1,8 (186H); 2,73,1 (62H); 4,0-4,5 (31 H); 6,0 (1H); 6,7-7,1 y 7,7-8,5 (170H). Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,6-5,0 ppm).

15 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1180,00 ((M-10H)¹⁰⁻); 1073,00 ((M-11H)¹¹⁻); 983,46 ((M-12H)¹²⁻); 907,69 ((M-13H)¹³⁻); 842,85 ((M-14H)¹⁴⁻); 786,53 ((M-15H)¹⁵⁻); 737,25 ((M-16H)¹⁶⁻); 693,72 ((M-17H)¹⁷⁻); 655,26((M-18H)¹⁸⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 11813 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₄₃₉H₅₄₅N₆₃O₁₇₅S₃₂) 11812 (M-). Rf (min) = 7,34

CE (pH 9): 55,3% de pureza Rf (min) = 20,23

20

Ejemplo 40

BHALys [Lys]₁₆ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₁₆[ε-CBz]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial
$\left(\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^{16}$	16 CO-3,5-Ph[SO ₃ Na] ₂ = A
$\left(\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^{16}$	16 CBz

25

Una solución de (BHALys [Lys]₁₆ [α-NH₂.TFA]₁₆[ε-CBz]₁₆) (0,108 g, 0,013 mmol) y PyBOP (0,31 g, 0,59 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (7 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido 3,5-disulfobenzóico (0,17 g, 0,62 mmol) y diisopropiltilamina (0,4 ml, 2,30 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₁₆ [α-CO-3,5-Ph(SO₃Na)₂]₁₆[ε-CBz]₁₆ como un sólido de color blanco (0,20 g, 134%).

30 rmn de ¹H (300 MHz, D₂O) λ (ppm): 1,0-1,8 (186H); 2,8-3,3 (62H); 4,0-4,4 (31 H); 6,0 (1 H); 7,0-7,2 y 8,2-8,4 (138H). Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,6-5,0 ppm).

LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 876,84 ((M-12H)¹²⁻); 808,99 ((M-13H)¹³⁻); 751,20 ((M-14H)¹⁴⁻); 701,27 ((M-15H)¹⁵⁻); 657,37 ((M-16H)¹⁶⁻); 618,52 ((M-17H)¹⁷⁻); 584,21 ((M-18H)¹⁸⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 10533 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H)

35 (C₄₃₉H₅₄₅N₆₃O₁₇₅S₃₂) 10531 (M-). Rf (min) = 8,06

CE (procedimiento a pH 9): 69,5% de pureza Rf (min) = 20,39

Ejemplo 41

40 BHALys [Lys]₁₆ [α-CO-4-Ph(SO₃Na)]₁₆[ε-CBz]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial
$\left(\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^{16}$	16 CO-4-Ph(SO ₃ Na) = A
$\left(\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^8\left(\left(\left(\text{A CBz}\right)\left(\text{A CBz}\right)\right)^4\right)^{16}$	16 CBz

Una solución de (BHALys [Lys]₁₆ [α-NH₂.TFA]₁₆[ε-CBz]₁₆) (0,117 g, 0,014 mmol) y PyBOP (0,33 g, 0,63 mmol) en

DMF/DMSO (1:1) (7 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido 4-sulfobenzoico (0,14 g, 0,67 mmol) y diisopropiletamina (0,4 ml, 2,30 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (3 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.iii para dar BHALys [Lys]₁₆ [α-CO-4-Ph(SO₃Na)]₁₆[ε-CBz]₁₆ como un sólido de color blanco (0,17 g, 121%).

- 5 Nótese que los protones de CH₂O están oscurecidos por el pico de agua (4,6-5,0 ppm).
 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 924,00 ((M-10H)¹⁰⁻); 840,02 ((M-11H)¹¹⁻); 769,81 ((M-12H)¹²⁻); 710,61 ((M-13H)¹³⁻); 659,78 ((M-14H)¹⁴⁻); 615,74 ((M-15H)¹⁵⁻); 577,34 ((M-16H)¹⁶⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 9252 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₄₃₉H₅₄₅N₆₃O₁₂₇S₁₆) 9250 (M-). Rf (min) = 9,08
 10 CE (procedimiento a pH 9): 78.0% de pureza Rf (min) = 18,07

Ejemplo 42

- 15 **BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((A A)(Boc Boc)) ⁴ ((A A)(Boc Boc)) ⁴ ⁸	4	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂ = A
	4	Boc

- 20 Una solución de BHALys [GlyLys₂(Boc)₂(NH₂)₂]₂ (34 mg, 0,021 mmol) y PyBOP (0,11 g, 0,21 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se hizo reaccionar con una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,07 g, 0,13 mmol) y se añadió gradualmente DIPEA (0,2 ml, 1,15 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con acetonitrilo. El precipitado se recogió por filtración y se purificó en una columna de desalinización (PD-10). El eluyente se liofilizó para dar BHALys [GlyLys₂(Boc)₂(COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂)₂]₂ como un sólido de color blanco (15 mg, 27%).

- 25 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 989,89 ((M-3H)³⁻); 741,94 ((M-4H)⁴⁻); 593,56 ((M-5H)⁵⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 2972,50 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₂₇H₁₆₇N₁₇O₄₉S₈) 2972,29 (M-). Rf(min) = 9,57

Ejemplo 43

- 30 **BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [α,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
((Hex Hex)(B B)) ⁴ ((Hex Hex)(B B)) ⁴ ⁸	4	COC ₅ H ₁₂ = Hex
	4	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂ = B

i. BHALys [GtyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂

- 35 Una solución de BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-NH₂]₂ [ε,ε-NH₂]₂ (42 mg, 0,026 mmol) y PyBOP (0,13 g, 0,25 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido hexanoico (27 mg, 0,23 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 1,15 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.i para dar BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂ como un sólido grisáceo que se usó directamente para la siguiente etapa.
 40

ii. BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-NH₂.TFA]₂ [α,ε-NH₂.TFA]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂

- 45 BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-Boc]₂ [α,ε-Boc]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂[ε,ε-COC₅H₁₂]₂ dispersado en DCM (1 ml) se desprotegió con una solución de TFA/DCM (1:1) (2 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.ii para dar BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-NH₂.TFA]₂ [α,ε-NH₂.TFA]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂ como un sólido de color blanco (28 mg, 47% para dos etapas). LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 1587,22 (M+); 794,51 ((M+2H)²⁺); 529,93 ((M+3H)³⁺). Calculado (C₈₃H₁₄₃N₁₇O₁₃) 1587,13 (NH₂ forma). Rf (min) = 8,94

- 50 **iii. BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [α,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂**

Una solución de BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [α,α-NH₂.TFA]₂ [α,ε-NH₂.TFA]₂ [ε,α-COC₅H₁₂]₂ [ε,ε-COC₅H₁₂]₂ (21 mg, 0,010

mmol) y PyBOP (0,07 g, 0,13 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml) se hizo reaccionar con una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,03 g, 0,08 mmol) y se añadió gradualmente DIPEA (0,5 ml, 2,87 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml). Se agitó la mezcla a Ta durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en agua y se purificó por cromatografía de exclusión por tamaño (Sephadex LH-20). Las fracciones que contenían

5 dendrímico se liofilizaron para dar BHALys [GlyLys₂ (COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂)₂(hexil)₂] como un sólido de color blanco (11 mg, 34%).

LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1480,87 ((M-2H)²⁻); 986,96 ((M-3H)³⁻); 740,14 ((M-4H)⁴⁻); 592,10 ((M-5H)⁵⁻); 493,54 ((M-6H)⁶⁻); 423,39 ((M-7H)⁷⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 2965,00 (M+1, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₃₁H₁₇₅N₁₇O₄₅S₈) 2964,40 (M-). Rf (min) =

10 9,26

Ejemplo 44

Topología superficial	Estequiometría superficial	
	8	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂ = B

15 BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-CO-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄

Una solución de BHALys₂ [GlyLys₂(Boc)₂(NH₂)₂]₄ (33 mg, 0,011 mmol) y PyBOP (0,12 g, 0,24 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se hizo reaccionar con una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,07 g, 0,13 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 1,15 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con acetonitrilo. El precipitado se recogió por filtración y se purificó en una columna de desalinización (PD-10). El eluyente se liofilizó para dar BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄[ε,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄

20 como un sólido de color blanco (25 mg, 38%).
 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1471,44 ((M-4H)⁴⁻); 1177,16 ((M-5H)⁵⁻); 980,55 ((M-6H)⁶⁻); 840,35 ((M-7H)⁷⁻); 735,26 ((M-8H)⁸⁻); 653,40 ((M-9H)⁹⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 5890,00 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₄₇H₃₃₃N₃₅O₉₉S₁₆) 5889,50 (M-). Rf (min) = 9,55

30 Ejemplo 45

BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄[α,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Hex Hex)(B B)) ⁴ ((Hex Hex)(B B)) ⁴) ⁸ ((Hex Hex) (B B)) ⁴ ((Hex Hex)(B B)) ⁴) ¹⁶	8	COC ₅ H ₁₂ = Hex
	8	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂ =B

35

i. BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄

Una solución de BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄[ε,α-NH₂]₄ [ε,ε-NH₂]₄ (43 mg, 0,014 mmol) y PyBOP (0,13 g, 0,25 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se hizo reaccionar con una solución de ácido hexanoico (27 mg, 0,23 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 1,15 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.i para dar BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄ como un sólido grisáceo que se usó directamente para la siguiente etapa.

40

ii. BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-NH₂.TFA]₄ [α,ε-NH₂.TFA]₄[ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄

45

BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-Boc]₄ [α,ε-Boc]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄ dispersado en DCM (1 ml) se desprotegió con una solución de TFA/DCM (1:1) (2 ml) de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 29.ii para dar BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-NH₂.TFA]₄ [α,ε-NH₂.TFA]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄ como un sólido de color blanco (44 mg, 80% para dos etapas).

50 LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 1560,69 ((M+2H)²⁺); 1040,77 ((M+3H)³⁺); 780,72 ((M+4H)⁴⁺); 624,85 ((M+5H)⁵⁺). Calculado (C₁₅₉H₂₈₅N₃₅O₂₇) 3119,18 (NH₂ forma). Rf (min) = 9,29

iii. BHALys [Lys]₂ [GlyLys]₄ [Lys]₈ [α,α-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄[α,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₄ [ε,α-COC₅H₁₂]₄ [ε,ε-COC₅H₁₂]₄

- Se añadió PyBOP (0,06 g, 0,12 mmol) a una solución agitada de BHALys₂ [GlyLys₂ (NH₂.TFA)₂(hexil)₂]₄ (21 mg, 0,005 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml). Una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,04 g, 0,09 mmol) y DIPEA (0,6 ml, 3,44 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a Ta durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en agua y se purificó por cromatografía de exclusión por tamaño (Sephadex LH-20). Las fracciones que contenían dendrímero se liofilizaron para dar BHALys₂ [GlyLys₂ (COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂)₂(hexil)₂]₄ como un sólido de color blanco (6 mg, 18%).
- LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1467,17 ((M-4H)⁴⁻); 1173,62 ((M-5H)⁵⁻); 978,28 ((M-6H)⁶⁻); 838,08 ((M-7H)⁷⁻); 733,26 ((M-8H)⁸⁻); 651,74 ((M-9H)⁹⁻); 586,64 ((M-10H)¹⁰⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 5875,00 (M+1, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₂₅₅H₃₄₉N₃₅O₉₁S₁₆) 5873,72 (M-). Rf (min) = 10,12

Ejemplo 46

15 BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₆

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((CBzCBz)(B B)) ⁴ ((B B)(B B)) ⁴) ⁸	2	CBz
	6	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂ = B

i. BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [NH₂.TFA]₆

- 20 Una solución de TFA (0,5ml) se añadió lentamente a BHALys [Lys]₂[α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [Boc]₆ (30 mg, 0,015 mmol) dispersado en ácido acético (0,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío para dar BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂[Lys]₃ [NH₂.TFA]₆ como un aceite de color amarillo pálido (31 mg, 99%).
- LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 1348,67 M+; 675,09 ((M+2H)²⁺). Calculado (C₇₁H₁₀₉N₁₅O₁₁) 1348,72 (NH₂ forma). Rf (min) = 7,54

ii. BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₆

- 30 Se añadió PyBOP (0,15 g, 0,29 mmol) a una solución agitada de BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [NH₂.TFA]₆ (31 mg, 0,015 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml). Una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,11 g, 0,28 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 1,15 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en agua y se purificó por cromatografía de exclusión por tamaño (Sephadex LH-20). Las fracciones que contenían dendrímero se liofilizaron para dar BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [CBz]₂ [Lys]₃ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₆ como un sólido de color blanco (4 mg, 7%).
- LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1706,45 ((M-2H)²⁻); 1137,01 ((M-3H)³⁻); 852,50 ((M-4H)⁴⁻); 681,88 ((M-5H)⁵⁻); 568,40 ((M-6H)⁶⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 3415,00 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₄₃H₁₅₇N₁₅O₅₉S₁₂) 3414,62 (M-). Rf (min) = 10,55

40 Ejemplo 47

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((A A)(Boc Boc)) ⁴ ((Boc Boc)(Boc Boc)) ⁴) ⁸	2	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂ = A
	6	Boc

BHALys [Lys]₂ [α,ε-Lys] [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ [Lys]₃ [Boc]₆

- 45 Se añadió PyBOP (0,02 g, 0,03 mmol) a una solución agitada de BHALys₄ [Boc]₆[NH₂]₂ (4 mg, 0,002 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml). Una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,01 g, 0,02 mmol) y diisopropiletamina (50 μl, 0,29 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con acetonitrilo. El producto impuro se recogió por filtración y se trituró con agua. El precipitado se secó al vacío para dar BHALys₄ [Boc]₆[COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₂ como un sólido de color grisáceo (3 mg, 53%).

Ejemplo 48

BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂]₆ [ε,ε-CBz]₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{CBz CBz})(\text{B B}))^4((\text{B B})(\text{B B}))^4)^8$	2	CBz
	6	$\text{COCH}_2\text{O-3,6-Naph}(\text{SO}_3\text{Na})_2 = \text{B}$

i. BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [NH₂.TFA]₆ [ε,ε-CBz]₂

- 5 Una solución de TFA (0,5 ml) se añadió lentamente a BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-CBz]₂ (25 mg, 0,012 mmol) dispersado en ácido acético (0,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío para dar BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄[NH₂.TFA]₆ [ε,ε-CBz]₂ como un aceite de color amarillo pálido (24 mg, 92%).
LC/MS (filo) ESI (+ve) m/z = 1463,88 ((M+1)⁺); 732,29 ((M+2H)²⁺); 488,55 ((M+3H)³⁺). Calculado (C₇₅H₁₁₅N₁₇O₁₃)
10 1462,82 (NH₂ forma). Rf (min) = 7,25

ii. BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)]₆ [ε,ε-CBz]₂

- Se añadió PyBOP (0,11 g, 0,21 mmol) a una solución agitada de BHALys [GlyLys]₂(NH₂.TFA)₃(CBz)₂ (24 mg, 0,011 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml). Una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,08 g, 0,20 mmol) y DIPEA (0,5 ml, 2,87 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con acetonitrilo. El precipitado se recogió por filtración y se purificó en una columna de desalinización (PD-10). El eluyente se liofilizó para dar BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)]₆ [ε,ε-CBz]₂ como un sólido de color blanco (18 mg, 42%).
20 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1175,22 ((M-3H)³⁻); 881,14 ((M-4H)⁴⁻); 704,63 ((M-5H)⁵⁻); 587,24 ((M-6H)⁶⁻); 503,50 ((M-7H)⁷⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de máxima entropía para dar PM = 3529,00 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₄₇H₁₆₃N₁₇O₆₁S₁₂) 3528,72 (M-). Rf (min) = 10,34

Ejemplo 49

- 25 **BHALys [GlyLys]₂ [Lys]₄ [Boc]₆ [ε,ε-COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)]₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((\text{A A})(\text{Boc Boc}))^4((\text{Boc Boc})(\text{Boc Boc}))^4)^8$	2	$\text{COCH}_2\text{O-3,6-Naph}(\text{SO}_3\text{Na})_2 = \text{A}$
	6	Boc

- Se añadió PyBOP (0,08 g, 0,14 mmol) a una solución agitada de BHALys [GlyLys]₂(Boc)₃(NH₂)₂ (19 mg, 0,011 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (2 ml). Una solución de HOCOCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂ (0,05 g, 0,12 mmol) y DIPEA (0,1 ml, 0,57 mmol) en DMF/DMSO (1:1) (1 ml) se añadió gradualmente. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se trituró con acetonitrilo. El precipitado se recogió por filtración y se purificó en una columna de desalinización (PD-10). El eluyente se liofilizó para dar BHALys [GlyLys]₂(Boc)₃(COCH₂O-3,6-Naph(SO₃Na)₂)₂ como un sólido de color blanco (10 mg, 37%).
35 LC/MS (emparejamiento de iones): ESI (-ve) m/z = 1240,91 ((M-2H)²⁻); 826,99 ((M-3H)³⁻); 620,01 ((M-4H)⁴⁻). Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de transformada para dar PM = 2484,00 (M-, en forma de H) Calculado (forma de H) (C₁₁₃H₁₆₇N₁₇O₃₇S₄) 2483,89 (M-). Rf (min) = 10,55

Ejemplo 50

- 40 **Eficacia antiviral de macromoléculas con topología superficial controlada.**

- Se infectan células MT-2 con la cepa NL4.3 trópica a células T de HIV-1 en presencia de 6, concentraciones sucesivas en 5 veces de compuesto en pocillos por triplicado de una placa de 96 pocillos. En la misma placa, las células se exponen a las mismas concentraciones de fármaco en ausencia de virus para determinar las concentraciones citotóxicas del compuesto. La macromolécula prototipo, SPL7103, que inhibe la replicación del VIH, se prueba en cada ensayo como un control positivo [véase Dezzutti CS, James VN, Ramos A, Sullivan ST, Siddig A, Bush TJ, Grohskopf LA, Paxton L, Subbarao S, Hart CE. In vitro comparison of topical microbicides for prevention of human immunodeficiency virus type 1 transmission. Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48: 3834-44].
50 Después de 6 días de incubación a 37°C en una incubadora de CO₂, la viabilidad celular de células tanto infectadas como no infectadas por el virus se determina por incubación de las células durante 3-4 horas con 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (CellTiter 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation assay (Promega, Madison WI)). La concentración citotóxica al 50% (CC₅₀) y al concentración inhibidora al 50% (CI₅₀) se calculan para cada fármaco a partir de curvas de

respuesta a la dosis usando el software XLfit 4.1 (ID Business Solutions Ltd, Guildford, Surrey, Reino Unido). Los datos de este ensayo se tabulan en la tabla 5.

Tabla 24: Actividades antivirales para macromoléculas con estequiometría superficial controlada.

Ej. #	Topología	A+B	A:B	A	B	CE ₅₀ * (ug/ml)	Conjunto [#]
29	ABABABAB	8	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	COC ₅ H ₁₂	23,8	1
30	ABABABAB	8	1:1	COC ₅ H ₁₂	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	58,3	1
31	ABABABAB	8	1:1	CO-4-PhSO ₃ Na	COC ₅ H ₁₂	344	
32	ABABABAB x 2	16	1:1	CO-3,5-Ph(SO ₃ Na) ₂	COC ₅ H ₁₂	5,8	
33	ABABABAB x 2	16	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	COC ₅ H ₁₂	0,71	3
34	ABABABAB x 2	16	1:1	CO ₂ PEG ₃	CO-3,5-Ph(SO ₃ Na) ₂	84,5	
35	ABABABAB x 2	16	1:1	CO ₂ PEG ₃	CO-4-PhSO ₃ Na	>500	
36	ABABABAB x 2	16	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	CBz	3,2	
37	ABABABAB x 2	16	1:1	CO-3,5-Ph(SO ₃ Na) ₂	CBz	2	
38	ABABABAB x 2	16	1:1	CO-4-PhSO ₃ Na	CBz	2,2	
39	ABABABAB x 4	32	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	CBz	2,4	
40	ABABABAB x 4	32	1:1	CO-3,5-Ph(SO ₃ Na) ₂	CBz	3,2	
41	ABABABABx4	32	1:1	CO-4-PhSO ₃ Na	CBz	4,2	
42	AABB AABB	8	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	Boc	10,6	
43	AABB AABB	8	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	COC ₅ H ₁₂	0,24	1
44	AABB AABB x 2	16	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	Boc	0,33	
45	AABB AABB x 2	16	1:1	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	COC ₅ H ₁₂	0,37	3
46	AABB BBBB	8	1:3	CBz	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	0,14	
47	AABB BBBB	8	1:3	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	Boc	>50	2
48	AABB BBBB	8	1:3	CBz	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	0,13	
49	ABBB BBBB	8	1:3	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	Boc	2,2	2
	SPL7013	32	-	COCH ₂ O-3,6-Naph(SO ₃ Na) ₂	-	1,5	

* Todos los compuestos mostraron valores de CC₅₀ >250 ug/ml # Conjuntos de compuestos en los que la estequiometría superficial de restos funcionales es la misma, pero para los cuales la topología es diferente.

5

Estos datos sirven para demostrar que macromoléculas que tienen diferentes topologías de la misma estequiometría de resto funcional superficial se comportan de forma diferente cuando interactúan con un entorno fisicoquímico. Es importante también resaltar la potente actividad anti-VIH de los ejemplos 46 y 48, que puede verse que es considerablemente más activa que SPL7013 que es una macromolécula con solamente un único tipo de resto funcional en la superficie.

10

Ejemplos ADME

Ejemplo 51

BHALys [Lys]₈ [PEG₂₀₀]₁₆

5 A una solución agitada de BHA[Lys]₈TFA₁₆ (125 mg, 0,03 mmol) en DMF (8 ml) se le añadió PyBOP (556 mg, 1,0 mmol), seguido por una solución de PEG 200 (240 mg, 1,0 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (709 µl, 4,0 mmol) en DMF (16 ml) y DMSO (2 ml). La solución se agitó a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (180 ml) y se filtró y se lavó con agua. La solución acuosa se transfirió a una célula 3K agitada y se hizo pasar agua a través de la célula, el agua restante se retiró mediante liofilización para dar un sólido fluido de color blanco (20 mg, 11%)

10 LC/MS (Filo TFA): Rf (min) = 16,72. ESI (+ve) m/z = 5598 (M+H⁺).

Ejemplo 52**BHALys [Lys]₁₆[PEG₂₀₀]₃₂**

15 A una solución agitada de BHA[Lys]₁₆TFA₃₂ (30 mg, 0,004 mmol) en DMF (3 ml) en argón se le añadió PyBOP (142 mg, 0,271 mmol), seguido por una solución de PEG 200 (62 mg, 0,263 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (182 µl, 1,04 mmol) en DMF (3 ml). La solución se agitó a Ta durante 16 h. Los disolventes se retiraron a presión reducida y la mezcla impura resultante se disolvió en un volumen mínimo de agua. La purificación mediante columna sephadex

20 (LH-20) usando agua como eluyente dio el producto deseado como un sólido de color blanco (20 mg, 44%) después de retirar el agua mediante liofilización.

LC/MS (Filo TFA): Rf (min) = 16,74 ESI (+ve) m/z = 11,141 (M+H⁺).

Ejemplo 53

25 **BHALys [Lys]₁₆[PEG₅₇₀]₃₂**

A una solución agitada de BHA[Lys]₁₆TFA₃₂ (20 mg, 0,003 mmol) en DMF seco (2 ml) en nitrógeno, se le añadió TEA (36 µl, 0,261 mmol) y PEG 685,75, éster de NHS (119 mg, 0,174 mmol). La mezcla de reacción se agitó a Ta durante 16 h. La solución se vertió en una célula agitada 5K y se hizo pasar agua (600 ml) a través de la célula, el agua restante se retiró mediante liofilización (x2) para dar un sólido cristalino (50 mg, 88%). LC (Filo TFA): Rf (min) 12,42.

30

Ejemplo 54

35 **BHALys [Lys]₈[PEG_{2KD}]₁₆**

A una solución agitada de BHA[Lys]₈TFA₁₆ (30 mg, 0,008 mmol) en DMF seco (2 ml) en nitrógeno, se le añadió PyBOP (141 mg, 0,271 mmol), seguido por una solución de PEG 2000, éster de NHS (612 mg, 0,306 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (180 µl, 1,04 mmol) en DMF (1,4 ml) y DMSO (0,6 ml). La solución se agitó a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en una célula agitada 10K y se hizo pasar agua (800 ml) a través de la célula, el agua restante se retiró mediante liofilización para dar un sólido fluido de color blanco (149 mg, 54%).

40

Ejemplo 55

45 **BHALys [Lys]₁₆[PEG_{2KD}]₃₂ SPL 7709**

A una solución agitada de BHA[Lys]₁₆TFA₃₂ (30 mg, 0,004 mmol) en DMF seco (2 ml) en argón, se le añadió PyBOP (142 mg, 0,272 mmol), seguido por una solución de PEG 2000, éster de NHS (522 mg, 0,261 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (182 µl, 1,04 mmol) en DMF (3 ml) y DMSO (1 ml). La solución se agitó a Ta durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en agua y se filtró y se lavó con agua. La purificación se realizó mediante filtración por flujo tangencial en un Mini-mate (membrana 10K, 2 l de agua). El disolvente se retiró mediante liofilización para dar un sólido fluido de color blanco (210 mg, 76%)

50

LC/MS (Filo TFA): Rf (min) = 16,29 ESI (+ve) m/z = 67,696 (M+H⁺)

55

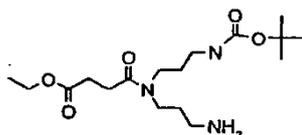
Ejemplo 56

BHALys [Lys]₂ [Su(NPN)₂]₄ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₄ [COPEG₁₂]₄

60 **Este ejemplo se representa gráficamente en la figura 11.**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ ((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ⁸	16	COPEG ₁₂ = PEG
	16	γ-CO-MTX-α-OtBu = Fármaco

i. EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [NH₂]

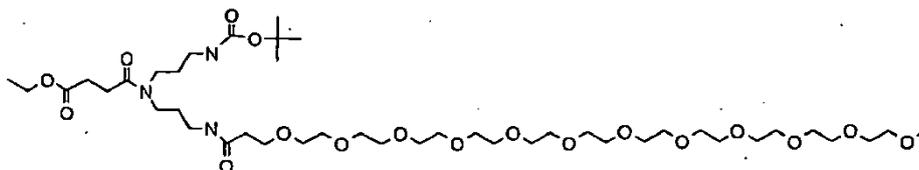


5

A una mezcla agitada de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [CBz] (0,88 g, 1,77 mmol) en DMF/H₂O (9:1, 20 ml) se le añadió formiato de amonio (224 mg, 3,55 mmol) y Pd/C (10%, 470 mg). La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, a continuación se filtró (disco de filtrado PALL de 0,2 μm) y se concentró. El residuo se recogió en agua y se concentró (2x). Esto se repitió a continuación con MeOH y DCM, proporcionando 0,54 g (84%) de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [NH₂] como un aceite transparente incoloro. LCMS (LC; filo, TFA, TR = 6,2 min; MS (M_{calc} C₁₇H₃₃N₃O₅ = 359,47): 360([M + H]⁺, 100%). ¹H (CDCl₃): δ 5,30 (s ancho, 1 H), 4,80 (s ancho, 1H), 4,12 (c, J = 9,0 Hz, 2H), 3,29-3,46 (m, 4H), 3,14 (m, 1H), 3,07 (m, 1H), 2,56-2,80 (m, 6H), 1,60-1,90 (m, 4H), 1,42,1,43 (2s, 9H), 1,25 (t, J = 9,0Hz, 3H).

15

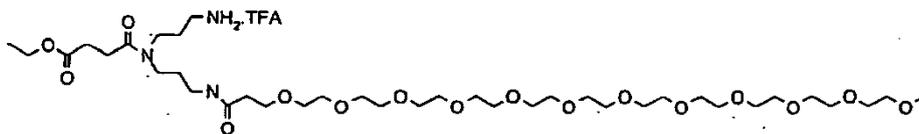
ii. EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [COPEG₁₂]



A una mezcla agitada de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [NH₂] (157 mg, 0,44 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió TEA (121 μl, 0,87 mmol) y NHS-COPEG₁₂ (300 mg, 0,44 mmol) como una solución en DCM (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche, se concentró, y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (MeOH al 2-10%/DCM, proporcionando 331 mg (82%) de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [COPEG₁₂] como un aceite transparente incoloro. LCMS (LC: filo, TFA, TR = 8,2 min; MS (M_{calc} C₄₃H₈₃N₃O₁₈ = 930,15): 948([M + NH₄]⁺, 12%), 931([M + H]⁺, 2%), 416(1/2[M - BOC + 2H⁺], 100%). ¹H (CDCl₃): δ 7,10 (s ancho, 1 H), 7,03 (s ancho, 1H), 4,16 (c, J = 9,0 Hz, 2H), 3,72 (m, 2H), 3,58-3,66 (m, 36H), 3,52-3,56 (m, 2H), 3,47 (s, 2H), 2,96-3,42 (m, 7H), 3,37 (s, 4H), 2,70 (s, 4H), 2,60 (m, 4H), 2,47 (m, 2H), 1,60-1,90 (m, 4H), 1,41,1,43 (2s, 9H), 1,24 (t, J = 9,0 Hz, 3H).

25

iii. EtO-Su(NPN)₂ [NH₂.TFA] [COPEG₁₂]

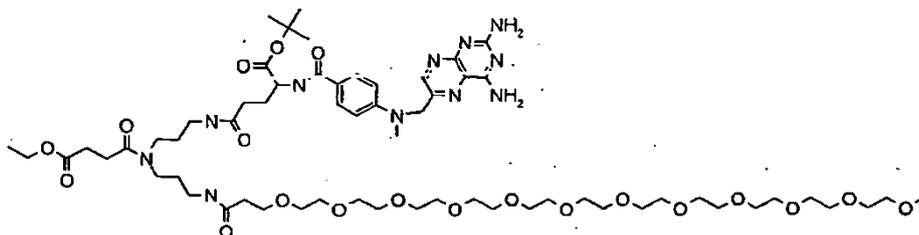


30

A una mezcla agitada de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [COPEG₁₂] (180 mg, 0,19 mmol) en DCM (2 ml) se le añadió TFA (0,50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6h, se concentró, se le añadió H₂O y se concentró (2x). El residuo se recogió a continuación en H₂O de nuevo (20 ml), se filtro (disco de filtración PALL de 0,2 μm) y a continuación se liofilizó, proporcionando 0,17 g (93%) de EtO-Su(NPN)₂ [NH₂.TFA] [COPEG₁₂] como un aceite transparente incoloro. LCMS (LC: filo, TFA, TR = 5,9 min; MS (M_{calc} C₃₈H₇₅N₃O₁₆ = 830,03): 831 ([M + H]⁺, 7%), 425(1/2[M + Na⁺ + H⁺], 30%), 416(1/2[M + 2H⁺], 100%). ¹H (D₂O): δ 4,17 (q, J = 9,0 Hz, 2H), 3,80 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,62-3,75 (m, 43H), 3,38-3,53 (m, 4H), 3,40 (s, 3H), 2,90-3,31 (m, 4H), 2,77 (s, 4H), 2,64-2,89 (m, 4H), 2,52-2,58 (m, 2H), 1,72-2,11 (m, 4H), 1,13 (t, J = 9,0 Hz, 3H).

35

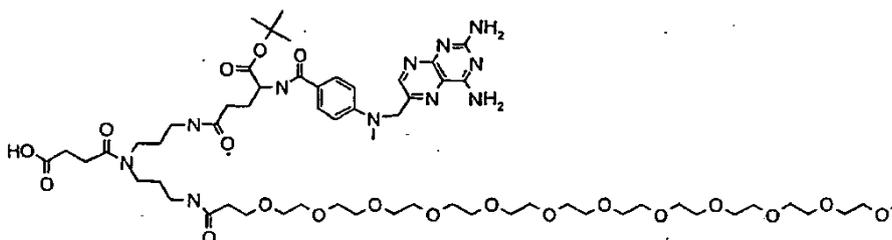
iv. EtO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂]



A una mezcla agitada de EtO-Su(NPN)₂ [NH₂.TFA] [COPEG₁₂] (30 mg, 31,7 μmol) y MTX-α-OtBu (16,2 mg, 31,7 μmol) {C. L. Francis, Q. Yang, N. K. Hart, F. Widmer, M. K. Manthey y H. Ming He-Williams, Aust. J. Chem. 2002, 55, 635} en DMF (0,5 ml) a 0°C, se le añadió PyBOP (18 mg, 34,8 μmol) y DIPEA (23 μl, 0,127 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 30 min, a continuación a temperatura ambiente durante 3 h. El DMF se retiró, y el residuo se purificó mediante TLC preparativa (MeOH al 7%, DCM al 93%, R_f = 0,3) proporcionando 23 mg (55%) de EtO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂] como un aceite de color naranja. LCMS (LC: filo, TFA, TR = 8,0 min; MS (M_{calc} C₆₂H₁₀₃N₁₁O₂₀ = 1322,57): 1323([M + H]⁺, 2%), 662(1/2[M + 2H]⁺, 17%), 634(1/2[M -tBu + 2H]⁺, 82%). ¹H (CD₃OD): δ 8,60 (s, 1H), 8,28 (t, J = 9,0 Hz, 1 H), 7,95-8,05 (m, 1 H), 7,72-7,80 (m, 1H), 7,75 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 6,87 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,88 (s, 2H), 4,36-4,47 (m, 1 H), 4,07 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 3,51-3,78 (m, 50H), 3,18-3,38 (m, 12H), 2,54-2,64 (m, 4H), 2,31-2,48 (m, 4H), 1,75-1,85 (m, 2H), 1,59-1,70 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,21 (t, J = 7,8 Hz, 3H).

v. HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OBu] [COPEG₁₂]

15



A una mezcla agitada de EtO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂] (109 mg, 82,4 μmol) en THF/H₂O (2:1, 9 ml) se le añadió NaOH (0,16 ml, 1,0 M). La reacción se dejó agitar durante 16 h a temperatura ambiente, y se añadió NaOH adicional, en caso necesario (reacción valorada mediante tlc). Una vez que la reacción estaba completa, el pH se ajustó a neutro con HCl (1,0 M). A continuación se retiró el disolvente, el residuo se recogió en MeOH, y se filtró para retirar la sal. El residuo se purificó a continuación mediante TLC preparativa (MeOH al 18%, DCM al 82%, R_f = 0,4) proporcionando 52 mg (49%) de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OBu] [COPEG₁₂] como un aceite de color naranja. LCMS (LC: filo, TFA, TR = 6,8 min; MS (M_{calc} C₆₀H₉₉N₁₁O₂₀ = 1294,52): 1317([M + Na]⁺, 3%), 1295 ([M + H]⁺, 2%), 648(1/2[M + 2H]⁺, 10%), 620(1/2[M-tBu + 2H]⁺, 74%), 419(100%).

vi. BHALys[Lys]₂[Su(NPN)₂(MTX-□-OtBu)(PEG₁₂Me)]₄

A una mezcla agitada de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂] (10 mg, 7,7 μmol) y BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (1,43 mg, 1,4 μmol) en DMF (1,2 ml) a 0°C, se le añadió PyBOP (4,0 mg, 7,7 μmol) y DIPEA (3,9 μl, 22,4 μmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 30 min, a continuación a ta durante 3 h. El DMF se retiró, y el residuo se purificó mediante PREP HPLC (Waters Xterra MS C₁₈, 10 μm, 19 x 250 mm, ACN al 30-60%, TFA al 0,1%, 8 ml/min, TR = 34 min), proporcionando 2 mg (25%) del dendrímero deseado. LCMS (LC: filo/TFA TR = 8,0 min; MS: 1136(1/5[M + 5H]⁺, 18%), 946(1/6[M + 6H]⁺, 100%), 812(1/7[M + 7H]⁺, 22%) Transforma a 5.673,34. (M_{calc} C₂₇₁H₄₃₇N₅₁O₇₉ = 5.673,80).

Ejemplo 57

BHALys [Lys]₄ [Su(NPN)₂] ₈ [γ-CO-MTX-α-OtBu] ₈ [COPEG₁₂]

40

Topología superficial		Estequiometría superficial	
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ ((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ¹⁶		8	COPEG ₁₂ =PEG
		8	γ-CO-MTX-α-OtBu = Fármaco

La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂] con BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₄ [Su(NPN)₂]₈ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₈ [COPEG₁₂]₈: 25 mg (63%, 1,32 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 90 min, TR 54 min). LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,0 min; MS: 1614(1/7[M + 7H⁺], 26%), 1413(1/8[M + 8H⁺], 73%), 1256(1/9[M + 9H⁺], 100%) Transforma a 11.294,54. (M_{calc} C₅₃₅H₈₇₃N₁₀₃O₁₅₉ = 11.292,52).

Ejemplo 58

BHALys [Lys]₈ [Su(NPN)₂]₁₆ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₁₆ [COPEG₁₂]₁₆

Topología superficial		Estequiometría superficial	
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ ((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ¹⁶		16	COPEG ₁₂ = PEG
		16	γ-CO-MTX-α-OtBu = Fármaco

La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂] con BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₁₆ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₈ [Su(NPN)₂]₁₆ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₁₆ [COPEG₁₂]₁₆: 15 mg (65%, 1,27 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 90 min, TR 66 min). LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,0 min; MS: 2254(1/10[M + 10H⁺], 24%), 2049(1/11[M + 11H⁺], 56%), 1879(1/12[M + 12H⁺], 100%), 1734(1/13[M + 13H⁺], 55%) Transforma a 22.531,91 (M_{calc} C₁₀₆₃H₁₇₄₅N₂₀₇O₃₁₉ = 22.529,73).

Ejemplo 59

BHALys [Lys]₁₆ [Su(NPN)₂]₃₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₃₂ [COPEG₁₂]₃₂

Topología superficial		Estequiometría superficial	
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ ((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ¹⁶ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ¹⁶ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ¹⁶ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴)) ¹⁶		32	COPEG ₁₂ = PEG
		32	γ-CO-MTX-α-OtBu = Fármaco

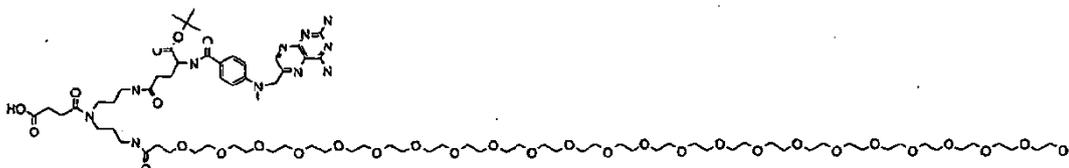
La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₁₂] con BHALys [Lys]₁₆ [NH₂.TFA]₃₂ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₁₆ [Su(NPN)₂]₃₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₃₂ [COPEG₁₂]₃₂: 21 mg (45%, 1,31 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 90 min, TR 71 min). LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,2 min; MS: (M_{calc} C₂₁₁₉H₃₄₈₉N₄₁₅O₆₃₉ = 45.004,27), MALDI, 40.697 (protuberancia ancha).

Ejemplo 60

BHALys [Lys]₄ [Su(NPN)₂]₈ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₈ [COPEG₂₄]₈

Topología superficial		Estequiometría superficial	
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ ((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ¹⁶		8	COPEG ₂₄ =PEG
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ¹⁶		8	γ-CO-MTX-α-OtBu = Fármaco

i. HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₂₄]



5

Este material se preparó por etapas a partir de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [NH₂]₄ y NHS-COPEG₂₄ por medio del procedimiento para el ejemplo 56.ii para proporcionar EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [COPEG₂₄]; el grupo Boc se retiró por medio del procedimiento para el ejemplo 56.iii para proporcionar EtO-Su(NPN)₂ [NH₂.TFA] [COPEG₂₄]; el MTX-α-OtBu se añadió por medio del procedimiento para 56.iv para proporcionar EtO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₂₄] y el éster se hidrolizó por medio del procedimiento para 56.v para proporcionar HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₂₄].

LCMS (LC: filo, TFA, TR = 7,3 min; MS (M_{calc} C₈₄H₁₄₇N₁₁O₃₂ = 1823,10): 921(1/2[M + NH₄+H]⁺, 9%), 912(1/2[M + 2H]⁺, 12%), 608(1/3[M + 3H]⁺, 100%), 461(1/4[M + NH₄+3H]⁺, 35%).

15

ii. BHALys [Lys]₄ [Su(NPN)₂]₈ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₈ [COPEG₂₄]₈

La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₂₄] con BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₄ [Su(NPN)₂]₈ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₈ [COPEG₂₄]₈ 25 mg (62%, 0,96 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 90 min, TR 66 min).

LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,2 min; MS: 1726(1/9[M + 9H]⁺, 25%), 1553(1/10[M + 10H]⁺, 63%), 1412(1/11[M + 11H]⁺, 77%), 1294(1/12[M + 12H]⁺, 100%), 1195(1/13[M + 13H]⁺, 83%) Transforma a 15.521,12. (M_{calc} C₇₂₇H₁₂₅₇N₁₀₃O₂₅₅ = 15.521,15).

25 Ejemplo 61

BHALys [Lys]₈ [Su(NPN)₂]₁₆ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₁₆ [COPEG₂₄]₁₆

Topología superficial		Estequiometría superficial	
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴ ((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ¹⁶		16	COPEG ₂₄ = PEG
(((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ⁸ (((Fármaco PEG)(Fármaco PEG)) ⁴) ¹⁶		16	γ-CO-MTX-α-OtBu = Fármaco

30 La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ-CO-MTX-α-OtBu] [COPEG₂₄] con BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₈ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₈ [Su(NPN)₂]₁₆ [γ-CO-MTX-α-OtBu]₁₆ [COPEG₂₄]₁₆: 39 mg (66%, 0,93 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 90 min, TR 70 min). LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,4 min; MS: Deconvolucionados con Ent Máx a 31.033 (M_{calc} C₁₄₄₇H₂₅₁₃N₂₀₇O₅₁₁ = 30.987,22).

35 Ejemplo 62

BHALys [LYS]₁₆ [Su(NPN)₂]₃₂ [γ-CO-MTX-α-OtBU]₃₂ [COPEG₂₄]₃₂

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((((\text{Fármaco PEG})(\text{Fármaco PEG}))^4((\text{Fármaco PEG})(\text{Fármaco PEG}))^4)^8)^8)^{16}$	32	COPEG ₂₄ = PEG
	32	γ -CO-MTX- α -OtBu = Fármaco

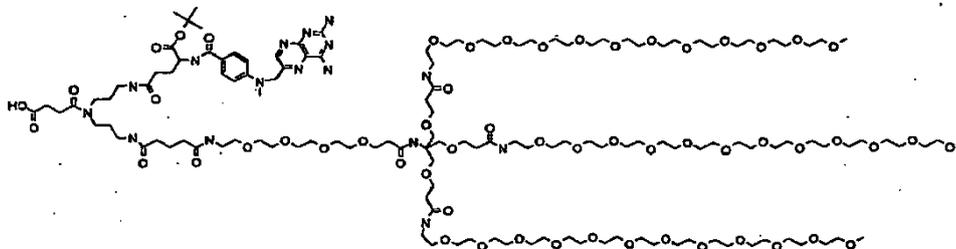
La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu] [COPEG₂₄] con BHALys [Lys]₁₆ [NH₂.TFA]₈ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₁₆ [Su(NPN)₂]₃₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu]₃₂ [COPEG₂₄]₃₂: 38 mg (49%, 0,95 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 90 min, TR 70 min). LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,5 min; MS: (M_{calc} C₂₈₈₇H₅₀₂₅N₄₁₅O₁₀₂₃ = 61. 919,36)

Ejemplo 63

10 **BHALys [Lys]₁₆ [Su(NPN)₂]₃₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu]₃₂ [COPEG₂₄]₃₂**

Topología superficial	Estequiometría superficial	
$(((((\text{Fármaco PEG})(\text{Fármaco PEG}))^4((\text{Fármaco PEG})(\text{Fármaco PEG}))^4)^8)^8)^{16}$	16	COPEG ₂₄ = PEG
	16	γ -CO-MTX- α -OtBu = Fármaco

i. HO-Su(NPN)₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu] [COPEG₂₃₀₀]



15

Este material se preparó por etapas a partir de EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [NH₂] y NHS-COPEG₂₃₀₀ por medio del procedimiento para el ejemplo 56.ii para proporcionar EtO-Su(NPN)₂ [Boc] [COPEG₂₃₀₀]; el grupo Boc se retiró por medio del procedimiento para el ejemplo 56.iii para proporcionar EtO-Su(NPN)₂ [NH₂.TFA] [COPEG₂₃₀₀]; el MTX- α -OtBu se añadió por medio del procedimiento para 56.iv para proporcionar EtO-Su(NPN)₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu] [COPEG₂₃₀₀] y el éster se hidrolizó por medio del procedimiento para 56.v para proporcionar HO-Su(NPN)₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu] [COPEG₂₃₀₀].

LCMS (LC: filo, TFA, TR = 7,8 min; MS (M_{calc} C₁₃₈H₂₅₀N₁₆O₅₆ = 3029,6): 758(1/4[M + 4H⁺], 100%), 607(1/5[M + 5H⁺], 67%), 506(1/6[M + 6H⁺], 22%), Transforma a 3.029,2. (M_{calc} C₁₃₈H₂₅₀N₁₆O₅₆ = 3029,6). ¹H (CDCl₃): δ 8,4,9 (s, 1 H), 7,71 (m, 1H), 7,20-7,52 (m, 2H), 6,64-7,14 (m, 8H), 6,20 (m, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,42-4,58 (m, 1H), 3,51-3,78 (m, 170H), 3,38-3,46 (m, 10H), 3,14-3,28 (m, 6H), 2,65-3,12 (m, 10H), 2,50-2,60 (m, 4H), 2,31-2,49 (m, 10H), 2,14-2,28 (m, 4H), 2,02-2,13 (m, 2H), 1,85-1,97 (m, 2H), 1,67-1,83. (m, 2H) 1,50-1,63 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,36-1,44 (m, 2H).

25 **ii. BHALys [Lys]₈ [Su(NPN)₂]₁₆ [γ -CO-MTX- α -OtBu]₁₆ [COPEG₂₃₀₀]₁₆**

30

La reacción de HO-Su(NPN)₂ [γ -CO-MTX- α -OtBu] [COPEG₂₃₀₀] con BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₁₆ se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 56.vi para proporcionar BHALys [Lys]₈ [Su(NPN)₂]₁₆ [γ -CO-MTX- α -OtBu]₁₆ [COPEG₂₃₀₀]₁₆: 7 mg (23%, 0,57 mCi/g) PREP HPLC (5-60% ACN, 80 min, TR 62 min). LCMS (LC: filo/TFA TR = 9,8

min; MS: (M_{calc} C₂₃₁₁H₄₁₆₁N₂₈₇O₈₉₅ = 50.291,22).

Ejemplo 64

5 Estudios de aclaramiento en plasma para macromoléculas radioetiquetadas

Se disolvieron macromoléculas de poli-lisina tritadas en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4) y se congelaron hasta que fueron necesarias. A ratas se les administraron por vía intravenosa 5 mg/kg de macromolécula mediante una cánula permanente (implantada en la vena yugular) durante 2 min.

10

Inmediatamente después de la administración de la dosis, se recogió una muestra de sangre (t=0) mediante una cánula permanente en la arteria carótida y se colocó en un tubo eppendorf heparinizado.

15

A continuación se recogieron muestras de sangre a intervalos predeterminados durante las siguientes 30 h, y el plasma se separó. Además, se recogieron muestras de orina a 0-8 h, 8-24 h y 24-30 h. En el momento del sacrificio (30 h después de la dosis intravenosa) los órganos principales (hígado, riñones, bazo, páncreas, corazón, pulmón y cerebro) se recogieron y se pesaron. El contenido de tritio del plasma, la orina, las heces y las diversas muestras de tejido se determinaron usando ensayos de centelleo validados.

20 Los datos del ejemplo 64 se tabulan en la tabla 25, y se muestran en las figuras 15A y 15B.

Tabla 25: Parámetros farmacocinéticos para macromoléculas radioetiquetadas

Macromolécula	Ejemplo	PM (kDa)	plasma T _{1/2} (h)	% de dosis de ³ H excretado en orina total
(PEG ₂₀₀) ₁₆	51	6	0,25 ± 0,04	82,2 ± 6,4
(PEG ₂₀₀) ₃₂	52	11,1	0,72 ± 0,03	80,4 ± 13,6
(PEG ₁₂) ₃₂	53	22,4	9,45 ± 0,42	42,9 ± 2,7
(PEG _{2kD}) ₁₆	54	34,1	23,90 ± 2,56	26,0 ± 4,6
(PEG _{2kD}) ₃₂	55	67	75,35 ± 9,3	3,1 ± 1,9
(PEG ₁₂) ₄ (MTX) ₄	56		-	-
(PEG ₁₂) ₈ (MTX) ₈	57	11,3	4,0 ± 1,8 ^a	56,1 ± 8,7
(PEG ₁₂) ₁₆ (MTX) ₁₆	58	22,5	9,0 ± 0,2 ^a	29,0 ± 3,4
(PEG ₁₂) ₃₂ (MTX) ₃₂	59	45,0	23,7 ± 5,0	2,4 ± 0,5
(PEG ₂₄) ₈ (MTX) ₈	60	15,5	3,9 ± 0,1 ^a	64,2 ± 4,6
(PEG ₂₄) ₁₆ (MTX) ₁₆	61	31,0	21,0 ± 1,7	-
(PEG ₂₄) ₃₂ (MTX) ₃₂	62	61,9	51,4 ± 2,7	1,2 ± 0,1
(PEG ₂₃₀₀) ₁₆ (MTX) ₁₆	63	50,3	34,1 ± 1,1	8,7 ± 1,6

Modelización molecular

25

Ejemplo 65

Simulación de una macromolécula de BHALys-polilisina de 4^a generación

30 Se emprendió la simulación de 5 tipos de una macromolécula central de (L)-lisina sustituida por BHA que consistía en 4 capas de unidades estructurales de lisina.

Los conjuntos asimétricos contenían los siguientes isómeros topológicos:

Macromolécula	Descripción topológica
Tipo 1: Agrupamiento en 16-tetos	(((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸
Tipo 2: Agrupamiento en octetos	(((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ⁴) ⁸ (((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸
Tipo 3: Agrupamiento en cuartetos	(((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(BB)) ⁴) ⁸
Tipo 4: Agrupamiento en pares	(((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸ (((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(BB)) ⁴) ⁸
Tipo 5: Sin agrupamiento	(((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ⁴) ⁸ (((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ⁴) ⁸

La estructura inicial se construyó usando un programa informático que usa búsqueda estocástica para construir una estructura extendida y minimiza el número de contactos directos. Esta estructura se colocó a continuación en una caja con agua y se equilibró de acuerdo con el protocolo mostrado en la figura 20. La composición de todo el sistema se muestra en la tabla 26.

Tabla 26. Composición de la macromolécula de polilisina usada en la simulación.

Componente	Número de moléculas	Número de átomos por molécula	Número total de átomos
Dendrímero	1	710	710
Agua	8254	3	24762
Na ⁺	126	1	126
Cl ⁻	158	1	158
		Total	25756

La macromolécula equilibrada obtenida de este modo se simuló durante 12 ns adicionales. Durante esta simulación, la temperatura se mantuvo a 300 K usando acoplamiento de temperatura de Langevin, mientras que la presión se mantuvo a 1 atm usando acoplamiento de presión de Nose-Hoover.

Las simulaciones se llevaron a cabo usando el campo de fuerza OPLS-AA (Jorgensen, W.L y col. (1996). J. Am. Chem. Soc 118, 11225-11236) y el software de dinámica molecular NAMD. (Kalé, L. et al (1999) J. Comp. Phys. 151,283-312). Cuando fue necesario, se obtuvieron parámetros torsionales adicionales adoptando parámetros torsionales relacionados ya presentes en el campo de fuerza. Las moléculas de agua fueron tratadas explícitamente usando el modelo en agua de TIP3P, una implementación del cual estaba presente en el campo de fuerza OPLS-AA. (Jorgensen, W.L et al. (1983).J. Chem. Phys. 79, 926-935).

Las trayectorias de simulación resultantes fueron inspeccionadas visualmente usando el software de visualización de trayectoria, VMD, y el programa Sybyl. Además, se calcularon dos tipos de distancias La primera es la distribución de distancia (1), el conjunto de todas las distancias A-B. La segunda distancia es la separación entre los centros de masas de los dos conjuntos de átomos (2); esta distancia actúa como una medida cuantitativa de polarización, y se calcula de manera similar a los momentos dipolares eléctricos y magnéticos.

25

$$s = \sqrt{(x_B - x_A)^2 + (y_B - y_A)^2 + (z_B - z_A)^2}$$

$$\bar{n}_B(k \leq s \leq l) = \frac{\int_k^l F(s) ds}{N_f} \quad (1)$$

$$P_B(k \leq s \leq l) = \frac{\bar{n}_B(k \leq s \leq l)}{N_A}$$

$$S = \sqrt{\left(\frac{1}{N_B} \sum_{j=1}^{N_B} x_B - \frac{1}{N_A} \sum_{i=1}^{N_A} x_A\right)^2 + \left(\frac{1}{N_B} \sum_{j=1}^{N_B} y_B - \frac{1}{N_A} \sum_{i=1}^{N_A} y_A\right)^2 + \left(\frac{1}{N_B} \sum_{j=1}^{N_B} z_B - \frac{1}{N_A} \sum_{i=1}^{N_A} z_A\right)^2} \quad (2)$$

donde (x_A, y_A, z_A) y (x_B, y_B, z_B) son las coordenadas Cartesianas de cualquier átomo en un conjunto de átomos A y en otro conjunto de átomos B respectivamente; N_A y N_B son los números totales de átomos en los conjuntos A y B; N_f es el número total de entramados considerados; s es la distancia entre un átomo en el conjunto A y un átomo en el conjunto B; S es la distancia, en un único entramado, entre el centro de masa del conjunto A y el centro de masa del conjunto B; F(s) es el número total de veces (entre todos los N_f entramados) que cualquier átomo en el conjunto B está separado de un átomo en el conjunto A por la distancia s; $\bar{n}_B(k \leq s \leq l)$ es el promedio, sobre todos los entramados, del número de átomos del conjunto B que están entre las distancias k e l desde cualquier átomo en el conjunto A; y P_B(k ≤ s ≤ l) es la probabilidad de que cualquier átomo en el conjunto B esté entre las distancias k e l desde un átomo en el conjunto A. En el presente trabajo, se usaron envueltas 1 A, es decir, l=k+1.

El entramado final de la simulación de los dibujos estructurales bidimensionales simplificados en la figura 16 se muestra en la figura 17, donde los restos funcionales A y B se representan como esferas claras y oscuras, respectivamente.

Ejemplos de inflamación

Ejemplo 66

5 **BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-COC2-α-S-GlcNAc]₄[γ-CO₂H]₄****i. BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-Boc]₄ [γ-CO₂Me]₄**

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (400 mg, 0,391 mmol), TEA (0,218 ml, 1,56 mmol) y DMF (10 ml) se le añadió PNPO-Glu-α-Boc-δ-OMe (0,717 g, 1,88 mmol) como un sólido y en una porción a temperatura ambiente. La suspensión de reacción se volvió inmediatamente de color amarillo brillante y, después de agitación durante ca. 2 min, el éster activo se había disuelto completamente. La agitación continuó a temperatura ambiente durante 66 h adicionales. La mezcla de reacción impura se vertió en un gran vaso de precipitados de agua con hielo y se formó un fino precipitado de color amarillo. La suspensión se filtró y los sólidos retenidos de este modo se lavaron con agua y a continuación se secaron al aire en succión. La torta sólida de color blanquecino resultante se resuspendió en ACN y esta suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 5 min y a continuación se filtró. Los sólidos retenidos se secaron al aire una vez más, se pulverizaron de nuevo y se resuspendieron en ACN antes de ser filtrados y secados al aire. El sólido de color blanco resultante se disolvió en metanol y la solución metanólica se concentró al vacío para dar BHALys [Lys]₂[Glu]₄ [α-Boc]₄ [γ-CO₂Me]₄ (301 mg, 50%) como un sólido incoloro.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1540,82 [M+H]⁺, 770,87 [M+2H]²⁺; calculado C₇₅H₁₁₇N₁₁O₂₃ 1540,83; Rf (min) = 5,96 min.

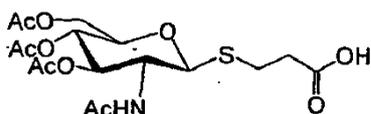
ii. BHALys [Lys]₂[Glu]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [γ-CO₂Me]₄

Se suspendió BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-Boc]₄ [δ-OMe]₄ (236 mg, 0,153 mmol) en DCM (2,15 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Una solución de 1:1 TFA/DCM (1,4 ml) se añadió lentamente, haciendo que la suspensión se hiciera transparente rápidamente. La agitación se continuó durante 17 h. La reacción se interrumpió mediante la retirada de volátiles al vacío, dando un jarabe que se recogió en agua (50 ml) y se liofilizó para dar BHALys [Lys]₂[Glu]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [γ-CO₂Me]₄ como un liofilizado incoloro (261 mg, 107%).

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1140,64 [M+H]⁺, 570,67 [M+2H]²⁺; calculado C₅₅H₈₅N₁₁O₁₅ 1140,4 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1139,50. Rf (min) = 6,27.

iii. (-) 2-Carboxietil 2-desoxi-2-acetamido-3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido.

35



A una solución agitada de clorhidrato de 2-desoxi-2-acetamido-3,4,6-O-triacetil-β-D-glucopiranosil tiouronio (35,7 g, 81 mmol) en acetona (200 ml) y agua (200 ml) se le añadió carbonato potásico (16,7 g, 122 mmol) y metabisulfito sódico (15,4 g, 81 mmol) seguidos por ácido 3-yodopropiónico (16,1 g, 81 mmol). La reacción se dejó agitar durante 2 horas y a continuación se añadió una porción adicional de metabisulfito sódico (3,0 g, 15,7 mmol). Después de 2 horas adicionales, se usó HCl 1 N para acidificar la solución a pH 1 y, a continuación, la mezcla se saturó con NaCl sólido. La mezcla acuosa se extrajo con EtOAc (5 x 200 ml), los extractos orgánicos se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida. El residuo se suspendió en tolueno caliente y a continuación el tolueno se decantó. Después del secado, el producto se disolvió en ACN en ebullición (75 ml) y se dejó cristalizar a -15°C durante 16 horas. El producto cristalino se recogió y se secó a presión reducida para dar 2-desoxi-2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranosido de 2-carboxietilo como un sólido de color blanco (26,8 g). El licor madre se evaporó y el producto residual se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en seco y a continuación se cristalizó a partir de ACN para dar (4,0 g) más.

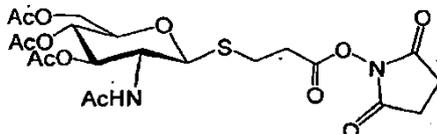
50 [α]_D²² -34,9 (c 1,05, MeOH);

IR (nujol): 3303, 1744, 1701, 1659, 1231, 1035, 721 cm⁻¹;

RMN de ¹H (300 MHz, d₆-DMSO) δ 12,19 (s ancho, 1H), 7,93 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 5,06 (dd, J = 9,7, 9,7 Hz, 1H), 4,83 (dd, J = 9,7, 9,7 Hz, 1H), 4,72 (d, J = 10,3 Hz, 1 H), 4,13 (dd, J = 12,2, 5,2 Hz, 1H), 4,03 (dd, J = 12,2, 2,1 Hz, 1 H), 3,89-3,78 (m, 2H), 2,90-2,66 (m, 2H), 2,56 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,91 (s, 3H), 1,76 (s, 3H);

55 RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) 172,9, 169,9, 169,5, 169,1, 169,0, 83,7, 74,4, 73,5, 68,5, 61,9, 51,9, 35,0, 24,9, 22,5, 20,3, 20,3, 20,2;

HRMS calcd para (M+NH₄⁺, ESI) C₁₇H₂₉O₁₀N₂S: 453,1537; encontrado: 453,1528.

iv. NHS-COC2-(perAc)- α -S-GlcNAc

5

A una solución agitada de 2-desoxi-2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-1-tio- β -D-glucopiranosido de 2-carboxietilo (5,0 g, 11,4 mmol) en EtOAc (25 ml) y ACN (25 ml) se le añadió N-hidroxisuccinimida (1,98 g, 17,2 mmol) y a continuación dicitohexilcarbodiimida (2,83 g, 13,7 mmol). La reacción se dejó agitar durante 3 horas y a continuación la urea precipitada se retiró por filtración. La urea se lavó bien con EtOAc, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para dar NHS-COC2-(perAc)- α -S-GlcNAc como un sólido cristalino incoloro (4,82 g, 79%).

10

RMN de ^1H (300 MHz, CHCl_3) 8,6,04 (d ancho, $J = 9,5$ Hz, 1H). 5,15 (dd, $J = 9,5, 9,5$ Hz, 1H). 5,07 (dd, $J = 9,5, 9,5$ Hz, 1H), 4,73 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H), 4,24-4,05 (m, 3H), 3,70 (ddd, $J = 9,5, 4,8, 2,5$ Hz, 1 H), 3,20-2,82 (m, 4H), 2,87 (s, 4H), 2,07 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,94 (s, 3H);

15

HRMS calcd para $(\text{M}+\text{NH}_4^+)$, ESI $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_{12}\text{S}$: 550,1701; encontrado: 550,1684; $(\text{M}+\text{H}^+)$ $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{S}$: 533,1454; encontrado: 533,1494;

v. BHALys [Lvs] $_2$ [Glu] $_4$ [α -COC2- α -S-GlcNAc] $_4$ [γ -CO $_2$ H] $_4$

Topología superficial	Estequiometría superficial
$((\text{Sacc CO}_2\text{H})(\text{Sacc CO}_2\text{H}))^4 ((\text{Sacc CO}_2\text{H})(\text{Sacc CO}_2\text{H}))^4$ ^a	4 COC2- α -S-GlcNAc = Sacc
	4 CO $_2$ H

20

A una solución agitada de BHALys [Lys] $_2$ [Glu] $_4$ [α -NH $_2$.TFA] $_4$ [γ -CO $_2$ Me] $_4$ (107 mg, 0,067 mmol) disuelto en DMF (5 ml) se le añadió NHS-COC2-(perAc)- α -S-GlcNAc (214 mg, 0,40 mmol) seguido por DIPEA (69 mg, 0,53 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 2 horas y a continuación se diluyó con agua (10 ml) y el sólido precipitado se recogió al vacío. El precipitado se lavó con agua y a continuación se suspendió en CHCl_3 caliente. Después de enfriar, el sólido se recogió y a continuación se suspendió en metanol (5 ml) y CH_2Cl_2 (5 ml) y se añadió NaOMe al 30% (5 gotas). La mezcla se sonicó durante 5 minutos y a continuación se agitó durante 15 minutos. La mezcla no parecía disolverse, así que la mezcla se concentró al vacío y se diluyó con agua (5 ml) y se añadió carbonato potásico (185 mg). La mezcla se agitó durante una noche y a continuación se añadió NaOH 2 N (100 μ l) dado que no todo el intermedio se había disuelto. La mezcla se dejó durante 4 horas adicionales, a continuación se acidificó a pH 1 con TFA. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el producto se purificó mediante RP-HPLC (Phenomenex Synergi, 95:5 a 50:50 ácido fórmico al 0,1%:MeOH durante 60 minutos a 20 ml/min). Las fracciones más limpias que contenían producto se combinaron y se concentraron a presión reducida y el residuo se disolvió en agua y se liofilizó para dar BHALys [Lys] $_2$ [Glu] $_4$ [α -COC2- α -S-GlcNAc] $_4$ [γ -CO $_2$ H] $_4$ como un sólido incoloro (33 mg, 39%); tiempo de ret. de HPLC 14,0 min, 90% de pureza (Waters Symmetry, 70:30 a 30:70 TFA al 0,1% en

35

agua:MeOH durante 30 minutos);
RMN de ^1H (300 MHz, D_2O) δ 7,44-7,23 (m, 10H), 6,09 (s, 1H), 4,40-4,06 (m, 7H), 3,99-3,33 (m, 24H), 0,32-3,00 (m, 6H), 3,04-2,87 (m, 8H), 2,70-2,56 (m, 8H), 2,14-1,60 (m, 14H), 2,00 (s ancho, 12H), 1,59-1,20 (m, 12H);
MS calcd para (M-H, Q-TOF) $\text{C}_{95}\text{H}_{144}\text{N}_{15}\text{O}_{39}\text{S}_4$: 2246,86; encontrado: 2246,81.

40 Ejemplo 67**BHALys [Lvs] $_4$ [Glu] $_8$ [α -COC2- α -S-GlcNAc] $_8$ [δ -CO $_2$ H] $_8$** **i. BHALys [Lys] $_4$ [Glu] $_8$ [α -Boc] $_8$ [γ -CO $_2$ Me] $_8$**

45

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys] $_4$ [NH $_2$.TFA] $_8$ (400 mg, 0,201 mmol), TEA (0,560 ml, 4,01 mmol) y DMF (10 ml) se le añadió PNPO-Glu- α -Boc- γ -OMe (737 mg, 1,93 mmol) como un sólido y en una porción a temperatura ambiente. La suspensión de reacción se volvió inmediatamente de color amarillo brillante y, después de agitación durante ca. 3 min, el éster activo se había disuelto completamente. La agitación continuó a temperatura ambiente durante 17 h adicionales. La mezcla de reacción impura se vertió en un vaso de precipitados de agua con hielo y se formó un fino precipitado de color amarillo. La suspensión se agitó hasta que el hielo se fundió y a continuación se filtró y los sólidos retenidos de este modo se lavaron con agua (3 x 30 ml), ACN (2 x 25 ml) y a continuación metanol (3 x 30 ml). Los sólidos resultantes se secaron al aire en succión, dando BHALys [Lys] $_4$ [Glu] $_8$

50

[α -Boc]₈ [γ -CO₂Me]₈ (460 mg, 76%) como un sólido de color blanco.

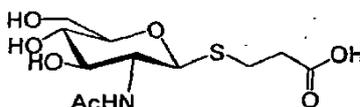
LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1514,43 [M+2H]/2+, 1009,61 [M+3H]/3+; calculado C₁₄₃H₂₃₃N₂₃O₃₁ 3026,58. Los datos de deconvolucionaron usando cálculo de transformada para dar pm = 3025,83. Rf (min) = 6,66 min.

5 ii. BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -NH₂.TFA]₈ [γ CO₂Me]₈

Se suspendió BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -Boc]₈ [γ -CO₂Me]₈ (460 mg, 0,152 mmol) en DCM (2,8 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Una solución de 1:1 TFA/DCM (2,8 ml) se añadió lentamente, haciendo que la suspensión se hiciera transparente rápidamente. La agitación se continuó durante 3 h. La reacción se interrumpió mediante retirada de volátiles al vacío, dando un jarabe que se trituró con Éter (50 ml). La suspensión de color blanco turbio resultante se filtró y el sedimento obtenido de este modo se lavó con Éter (2 x 50 ml) y se secó al aire para dar BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -NH₂.TFA]₈ [γ -CO₂Me]₈ como un sólido de color blanco (423 mg, 89%).
LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/7 = 1113,59 [M+2H]/2+, 742,77 [M+3H]/3+; calculado C₁₀₃H₁₆₉N₂₃O₃₁ 2225,63 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm 2224,37. Rf (min) = 5,94.

15

iii. HO-COC2- α -S-GlcNAc



20 Una solución de 2-desoxi-2-acetamido-3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- α -D-glucopiranosido de (-) 2-carboxietilo (1,30 g, 2,98 mmol) se disolvió en una solución de amoníaco metanólico 7 N (20 ml) y la solución resultante se agitó durante 16 horas. El precipitado blanco formado se recogió mediante filtración al vacío y se lavó con 1:1 metanol/CH₂Cl₂ (20 ml). El precipitado se disolvió en agua (50 ml) y se añadió resina de intercambio iónico fuertemente ácida Amberjet 1200H (10 g). La suspensión se agitó durante 15 minutos y a continuación la resina se filtró y se lavó bien con agua.

25 Los lavados acuosos se concentraron a presión reducida para dar HO-COC2- α -S-GlcNAc como una goma incolora que cristalizó tras reposar (800 mg, 87%);
[α]_D²² -41,4 (c 1,5, H₂O);

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O δ 4,61 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,88 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 3,75-3,66 (m, 2H), 3,56-3,40 (m, 3H), 3,01-2,83 (m, 2H), 2,72 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,99 (s, 3H);

30 HRMS calcd para (M-H⁺, ESI) C₁₁H₁₈NO₇S: 308,0809; encontrado: 308,0809; Anal calcd para C₁₁H₁₉NO₇S: C, 42,71; H, 6,19; N, 4,53; encontrado: C, 42,40; H, 6,31; N, 4,81.

iv. BHALys [Lys]₄ [Glu]₈-[α -COC2- α -S-GlcNAc]₈ [γ -CO₂H]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴) ⁸ (((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴) ⁸ ¹⁶	8	COC2- α -S-GlcNAc= Sacc
	8	CO ₂ H

35

A una solución agitada de BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -NH₂.TFA]₈ [γ -CO₂H]₈ (82 mg, ,036 mmol) y HO-COC2- α -S-GlcNAc (137 mg, 0,44 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió DIPEA (190 mg, 1,47 mmol) seguido por PyBOP (307 mg, 0,59 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas y a continuación se diluyó con ACN y el sólido precipitado se recogió mediante filtración al vacío. El precipitado se disolvió en agua (10 ml) y se basificó con NaOH

40 1 N (4 ml) y se dejó agitar durante varias horas. La mezcla se acidificó a continuación con resina Amberjet 1200 H, la resina se retiró por filtración y el producto se liofilizó. El residuo se purificó mediante RP-HPLC para dar 2 fracciones, una que contenía BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -COC2- α -S-GlcNAc]₈ [γ -CO₂H]₈ puro (19 mg) y una que era solamente un 70% puro (29 mg); tiempo de ret de HPLC 12,0 min, pureza > 99% (220 nm, Waters Symmetry, 70:30 a 30:70 TFA al 0,1% en agua:MeOH durante 30 minutos);

45 RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 7,43-7,21 (m, 10H), 6,08 (s, 1H), 4,36-4,05 (m, 15H), 4,00-3,84 (m, 8H), 3,80-3,31 (m, 40H), 3,27-2,81 (m, 30H), 2,63 (s ancho, 16H), 2,49-2,35. (m, 16H), 2,16-1,15 (m, 58H), 1,99 (s ancho, 12H), 1,98 (s ancho, 12H);

MS calcd para (M-3H, Q-TOF) C₁₈₃H₂₈₈N₃₁O₇₉S₈: m/z 1479,235; encontrado: 1479,219.

50 Ejemplo 68

BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α -COC2CO-2-N- α -OMe-Glc]₄ [γ -CO₂H]₄

i. BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-Boc]₄ [γ-CO₂Fm]₄

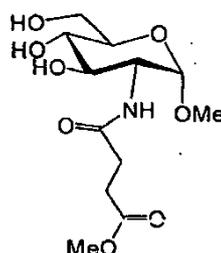
A una solución agitada magnéticamente de HO-Glu-α-Boc-δ-OFm (831 mg, 1,95 mmol), DCC (338 mg, 1,64 mmol), HOBT (222 mg, 1,64 mmol) y DMF (7 ml), se le añadió una solución de BHALys [Lys]₂ [NH₂.TFA]₄ (400 mg, 0,391 mmol), DIPEA (0,278 ml, 1,56 mmol) en DMF (3 ml) a 0°C. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La mezcla de reacción impura se filtró, con el sedimento sólido siendo aclarado con DMF (10 ml). Los filtrados combinados se concentraron al vacío para dar un jarabe blanquecino que se trituroó con Éter (100 ml) para dar una suspensión de color blanco turbio. La suspensión se filtró y se secó al aire, dando BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-Boc]₄ [γ-CO₂Fm]₄ (1,02 g, 119%) como un sólido de color blanco. El exceso de masa se debe a disolvente residual.

LC/MS (Fobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1099,67 [M+2H]²⁺; calculado C₁₂₇H₁₄₉N₁₁O₂₃ 2197,66. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 2,197,25. R_f (min) = 9,07 min.

15 ii. BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [γ-CO₂Fm]₄

Se suspendió BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-Boc]₄ [γ-CO₂Fm]₄ (1,02 g, es decir 858 mg, 0,390 mmol) en DCM (3,6 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Una solución de 1:1 TFA/DCM (3,6 ml) se añadió lentamente, haciendo que la suspensión se hiciera transparente rápidamente. La agitación se continuó durante 3 h. La reacción se interrumpió mediante retirada de volátiles al vacío, dando un jarabe que se trituroó con Éter (50 ml), dando una suspensión de color blanco. Los sólidos se recogieron de la suspensión mediante filtración se lavaron con Éter (2 x 50 ml) y a continuación se secaron al aire y se liofilizaron para dar BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α-NH₂.TFA]₄ [γ-CO₂Fm]₄ como un sólido de color blanco (829 mg, 94%).

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1979,78 [M+H]⁺, 899,34 [M+2H]²⁺; calculado C₁₀₇H₁₁₇N₁₁O₁ 1797,19 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1796,93. R_f (min) = 10,90.

iii. 2-Desoxi-2-[3-(metoxicarbonil)propanamido]-α-D-glucopiranosido de metilo

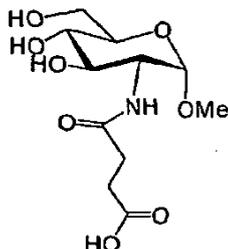
A una solución agitada de clorhidrato de glucosamina (20,0 g, 92 mmol) en acetona (40 ml) y agua (100 ml) se le añadió bicarbonato sódico (31 g, 370 mmol) seguido de anhídrido succínico (13,8 g, 138 mmol). La mezcla se agitó durante 2 horas y a continuación la mezcla se acidificó a pH 1 con Amberjet 1200 H. La resina se retiró por filtración y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se suspendió en acetona caliente y se recogió por filtración, a continuación se recogió en metanol (200 ml) y se añadió amberjet 1200 H (30 g) a la mezcla, que se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla se filtró, a continuación se concentró a presión reducida para dar una goma incolora que se absorbió sobre gel de sílice y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en seco para dar un sólido incoloro (8,2 g). El producto se aisló limpio por cristalización a partir de EtOAc para dar 2-desoxi-2-[3-(metoxicarbonil)propanamido]-α-D-glucopiranosido de metilo como un sólido incoloro (3,5 g, 12%);

[α]_D²² +89 (c 1,0, H₂O); R_f 0,43 (90:10 CHCl₃:MeOH);

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 4,72 (d, J = 3,6 Hz, 1 H), 3,89 (dd, J = 10,6, 3,4 Hz, 1 H), 3,85 (dd, J = 12,5, 2,2 Hz, 1H), 3,79-3,60 (m, 3H), 3,67 (s, 3H), 3,44 (dd, J = 9,3, 9,3 Hz, 1 H), 3,36 (s, 3H), 2,69-2,56 (m, 4H);

HRMS calcd para (M+H)⁺, ESI) C₁₂H₂₁NO₈: 308,1339; encontrado: 308,1326.

45 iv. HO-COC₂CO-2-N-α-OMe-Glc



A una solución agitada de 2-desoxi-2-[3-(metoxicarbonil)propanamido]- α -D-glucopiranosido de metilo (3,54 g, 11,5 mmol) disuelto en agua (10 ml) se le añadió solución de hidróxido sódico 2N (10 ml). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas y a continuación se acidificó con resina Amberjet 1200 H. La resina se retiró por filtración a través de un embudo de vidrio sinterizado. El disolvente se retiró a continuación a presión reducida dejando HO-COC₂CO-2-N- α -OMe-Glc como un sólido cristalino de color blanco (3,37 g, 94%);
 $[\alpha]_D^{22} + 107,2$ (c 1,0, H₂O);
 RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ 4,71 (d, *J* = 3,6 Hz, 1 H), 3,89 (dd, *J* = 10,6, 3,6 Hz, 1H), 3,85 (dd, *J* = 12,4, 2,3 Hz, 1H), 3,78-3,60 (m, 3H), 3,44 (dd, *J* = 9,5, 9,5 Hz, 1H), 3,35 (s, 3H), 2,60-2,48 (m, 4H);
 HRMS calcd para (M-H⁺, ESI) C₁₁H₁₉NO₈Na₁: 316,1006; encontrado: 316,1008;

v. BHALys [Lys]₂[Glu]₄ [α -COC₂CO-2-N- α -OMe-Glc]₄ [γ -CO₂H]₄

Topología superficial	Estequiometría superficial
(((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴) ₈ (COC ₂ CO-2-N- α -OMe-Glc= Sacc CO ₂ H) ⁴	4
	4

15

A una solución agitada de BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α -NH₂.TFA]₄ [γ -CO₂Fm]₄ (100 mg, 0,044 mmol) disuelto en DMF (5 ml) se le añadió HO-COC₂CO-2-N- α -OMe-Glc (78 mg, 0,26 mmol) y DIPEA (68 mg, 0,53 mmol) seguido por PyBOP (138 mg, 0,26 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas y a continuación se añadió piperidina (0,50 ml) y la reacción se dejó durante 1 hora adicional. La mezcla se diluyó con cloroformo y el sólido precipitado se recogió. El sólido se suspendió en agua (10 ml) y se añadió carbonato potásico (200 mg). Se formó una suspensión coloidal y, por tanto, se añadió NaOH 1 N (4 ml). La reacción se agitó durante 2 horas y a continuación se almacenó a 4°C durante 16 horas antes de acidificarla con Amberjet 1200 H. La mezcla de reacción se filtró, los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se fraccionó mediante RP-HPLC (Phenomenex Synergi, 1200 H, 70:30 a 30:70 TFA al 0,1% en agua:MeOH durante 55 minutos) para dar BHALys [Lys]₂ [Glu]₄ [α -COC₂CO-2-N- α -OMe-Glc]₄ [γ -CO₂H]₄ como un sólido incoloro (32 mg, 33%); tiempo de ret de HPLC 15,3 min, pureza >99% (220 nm, Waters symmetry, 70:30 a 30:70 TFA al 0,1% en agua:MeOH durante 37 minutos);
 RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) 7,43-7,24 (m, 10H), 6,07 (s, 1H), 4,37-4,08 (m, 7H), 3,92-3,80 (m, 8H), 3,77-3,60 (m, 12H), 3,48-3,38 (m, 4H), 3,34 (m, 12H), 3,18-3,00 (m, 6H), 2,62-2,48 (m, 16H), 2,46-2,34 (m, 8H), 2,11-1,59 (m, 14H), 1,57-1,13 (m, 12H);
 HRMS calcd para (M-2H, Q-TOF) C₉₅H₁₄₃N₁₅O₄₃: *m/z* 1090,9737; encontrado: 1090,9701.

Ejemplo 69

BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -COC₂CO-2-N- α -OMe-Glc]₈ [γ -CO₂H]₈

35

Topología superficial	Estequiometría superficial
(((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴) ₈ (COC ₂ CO-2-N- α -OMe-Glc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴) ₈ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴ (Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴) ₈	8
	8

A una solución agitada de BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α -NH₂.TFA]₈ [γ -CO₂Me]₈ (100 mg, 0,036 mmol) disuelto en DMF (3 ml) se le añadió HO-COC₂CO-2-N- α -OMe-Glc (150 mg, 0,51 mmol) seguido por DIPEA (99 mg, 0,76 mmol) y a continuación PyBOP (265 mg, 0,52 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante una noche y a continuación se diluyó con DCM (15 ml) y el sólido precipitado se recogió al vacío. El producto se recogió en agua (10 ml) y se añadió carbonato potásico (300 mg). La mezcla se agitó durante una noche y a continuación se añadió NaOH 2 N (4 ml, 4:0 mmol) para hacer que se completara la reacción. La mezcla se diluyó a (40 ml), se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,45 mm y a continuación se ultrafiltró a través de un cartucho de filtración de flujo tangencial (límite de

pm 650 da) manteniendo el volumen constante a 40 ml, hasta que la solución estaba a pH 9 (200 ml de filtrado). El retentado se liofilizó y a continuación se purificó mediante RP-HPLC (Phenomenex Synergi, 1200 H, 70:30 a 30:70 TFA al 0,1% en agua:MeOH durante 55 minutos). Las fracciones que contenían producto puro se combinaron y se concentraron a presión reducida y a continuación el residuo se recogió en agua y se liofilizó dando BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-COC2CO-2-N-α-OMe-Glc]₈ [γ-CO₂H]₈ como un sólido incoloro (12 mg, 9%);
 5 RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) 7,42-7,23 (m, 10H), 6,07 (s, 1H), 4,39-4,11 (m, 15H), 3,96-3,79 (m, 16H), 3,78-3,57 (m, 24H), 3,48-3,38 (m, 8H), 3,34 (s, 24H), 3,21-3,00 (m, 14H), 2,56 (s ancho, 32H), 2,37 (s ancho, 16H), 2,13-1,82 (m, 16H), 1,69 (s ancho, 14H), 1,54-1,18 (m, 28H);
 MS calcd para (M-2H, Q-TOF) C₁₈₃H₂₈₇N₃₁O₈₇: m/z 2155,449; encontrado 2155,737.

10

Ejemplo 70**BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-COC5-α-S-GlcNAc]₈ [γ-CO₂Na]₈****15 i. BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-Boc]₈ [γ-CO₂Bn]₈**

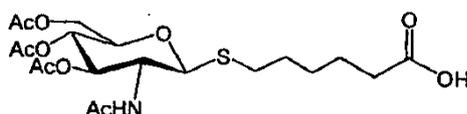
A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₄ [NH₂.TFA]₈ (400 mg, 0,201 mmol), TEA (0,560 ml, 4,01 mmol) y DMF (10 ml) se le añadió PNPO-Glu-α-Boc-δ-OBn (936 mg, 1,93 mmol) como un sólido y en una porción a temperatura ambiente. La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento
 20 del ejemplo 1.i para dar BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-Boc]₈ [γ-CO₂Bn]₈ (648 mg, 89%) como un sólido de color blanco.

ii. BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [γ-CO₂Bn]₈

Se suspendió BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-Boc]₈ [γ-CO₂Bn]₈ (648 mg, 0,178 mmol) en DCM (3,3 ml) y se agitó a
 25 temperatura ambiente. Una solución de 1:1 TFA/DCM (3,3 ml) se añadió lentamente, haciendo que la suspensión se hiciera transparente rápidamente. La agitación se continuó durante 4 h. La reacción se interrumpió mediante la retirada de volátiles al vacío, dando un jarabe que se recogió en 1:1 metanol/agua, se concentró al vacío, a continuación se recogió el agua, se liofilizó, se resuspendió en metanol y se concentró para dar BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [γ-CO₂Bn]₈ como una espuma incolora (677 mg, 101%).
 30 LC/MS: ESI (+ve) m/z = 1418,35 [M+2H]/2+, 945,64 [M+3H]/3+, 709,64 [M+4H]/4+; calculado C₁₅₁H₂₀₁N₂₃O₃₁ 2834,42 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 2834,00. Rf (min) = 8,53.

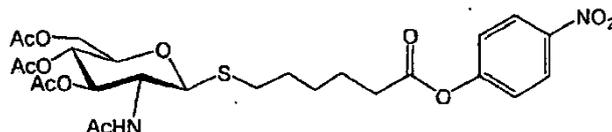
iii. 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-β-D-glucopiranosido de 5-carboxipentilo

35



A una solución agitada de cloruro de S-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-β-D-glucopiranosil)tiouronio (6,5 g, 16,03 mmol) disuelto en acetona (25 ml) y agua (25 ml) se le añadió carbonato potásico (5,54 g, 40,1 mmol) y
 40 metabisulfito sódico (3,09 g, 24,05 mmol) seguidos por ácido 6-bromohexanoico (3,75 g, 19,24 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 2 h a continuación se añadió acetona (25 ml) y la mezcla se filtró. El residuo se concentró a presión reducida y a continuación se acidificó con HCl 1 N. El producto se cristalizó a partir de solución y se recogió. Producto adicional se aisló extrayendo el licor madre con EtOAc (2 x 25 ml). El producto combinado se purificó adicionalmente mediante cromatografía ultrarrápida dando un sólido incoloro (4,67 g, 61 %).
 45 [α]_D²² -45,9 (c 1,71, CH₂Cl₂). RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,68 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 5,15 (dd, J = 9,5, 9,5 Hz, 1H), 5,08 (dd, J = 9,5, 9,5 Hz, 1H), 4,58 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 4,23 (dd, J = 12,4, 4,8 Hz, 1H), 4,16-4,03 (m, 2H), 3,68 (ddd, J = 9,5, 4,9, 2,4 Hz, 1H), 2,78-2,62 (m, 2H), 2,35 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,07 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,71-1,56 (m, 4H), 1,52-1,37 (m, 2H). RMN de ¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ 177,8, 171,1, 170,8, 170,3, 169,3, 84,4, 75,9, 73,9, 68,4, 62,3, 53,2, 33,6, 29,5, 28,9, 27,9, 24,1, 23,1, 20,7, 20,6, 19,5. HRMS ESI (+ve) m/z =
 50 500,1577 [M+Na]⁺; calculado C₂₀H₃₁N₁O₁₀Na₁S₁ 500,1566 g/mol.

iv. PNPO-COC5-α-S-(perAc)-GlcNAc



A una solución agitada de 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-1-tio-β-D-glucopiranosido de 5-carboxipentilo (1,20 g, 2,44 mmol) disuelto en acetato de etilo (10 ml) y diclorometano (10 ml) se le añadió 4-nitrofenol (0,50 g, 3,66 mmol) y a continuación EDC (0,70 g, 3,66 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h y a continuación se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida para dar PNPO-COC5-α-S-(perAc)-GlcNAc como un sólido incoloro (0,96 g, 64%).

$[\alpha]_D^{22}$ -35,4 (c 1,67, CH₂Cl₂). RMN de ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,30-8,25 (m, 2H), 7,31-7,26 (m, 2H), 5,49 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 5,16 (dd, J = 9,3, 9,3 Hz, 1 H), 5,09 (dd, J = 9,3, 9,3 Hz, 1 H), 4,57 (d, J = 10,2 Hz, 1 H), 4,24 (dd, J = 12,4, 5,0 Hz, 1 H), 4,18-4,05 (m, 2H), 3,68 (ddd, J = 9,3, 4,7, 2,3 Hz, 1 H), 2,82-2,68 (m, 2H), 2,61 (dd, J = 2,35 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,84-1,47 (m, 6H). RMN de ¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ 171,0, 170,5, 169,9, 169,2, 155,4, 145,3, 125,2, 122,4, 84,5, 76,0, 73,8, 68,3, 62,3, 53,2, 34,0, 29,5, 29,0, 27,9, 24,1, 23,2, 20,7, 20,6, 20,5. HRMS ESI (+ve) m/z = 620,1731 [M+Na]⁺; calculado C₂₆H₃₄N₂Na₁O₁₂S₁ 621,1730 g/mol.

15

v. BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-COC5-α-S-GlcNAc]₈ [γ-CO₂Na]₈

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴ (((COC2CO-2-N-α-OMe-Glc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴)) ₈ (((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H)) ⁴)) ₈ ¹⁶	8	COC5-α-S-(perAc)-GlcNAc = Sacc
	8	CO ₂ H

A una solución agitada de BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-NH₂.TFA]₈ [γ-CO₂Bn]₈ (59 mg, 15,7 μmol) y PNPO-COC5-α-S-(perAc)-GlcNAc (155 mg, 253 μmol) en DMF (3 ml) se le añadió DIPEA (88 μl, 505 μmol). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 h y a continuación el intermedio peracetato precipitó con éter y se recogió. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se lavó con metanol. Los sólidos aislados combinados se suspendieron en agua (10 ml) y se añadió NaOH 2 N (5 ml). La mezcla de reacción se dejó agitar durante 5 h, momento en el cual todo el material se había disuelto. La mezcla se filtró a continuación a través de un filtro de jeringa de 0,4 micrómetros para retirar materia particulada, se diluyó a (40 ml) con agua y se purificó mediante filtración por flujo tangencial usando una membrana con un límite de 1 KDa, dializando con agua (600 ml). El retentado se liofilizó dando BHALys [Lys]₄ [Glu]₈ [α-COC5-α-S-GlcNAc]₈ [γ-CO₂Na]₈ como un sólido de color ligeramente amarillo (28 mg, 35%).

RMN de ¹H (300, MHz, D₂O) δ 7,44-7,20 (m, 10H), 6,09 (s, 1 H), 4,57 (d, J = 10,5 Hz, 8H), 4,37-4,05 (m, 15H), 3,95-3,80 (m, 8H), 3,80-3,63 (m, 16H), 3,59-3,48 (m, 8H), 3,49-3,31 (m, 16H), 3,23-2,99 (m, 14H), 2,76-2,55 (m, 16H), 2,34-2,14 (m, 32H), 2,08-1,22 (m, 106H), 2,00 (s, 24H). HRMS ESI (+ve) calculado C₂₀₇H₃₃₇N₃₁O₇₉S₈ 4777,10 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 4777,12.

Ejemplo 71

35

BHALys [Lys]₈ [Glu]₈ [α-COC5-α-S-GlcNAc]₁₆ [γ-CO₂Na]₁₆

i. BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-Boc]₁₆ [γ-CO₂Bn]₁₆

A una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₈ [NH₂.TFA]₁₆ (400 mg, 0,102 mmol), TEA (0,567 ml, 4,07 mmol) y DMF (10 ml) se le añadió PNPO-Gtu-α-Boc-δ-OBn (949 mg, 1,95 mmol) como un sólido y en una porción a temperatura ambiente. La agitación se continuó a temperatura ambiente durante 64 h. La mezcla de reacción impura se concentró al vacío para dar un jarabe, que se trituró con agua (50 ml) para dar una goma de color beige. El agua se retiró por decantación de la goma, que se trituró con ACN (100 ml) dando una suspensión de color blanco. El sólido de color blanco resultante se recogió por filtración en succión, se lavó con ACN (2 x 50 ml) y se secó al aire para dar BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-Boc]₁₆ [γ-CO₂Bn]₁₆ (757 mg, 103%) como un sólido incoloro.

ii. BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-NH₂.TFA]₁₆ [γ-CO₂Bn]₁₆

Se suspendió BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-Boc]₁₆ [γ-CO₂Bn]₁₆ (500 mg, 0,069 mmol) en DCM (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Una solución de 1:1 TFA/DCM (2,6 ml) se añadió lentamente, haciendo que la suspensión se

hiciera transparente rápidamente. La agitación se continuó durante 17 h. La reacción se interrumpió mediante retirada de volátiles al vacío, dando un jarabe que se trituró con Éter (50 ml), dando como resultado una suspensión de color blanco. El sólido se recogió mediante filtración en succión y se lavó con Éter (2 x 50 ml) y a continuación se secó al aire para dar BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [αNH₂.TFA]₁₆ [γ-CO₂Bn]₁₆ como un sólido de color blanquecino (486 mg, 94%).

LC/MS: ESI (+ve) m/z = 1872,14 [M+3H]³⁺, 1404,36 [M+4H]⁴⁺; 1123,76 [M+5H]⁵⁺, 936,43 [M+6H]⁶⁺, 802,97 [M+7H]⁷⁺; calculado C₂₉₅H₄₀₁N₄₇O₆₃ 5613,76 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 5612,83. Rf (min) = 5,43.

10 iii. BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-COC5-α-S-GlcNAc]₁₆ [γ-CO₂Na]₁₆

Topología superficial	Estequiometría superficial
CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴ ((COC2CO-2-N-α-OMe-Glc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴) ⁸ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴) ¹⁶ (((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴ ((COC2C-O2-N-α-OMe-Glc CO ₂ H) Sacc CO ₂ H) ⁴) ⁸ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴ ((Sacc CO ₂ H)(Sacc CO ₂ H) ⁴) ¹⁶	16 COC5-α-S-(perAc)-GlcNAc = Sacc
	16 CO ₂ H

A una solución agitada de BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-NH₂.TFA]₁₆ [γ-CO₂Bn]₁₆ (58,2 mg, 7,83 μmol) y PNPO-COC5-α-S-(perAc)-GlcNAc (150 mg, 251 μmol) en DMF (3 ml) se le añadió DIPEA (87 μl, 501 μmol). La reacción se dejó agitar durante 16 h y a continuación el producto precipitó usando agua (25 ml). El precipitado se recogió, se suspendió en agua (10 ml) y metanol (2 ml) y se añadió NaOH 2 N (3 ml). La reacción se dejó agitar durante 5 h, momento en el cual todo el material de partida se había disuelto y la solución era de color amarillo por el 4-nitrofenol residual. La mezcla se diluyó con agua a un volumen de 50 ml y a continuación se concentró usando filtración de flujo tangencial a 30 ml y a continuación se dializó contra agua (400 ml), solución de Na₂CO₃ al 5% (100 ml) y a continuación agua (600 ml) hasta que la solución era neutra e incolora. El retentado se liofilizó para dar BHALys [Lys]₈ [Glu]₁₆ [α-COC5-α-S-GlcNAc]₁₆ [γ-CO₂Na]₁₆ como un sólido incoloro (67 mg, 87%).

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) 7,40-7,23 (m, 10H), 6,08 (s, 1H), 4,57 (d, J = 10,4 Hz, 16H), 4,34-4,10 (m, 31H), 3,87 (d ancho, J = 12,2 Hz, 16H), 3,76-3,65 (m, 32H), 3,58-3,50 (m, 16H), 3,48-3,38 (m, 32H), 3,20-3,05 (m, 30H), 2,78-2,56 (m, 32H), 2,34-2,14 (m, 64H), 2,08-1,22 (m, 218H), 201 (s, 48H). MS ESI (+ve) calculado C₄₀H₆₇₃N₆₃O₁₅₉S₁₆ 9507,2 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 9504,2. MS ESI (+ve) calculado C₄₀₇H₆₇₂N₆₃O₁₅₉S₁₆Na 9529,0 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 9525,1.

Ejemplo 72

BHALys [Lys]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3.5-Ph(CO₂Me)₂]₄ [ε-GlyLys]₂ [α-CO-3.5-Ph(CO₂Me)₂]₂ [ε-[Glu]₂ [α-Boc]₂ [γ-CO₂Me]₂

i. BnO-GlyLys [α-Fmoc] [ε-Boc]

A una solución agitada magnéticamente de H-Gly-OBn-HCl (1,63 g, 8,06 mmol) y PFP-Lys-α-Fmoc-ε-Boc (4,65 g, 7,33 mmol) en DMF (60 ml) se le añadió lentamente una solución de DIPEA (1,27 ml, 7,33 mmol) en DMF (40 ml) a temperatura ambiente. La agitación se continuó a temperatura ambiente durante 18 h. Se añadió una solución de DIPEA (64 μl, 0,367 mmol) en DMF (1 ml) y la agitación se continuó durante 4 h adicionales. La reacción se vertió sobre agua con hielo (400 ml), la suspensión se filtró y los sólidos se lavaron bien con agua y a continuación se recogieron en succión y se secaron al aire y a continuación se secaron en un horno de vacío a 40°C y 20 mm Hg para dar BnO-GlyLys [α-Fmoc] [ε-Boc] (4,04 g, 90%).

LC/MS (Hidrófobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1249,61 [2M+NH₄]⁺, 1231,59 [2M+H]⁺, 616,25 [M+H]⁺; calculado C₃₅H₄₁N₃O₇ 615.73 g/mol. Rf (min) = 5,66.

ii. BnO-GlyLys [α-NH₂] [ε-Boc]

Se disolvió BnO-GlyLys [α-Fmoc] [ε-Boc] (1,5 g, 2,44 mmol) en DMF (100 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Una solución de piperidina (3,75 ml) en DMF (46,25 ml) se añadió lentamente, y la agitación se continuó a temperatura ambiente durante 4 h antes de que la reacción se almacenara a -18°C durante 66 h. La reacción se interrumpió mediante retirada de volátiles al vacío, dando un residuo blanquecino que se trituró con Éter (50 ml), dando como resultado una suspensión de color blanco. La solución entérica se recogió mediante filtración, a continuación se concentró a presión reducida para dar un sólido blanquecino en succión y a continuación se secó al

aire para dar BnO-GlyLys [α -NH₂] [ϵ -Boc] como un sólido blanquecino (se supone que 639 mg, 100%) contaminado con Fmoc-Piperidina. Esta mezcla impura se usó sin purificación adicional.

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 787,32 [2M+H]⁺, 394,19 [M+H]⁺; calculado C₂₀H₃₁N₃O₅ 393,49 g/mol. Rf (min) = 7,00.

5

iii. BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Boc]

A una solución de BnO-GlyLys [α -NH₂] [ϵ -Boc] (500 mg, 1,27 mmol) y benceno-1,3,5-tricarboxilato de 1,3-dimetil 5-(4-nitrofenilo) (456 mg, 1,27 mmol en DMF (25 ml), con agitación a temperatura ambiente, se le añadió TEA (0,186 ml, 1,33 mmol). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 13.iii para dar BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Boc] como un vidrio transparente de color amarillo pálido (495 mg, impuro).

LC/MS (Hidrófobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1250,35 [2M+Na]⁺, 636,25 [M+Na]⁺; 614,30 [M+H]⁺; calculado C₃₁H₃₉N₃O₁₀ 613,67 g/mol. Rf (min) = 4,37.

15

iv. BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -NH₂.TFA]

Se disolvió BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Boc] (486 mg, 0,792 mmol) en 1:1 TFA/DCM (6 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se concentró y el residuo se trituró con Éter (30 ml), dando como resultado una suspensión de color blanco, que se recogió mediante succión y se lavó con acetonitrilo. Los lavados con acetonitrilo se concentraron a sequedad, dando BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -NH₂.TFA] como una espuma de color naranja (191 mg, 38%).

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1027,28 [2M+H]⁺, 514,09 [M+H]⁺; calculado C₂₆H₃₁N₃O₈ 513,55 g/mol. Rf (min) = 7,05.

25

v. BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Glu] [α -Boc] [γ -CO₂Me]

A una solución de BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -NH₂.TFA] (191 mg, 0,304 mmol) en DMF (5 ml), con agitación a temperatura ambiente, se le añadió TEA (0,106 ml, 0,761 mmol, seguido por PNPO-Glu- α -Boc- δ -Me (140 mg, 0,365 mmol). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 13.iii para dar BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Glu] [α -Boc] [γ -CO₂Me] como una espuma de color naranja (181 mg, 79%).

LC/MS (Hidrófobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1536,48 [2M+Na]⁺, 1514,43 [2M+H]⁺, 779,20 [M+Na]⁺, 757,16 [M+H]⁺; calculado C₃₇H₄₈N₄O₁₃ 756,81 g/mol. Rf (min) = 4,04.

35

vi. HO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Glu] [α -Boc] [γ -CO₂Me]

Se disolvió BnO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Glu] [α -Boc] [γ -CO₂Me] (90 mg, 0,119 mmol) en 2,2,2-trifluoroetanol (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Se añadió Pd/C no de Degussa (10%, 0,030 mmol, 32 mg) a la solución desgasificada y el sistema se agitó en hidrógeno gaseoso (1 atm) durante 24 h. El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se concentró a sequedad para dar HO-GlyLys [α -CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂] [ϵ -Glu] [α -Boc] [γ -CO₂Me] como un vidrio de color naranja (81 mg, 102%).

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1556,52 [2M+Na]⁺, 1333,43 [2M+H]⁺, 689,16 [M+Na]⁺, 667,21 [M+H]⁺; calculado C₃₀H₄₂N₄O₁₃ 666,69 g/mol. Rf (min) = 7,45.

45

vii. BnO-GlyLys [Boc]₂

A una solución agitada magnéticamente de H-Gly-OBn-HCl (2,50 g, 12,4 mmol) y DMF (80 ml) se le añadió TEA (4,4 ml, 31,0 mmol) seguido por PNPO-Lys(Boc)₂ (6,96 g, 14,9 mmol). La reacción y el aislamiento del producto se llevaron a cabo de acuerdo con el procedimiento del ejemplo 72.i para dar BnO-GlyLys [Boc]₂ como una espuma de color amarillo pálido (6,42 g, 105%).

LC/MS (Hidrófobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 987,45 [2M+H]⁺, 494,22 [M+H]⁺; calculado C₂₅H₃₉N₃O₇ 493,61 g/mol. Rf (min) = 4,30.

viii. BnO-GlyLys [NH₂.TFA]₂

Se suspendió BnO-GlyLys [Boc]₂ (6,12 g, 12,4 mmol) en 90 ml de DCM y se agitó a temperatura ambiente mientras se añadía lentamente 1:1 TFA/DCM (60 ml). Después de agitar durante 18 h, la reacción se concentró y el residuo se trituró con Éter (80 ml). La goma se liofilizó a partir de agua (100ml) dando BnO-GlyLys [NH₂.TFA]₂ como una espuma de color blanquecino higroscópica (6,51 g, 101%).

60

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 587,30 [2M+H]⁺, 294,25 [M+H]⁺; calculado C₁₅H₂₃N₃O₃ 293,37 g/mol. Rf (min) = 3,84.

ix. BnO-GlyLys [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂

5

A una solución agitada magnéticamente de BnO-GlyLys [NH₂.TFA]₂ (600 mg, 1,15 mmol) y DMF (35 ml) se le añadió TEA (0,802 ml, 5,75 mmol) seguido por 5-(4-nitrofenil)benceno-1,3,5-tricarboxilato de 1,3-dimetilo (990 mg, 2,76 mmol). La agitación se continuó a temperatura ambiente durante 18 h. la mezcla de reacción se concentró a sequedad y el aceite resultante se trituró con Éter (100 ml) para dar un precipitado que se recogió por succión, se lavó con éter dietílico y se secó al aire para dar BnO-GlyLys [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ como un sólido de color blanco (754 mg, 89%).

10

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1490,35 [2M+Na]⁺, 1468,36 [2M+H]⁺, 756,10 [M+Na]⁺, 734.16 [M+H]⁺; calculado C₃₇H₃₉N₃O₁₃ 733.74 g/mol. Rf (min) = 3,86.

15 x. HO-GlyLys [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂

Se disolvió BnO-GlyLys [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ (750 mg, 1,02 mmol) en 2,2,2-trifluoroetanol (35 ml) y se agitó a temperatura ambiente. Se añadió Pd/C no de Degussa (10%, 0,255 mmol, 271 mg) a la solución desgasificada y el sistema se agitó en hidrógeno gaseoso (1 atm) durante 66 h. El catalizador se retiró por filtración y el filtrado se concentró a sequedad para dar HO-GlyLys [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ como una espuma de color amarillo (624 mg, 94%).

20

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1288,30 [2M+H]⁺, 644,09 [M+H]⁺; calculado C₃₀H₃₃N₃O₁₃ 643,61 g/mol. Rf (min) = 7,19.

25 xi. BHALys [Lys]₂ [ε-Boc]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄

Una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [α-NH₂]₂ [ε-Boc]₂ (16,4 mg, 0,0213 mmol) y HO-GlyLys [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ (37,0 mg, 0,0575 mmol) en DMF (5 ml) se enfrió a 0°C, a continuación se añadió PyBOP (30,0 mg, 0,0575 mmol), seguido por DIPEA (19 μl, 0,107 mmol). La agitación se continuó a 0°C durante 30 min, a continuación la reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 66 h. La reacción se inactivó con metanol (2 ml) y se agitó durante una noche antes de ser aplicada a una columna Sephadex LH20 para purificación (eluyente:metanol) para dar BHALys [Lys]₂ [ε-Boc]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄ como un vidrio transparente (33,7 mg, 75%), que se caracterizaba por la retirada de los grupos Boc en la siguiente etapa.

30

35 xii. BHALys [Lys]₂ [ε-NH₂.TFA]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄

Se disolvió BHALys [Lys]₂ [ε-Boc]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄ en 1:1 TFA/DCM (2 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se concentró al vacío, se trituró con Éter y se secó para dar BHALys [Lys]₂ [ε-NH₂.TFA]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄ como un vidrio transparente (32,0 mg, 100%).

40

LC/MS (Hidrófilo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1819,82 [M+H]⁺, 910,16 [M+2H]²⁺; calculado C₉₁H₁₁₁N₁₃O₂₇ 1818,97 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 1818,58. Rf (min) = 9,14.

xiii. BHALys [Lys]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄ [ε-GlyLys]₂ [α-CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ [ε-Glu]₂ [α-Boc]₂ [γ-CO₂Me]₂

45

Topología superficial	Estequiometría superficial	
(((Dianión Ø)(Dianión Ø)) ⁴ ((Dianión Ø)(Anión Boc)) ⁴) ⁸ ((Dianión Ø)(Dianión Ø)) ⁴ ((Dianión Ø)(Anión Boc)) ⁴) ¹⁶	6	CO-3,5-Ph(CO ₂ Me) ₂ = Dianión
	2	Glutamato CO ₂ Me = Anión
	2	Boc

Una solución agitada magnéticamente de BHALys [Lys]₂ [ε-NH₂.TFA]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄ (32 mg, 0,0156 mmol) y HO-GlyLys [α-CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ [ε-Glu]₂ [α-Boc]₂ [γ-CO₂Me]₂ (28 mg, 0,0422 mmol) en DMF (3 ml) se enfrió a 0°C, a continuación se añadió PyBOP (22 mg, 0,0422 mmol), seguido por DIPEA (14 μl, 0,0782 mmol). La agitación se continuó a 0°C durante 15 min, a continuación la reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La reacción se inactivó con metanol (2 ml) y se agitó durante 66 h antes de aplicarla a una columna de Sephadex LH20 para purificación (eluyente:metanol) para dar BHALys [Lys]₂ [α-GlyLys]₂ [CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₄ [ε-GlyLys]₂ [α-CO-3,5-Ph(CO₂Me)₂]₂ [ε-Glu]₂ [α-Boc]₂ [γ-CO₂Me]₂ como un vidrio transparente (31 mg,

50

63%).

LC/MS (Hidrófobo/TFA): ESI (+ve) m/z = 1558,93 [M+2H]²⁺, 1039,87 [M+3H]³⁺, 1006,20 [M-Boc+3H]³⁺, 972,66 [M-2Boc+3H]³⁺; calculado C₁₅₁H₁₉₁N₂₁O₅₁ 3116,32 g/mol. Los datos se deconvolucionaron usando cálculo de la transformada para dar pm = 3116,22. Rf (min) = 5,97.

5

Ejemplo 73

Ensayos para actividad antiinflamatoria

10 Procedimientos

1. Cultivo celular

Se cultivaron células THP-1 en medio RPMI 1640 (ICN) que contenía suero fetal de ternero inactivado con calor al 15 10% (FCS), 1,5 g/l de bicarbonato sódico (ICN), tampón HEPES 10 nM (Sigma), piruvato sódico 1 mM (JRH), 2-Mercaptoetanol 0,05 mM (Sigma), L-glutamina 2 mM y Penicilina/Estreptomina (Life Technologies). Éstas se mantuvieron en matraces con medio TC (Cellstar) a una densidad de 1×10^6 células/ml. Todos los experimentos se realizaron en células con números de pase entre 3-8.

20 2. Procedimiento experimental

Células de uno o más matraces TC se recogieron, se contaron y se transfirieron a un nuevo matraz TC en medio bajo en suero (FCS/RPMI al 0,5%). Al día siguiente, las células se contaron y se sembraron en pocillos de una placa de 24 pocillos (Sarstedt) a 5×10^5 células/pocillo en FCS al 0,5%/RPMI.

25

Tratamientos de compuesto, controles de vehículo y dexametasona (Dex) se añadieron inmediatamente a los pocillos apropiados. La placa se incubó a continuación a 37 grados, CO₂ al 5% durante 30 minutos. A continuación se añadió lipopolisacárido (LPS - Sigma) a los pocillos apropiados y la placa se incubó durante 4 horas adicionales a 37 grados, CO₂ al 5%.

30

Después de 4 horas, el contenido de cada pocillo se recogió en tubos de 1,5 ml (Eppendorf) y se centrifugaron para sedimentar las células. El sobrenadante se recogió a continuación y se almacenó a - 80°C.

3. Procedimiento de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)

35

Se ensayaron los sobrenadantes para determinar niveles de MIP-1beta y TNF-alfa mediante ELISA estándar.

3.i ELISA de TNF alfa

40 **Día 1:**

Placas de ELISA revestidas con anticuerpo de captura anti-TNF α monoclonal (R&D Systems) en un volumen de 100 ul a 4 ug/ml en PBS. Las placas se incubaron durante una noche a 4°C.

45 **Día 2:**

Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS
Las placas se bloquearon durante 2 h en BSA al 0,1%/PBS
Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS

50

Los sobrenadantes, diluidos en BSA al 1%/PBS se añadieron a la placa (100 ul de volumen/pocillo) junto con TNF humano recombinante (R&D Systems) como estándar de referencia. Las placas se incubaron durante una noche a 4°C.

55 **Día 3:**

Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS
Se añadieron 100 ul de anticuerpo policlonal purificado por afinidad anti-TNF biotinilado humano (R&D Systems) a cada pocillo a 300 ng/ml en BSA al 1%/PBS

60

Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS

Se añadieron 100 ul de estreptavidina HRP (Chemicon) a cada pocillo (diluida 1/1000 en BSA al 1%/PBS).
La placa se incubó durante 2 h a temperatura ambiente, a continuación se lavó (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS.
Se añadieron 100 ul de solución de sustrato TMB a cada pocillo y la placa se incubó en la oscuridad durante 10-20 minutos.

- 5 Se añadieron 100 ul de solución de detención (H₂SO₄ 0,5 M) a cada pocillo; las placas se leyeron inmediatamente en un lector de placas Victor3 a una longitud de onda de 450 nm.

3.ii ELISA de MIP-1b

10 Día 1:

Placas de ELISA revestidas con anticuerpo de captura anti-MIP-1b monoclonal (R&D Systems) en un volumen de 100 ul a 1 ug/ml en solución salina tamponada con fosfato (PBS).
Las placas se incubaron durante una noche a 4°C.

15

Día 2:

Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS
Las placas se bloquearon durante 2 h en BSA al 0,1%/PBS

- 20 Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS
Se añadieron sobrenadantes, diluidos en BSA al 1%/PBS a la placa en pocillos por duplicado (100 ul de volumen/pocillo).

- Se añadió MIP-1b recombinante humano (R&D Systems) como estándar de referencia. Las placas se incubaron
25 durante una noche a 4°C.

Día 3:

Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS

- 30 Se añadieron 100 ul de anticuerpo policlonal purificado por afinidad anti-MIP-1b humano biotinilado (R&D Systems) a cada pocillo a 50 ng/ml en BSA al 1%/PBS

Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS

Se añadieron 100 ul de estreptavidina HRP (Chemicon) a cada pocillo (diluida 1/1000 en BSA al 1%/PBS).

La placa se incubó durante 2 h a temperatura ambiente.

- 35 Las placas se lavaron (x3) con Tween 20 al 0,05%/PBS
Se añadieron 100 ul de solución de sustrato TMB a cada pocillo. La placa se incubó en la oscuridad durante 10-20 minutos.

Se añadieron 100 ul de solución de detención (H₂SO₄ 0,5 M) a cada pocillo.

Las placas se leyeron inmediatamente en lector de placas Victor3 a una longitud de onda de 450 nm.

- 40 3.iii Curvas patrón para TNF y MIP-1b

Almacenar proteína recombinante a 10 µg/ml

Diluir la solución madre a 2 µl/1000 ul en BSA al 1%/PBS (1)

Diluir (1) a 50 µl/1000 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón A 1 ng/ml)

Diluir A a 220 µl/440 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón B 0,5 ng/ml)

- 45 Diluir B a 220 µl/440 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón C 0,25 ng/ml)

Diluir C a 220 µl/440 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón D 0,125 ng/ml)

Diluir D a 220 µl/440 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón E 0,0625 ng/ml)

Diluir E a 220 µl/440 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón F 0,0312 ng/ml)

Diluir F a 220 µl/440 ul en BSA al 1%/PBS (Patrón G 0,0156 ng/ml)

- 50 Blanco (BSA al 1%/PBS en solitario)

4. Análisis de datos

- Los datos se analizaron para inhibición estadísticamente significativa de liberación de citocinas mediante ANOVA
55 de 1 vía con test de Tukey a posteriori y, si era aplicable, se derivaron las CI50. Se usó el software GraphPad Prism® 4.

Tabla 27. Actividad antiinflamatoria de ejemplos seleccionados.

Compuesto #	Nombre	Cl ₅₀ de TNF- α (μ g/ml)	Cl ₅₀ de MIP-1 β (μ g/ml)
73,1 ^a	BHALys [Lys] ₁₆ [COC2CO-2-N- α -OMe-Glc] ₃₂	NA	NA
73,2 ^a	BHALys [Lys] ₁₆ [COC2- β -S-GlcNAc] ₃₂	Débil	NS @ [máx]
73,3 ^a	BHALys [Lys] ₄ [COC2- β -S-GlcNAc] ₈	NA	NA
73,4 ^a	BHALys [Lys] ₈ [COC2CO-2-N-Glc] ₁₆	NA	NA
73,5 ^a	BHALys [Lys] ₈ [COC2CO-2-N- α -OMe-Glc] ₁₆	NA	NA
73,6 ^a	BHALys [Lys] ₈ [COC2- β -S-GlcNAc] ₁₆	NA	NA
73,7 ^a	MorphLys [Lys] ₈ [COC2- β -S-GlcNAc] ₁₆	NA	NA
73,8 ^a	BHALys [Lys] ₄ [COC2CO-2-N- α -OMe-Glc] ₈	64,8	84,8
73,9 ^a	MorphLys [Lys] ₄ [COC2CO-2-N- α -OMe-Glc] ₈	NA	NA
73,10 ^a	MorphLys[Lys] ₄ [COC2- β -S-GlcNAc] ₈	NA	NA
73,11 ^a	[BHALys] [Lys] ₁₆ [CONH-Ph-3,5-(SO ₃ Na) ₂] ₃₂	56,7	74,7
73,12 ^b	BHALys [Lys] ₁₆ [A-3,5-BDC] ₃₂	132,3	202,2

^a La preparación de estos compuestos se ha descrito en la solicitud de patente provisional: AU2006906086. ^b La preparación de estos compuestos se ha descrito en el documento AU2005905858

Estos datos indican que macromoléculas con estequiometría/topología controladas de restos funcionales que son aniónicos o son N-acetil glucosa o análogos del mismo, pueden tener propiedades anti-inflamatorias.

REIVINDICACIONES

1. Un motivo dendrítico, que comprende (i) al menos una capa subsuperficial de una o más unidades estructurales; (ii) una capa superficial de dos o más unidades estructurales superficiales; y (iii) al menos dos restos funcionales diferentes, con lo que dicha capa superficial tiene una topología de resto funcional seleccionada de entre el grupo que consiste en:

cuartetos del tipo:

10 $((AA)(AB))^4$, $((AB)(BB))^4$, $((AA)(BD))^4$, $((AB)(AD))^4$, $((BB)(AD))^4$, $((DD)(AB))^4$, $((BD)(AB))^4$, y $((BD)(AD))^4$;

octetos del tipo:

15 $((AA)(AA))^4((AA)(AB))^4$, $((AA)(BB))^4((AD)(AD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((AA)(BB))^4$, $((AB)(AB))^4((AA)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((AB)(AB))^4$, $((AB)(AB))^4((AD)(AD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AA)(AB))^4$, $((AA)(AB))^4((BB)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((AB)(BB))^4$, $((AA)(AB))^4((BD)(BD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AA)(BB))^4$, $((AA)(BB))^4((AB)(DD))^4$,
20 $((AA)(AB))^4((AB)(AB))^4$, $((AA)(BB))^4((AD)(BD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AB)(BB))^4$, $((AB)(AB))^4((AB)(DD))^4$,
 $((AA)(BB))^4((AB)(AB))^4$, $((AB)(AB))^4((AD)(BD))^4$,
 $((BB)(BB))^4((BB)(AB))^4$, $((BB)(BB))^4((BB)(AD))^4$,
 $((BB)(BB))^4((BB)(AA))^4$, $((BB)(BB))^4((AB)(BD))^4$,
25 $((BB)(BB))^4((AB)(AB))^4$, $((BB)(AB))^4((BB)(BD))^4$,
 $((BB)(BA))^4((BB)(AB))^4$, $((BB)(BB))^4((BD)(AA))^4$,
 $((BB)(BB))^4((AA)(AB))^4$, $((BB)(BB))^4((AB)(AD))^4$,
 $((BB)(AB))^4((AA)(BB))^4$, $((BB)(AB))^4((BB)(AD))^4$,
 $((BB)(AB))^4((AB)(AB))^4$, $((BB)(AB))^4((AB)(BD))^4$,
30 $((AA)(AA))^4((AA)(BD))^4$, $((AA)(AB))^4((DD)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((AB)(AD))^4$, $((AA)(AD))^4((BD)(DD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AA)(AD))^4$, $((AA)(BD))^4((AD)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((AD)(BB))^4$, $((AD)(BD))^4((AD)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((AB)(BD))^4$, $((AA)(DD))^4((AB)(DD))^4$,
35 $((AA)(AB))^4((AA)(BD))^4$, $((AA)(DD))^4((AD)(BD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AB)(AD))^4$, $((AD)(AD))^4((AB)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((BB)(BD))^4$, $((AD)(AD))^4((AD)(BD))^4$,
 $((AA)(AD))^4((BB)(BA))^4$, $((BB)(BB))^4((AA)(DD))^4$,
40 $((AA)(AB))^4((AB)(BD))^4$, $((BB)(BB))^4((AD)(AD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((BB)(AD))^4$, $((BB)(AB))^4((AB)(DD))^4$,
 $((AA)(BD))^4((AA)(BB))^4$, $((BB)(AB))^4((AD)(BD))^4$,
 $((AA)(BD))^4((AB)(AB))^4$, $((AA)(BB))^4((BB)(DD))^4$,
 $((AB)(AD))^4((AA)(BB))^4$, $((AA)(BB))^4((BD)(BD))^4$,
45 $((AB)(AD))^4((AB)(AB))^4$, $((AB)(AB))^4((BB)(DD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((BB)(DD))^4$, $((AB)(AB))^4((AD)(AD))^4$,
 $((AA)(AA))^4((BD)(BD))^4$, $((BB)(AB))^4((AA)(DD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AB)(DD))^4$, $((BB)(AB))^4((AD)(AD))^4$,
 $((AA)(AB))^4((AD)(BD))^4$, $((AA)(DD))^4((AD)(BB))^4$,
50 $((AA)(BB))^4((AA)(DD))^4$, $((AA)(DD))^4((AB)(BD))^4$,
 $((AD)(AD))^4((AD)(BB))^4$, y
 $((AD)(AD))^4((AB)(BD))^4$;

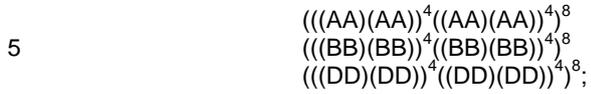
16-tetos del tipo:

55 $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$, $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$, $((AA)(AA))^4((AB)(AB))^4$, $((AB)(AB))^4((AB)(AB))^4$, and
 $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$, $((BD)(BD))^4((BD)(BD))^4$;

y

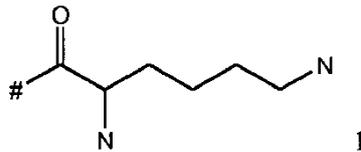
60 16-tetos compuestos por dos octetos, cada octeto seleccionado independientemente de entre:

los anteriores,

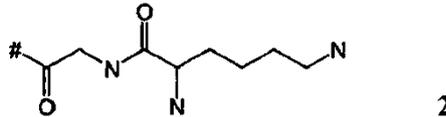


donde A, B y D son restos funcionales diferentes;
dichas **unidades estructurales** se seleccionan de entre:

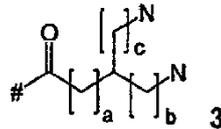
10 Lisina **1**: que tiene la estructura:



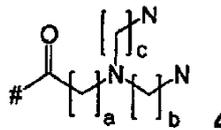
15 Glicil-Lisina **2** que tiene la estructura:



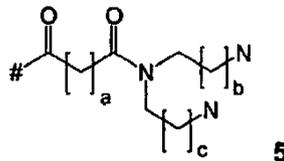
Análogo **3**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 1 o 2; b y c son iguales o
20 diferentes y son números enteros de 1 a 4.



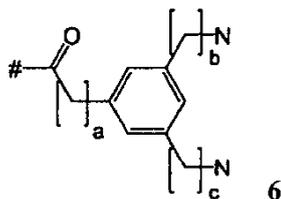
Análogo **4**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o
25 diferentes y son números enteros de 2 a 6



Análogo **5**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o
30 diferentes y son números enteros de 1 a 5

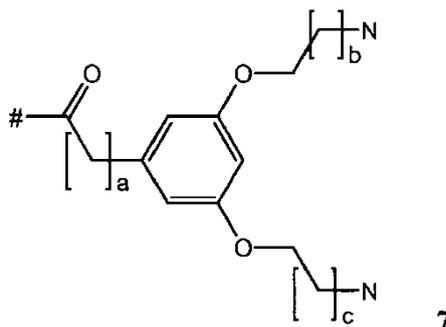


Análogo **6**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o
35 diferentes y son números enteros de 0 a 5



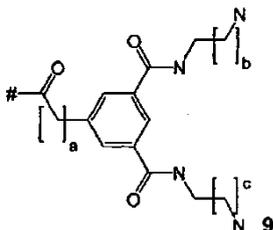
Análogo **7**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5

5



Análogo **9**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5

10

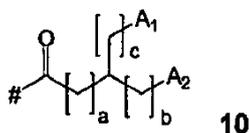


dichas unidades estructurales superficiales se seleccionan de entre:

Lisina **1**, Glicil-Lisina **2**, Análogos **3**, **4**, **5**, **6**, **7** y **9** anteriores,

15 Análogo **10**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 4.

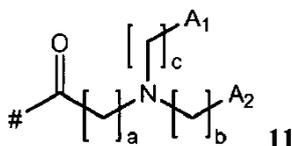
A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,



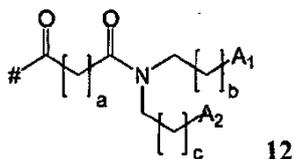
20

Análogo **11**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 2 a 6. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se selecciona de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, epóxido, N₃ o alquino,

25



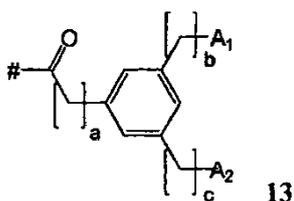
Análogo **12**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,



5

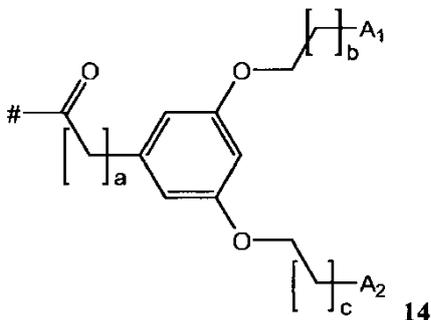
Análogo **13**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 0 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,

10



Análogo **14**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,

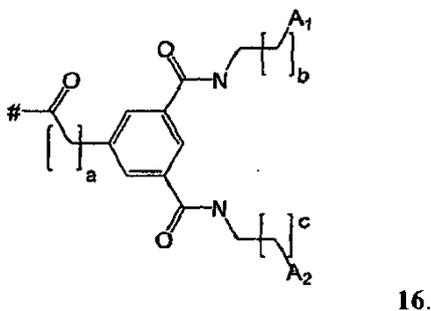
15



y

20

Análogo **16**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino



25

2. Una macromolécula que comprende un resto central al que están unidos al menos dos motivos dendríticos independientes, comprendiendo cada motivo al menos una capa subsuperficial de una o más unidades

estructurales, y una capa superficial de dos o más unidades estructurales superficiales, donde al menos uno de los motivos dendríticos es un motivo dendrítico de acuerdo con la reivindicación 1, y

y el al menos otro motivo dendrítico tiene una topología de resto funcional seleccionada de entre el grupo que 5 consiste en:

cuartetos del tipo:

10 ((AA)(AB))⁴, ((AA)(BB))⁴, ((AB)(BB))⁴, ((AA)(BD))⁴, ((AB)(AD))⁴, ((BB)(AD))⁴, ((DD)(AB))⁴, ((BD)(AB))⁴, ((BD)(AD))⁴,
 ((AA)(AA))⁴, ((BB)(BB))⁴, ((DD)(DD))⁴, y ((AB)(AB))⁴;

octetos del tipo:

15	((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AA)(AB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AB)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AA)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(AB)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(AA)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((BB)(BA)) ⁴ ((BB)(AB)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((AA)(AB)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AA)(BB)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AB)(AD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AA)(AD)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AD)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AB)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AA)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(AD)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AD)) ⁴ ((BB)(BA)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((BB)(AD)) ^{4,8} , ((AA)(BD)) ⁴ ((AA)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(BD)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((AB)(AD)) ⁴ ((AA)(BB)) ^{4,8} , ((AB)(AD)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((BB)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((BD)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((AB)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((AA)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((AD)(AD)) ^{4,8} , ((AB)(AB)) ⁴ ((AA)(DD)) ^{4,8} ,	((AB)(AB)) ⁴ ((AD)(AD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((BB)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((BD)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((AB)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((AD)(BD)) ^{4,8} , ((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(DD)) ^{4,8} , ((AB)(AB)) ⁴ ((AD)(BD)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(AD)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((AB)(BD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((BB)(BD)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((BD)(AA)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((AB)(AD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((BB)(AD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AB)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AB)) ⁴ ((DD)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(AD)) ⁴ ((BD)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(BD)) ⁴ ((AD)(DD)) ^{4,8} , ((AD)(BD)) ⁴ ((AD)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(DD)) ⁴ ((AB)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(DD)) ⁴ ((AD)(BD)) ^{4,8} , ((AD)(AD)) ⁴ ((AB)(DD)) ^{4,8} , ((AD)(AD)) ⁴ ((AD)(BD)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((AA)(DD)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((AD)(AD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AB)(DD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AD)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((BB)(DD)) ^{4,8} , ((AA)(BB)) ⁴ ((BD)(BD)) ^{4,8} , ((AB)(AB)) ⁴ ((BB)(DD)) ^{4,8} , ((AB)(AB)) ⁴ ((AD)(AD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AA)(DD)) ^{4,8} , ((BB)(AB)) ⁴ ((AD)(AD)) ^{4,8} , ((AA)(DD)) ⁴ ((AD)(BB)) ^{4,8} , ((AA)(DD)) ⁴ ((AB)(BD)) ^{4,8} , ((AD)(AD)) ⁴ ((AD)(BB)) ^{4,8} , ((AD)(AD)) ⁴ ((AB)(BD)) ^{4,8} , ((AA)(AA)) ⁴ ((AA)(AA)) ^{4,8} , ((BB)(BB)) ⁴ ((BB)(BB)) ^{4,8} , ((DD)(DD)) ⁴ ((DD)(DD)) ^{4,8} , y ((AB)(AB)) ⁴ ((AB)(AB)) ^{4,8} ;
----	---	--

16-tetos del tipo:

55
 60 (((AA)(AA))⁴((AA)(AA))^{4,8}((BD)(BD))⁴((BD)(BD))^{4,8})¹⁶;
 (((BB)(DD))⁴((BB)(DD))^{4,8}((BB)(DD))⁴((BB)(DD))^{4,8})¹⁶;
 (((BB)(BB))⁴((DD)(DD))^{4,8}((BB)(BB))⁴((DD)(DD))^{4,8})¹⁶; y
 (((BD)(BD))⁴((BD)(BD))^{4,8}((BD)(BD))⁴((BD)(BD))^{4,8})¹⁶;

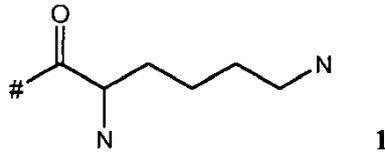
y

16-tetos compuestos por dos octetos, cada octeto seleccionado independientemente de entre aquellos inmediatamente anteriores,

5 donde A, B y D son restos funcionales diferentes;

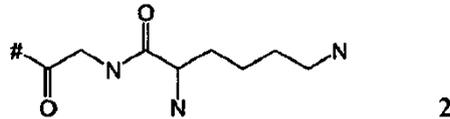
dichas **unidades estructurales** de al menos otro motivo dendrítico se seleccionan de entre:

10 Lisina **1**: que tiene la estructura:



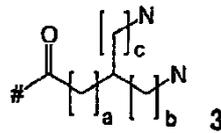
Glicil-Lisina **2** que tiene la estructura:

15



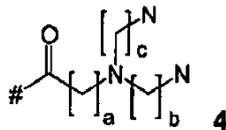
Análogo **3**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 1 o 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 4.

20



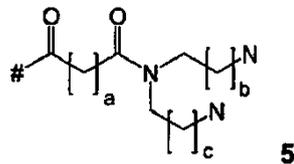
Análogo **4**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 2 a 6

25



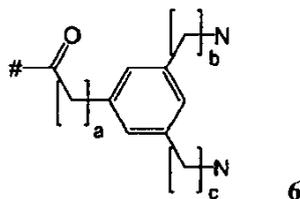
Análogo **5**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5

30



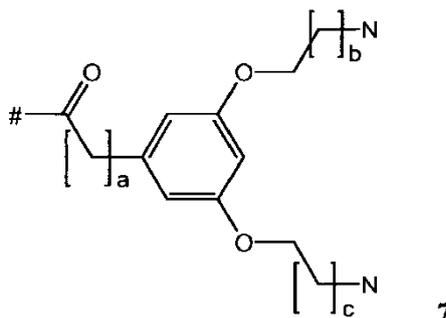
Análogo **6**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 0 a 5

35



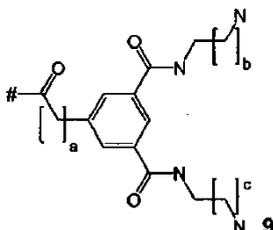
Análogo **7**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5

5



Análogo **9**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5

10



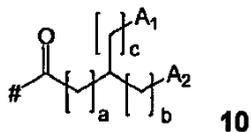
;

y dichas **unidades estructurales superficiales** de al menos otro motivo dendrítico se seleccionan de entre:

15 Lisina **1**, Glicil-Lisina **2**, Análogos **3**, **4**, **5**, **6**, **7** y **9** anteriores,

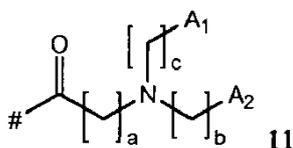
Análogo **10**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 4. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,

20

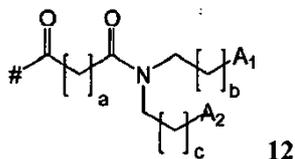


Análogo **11**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 2; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 2 a 6. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se selecciona de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, epóxido, N₃ o alquino,

25



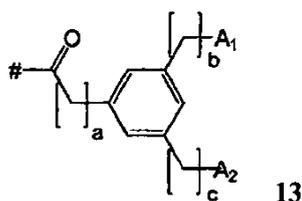
Análogo **12**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,



5

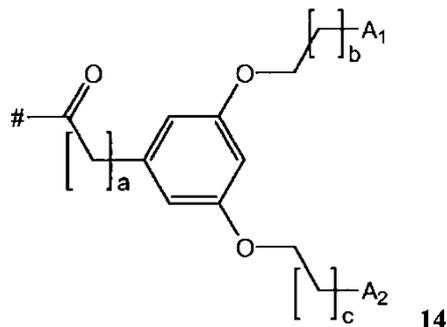
Análogo **13**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 0 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,

10



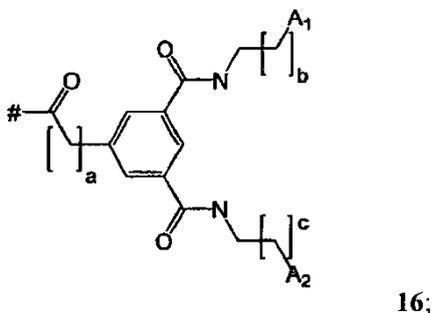
Análogo **14**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino,

15



Análogo **16**, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b y c son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5. A₁ y A₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de entre NH₂, CO₂H, OH, SH, X, donde X es F, Cl, Br o I, Alil-X donde X es F, Cl, Br o I, epóxido, arizidina, N₃ o alquino.

20

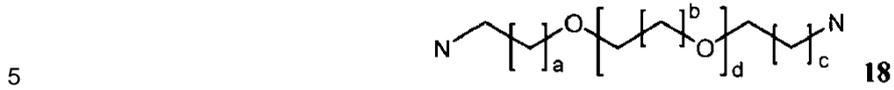


25 dicho resto **central** se selecciona de entre:

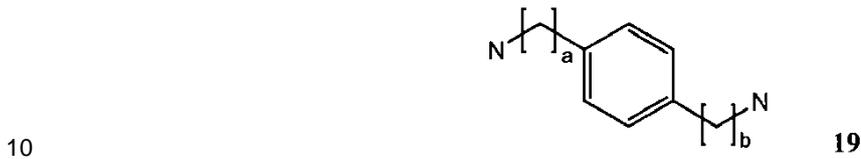
un compuesto de diamina seleccionado de entre benzhidrilamida de lisina u otra amida de lisina o:



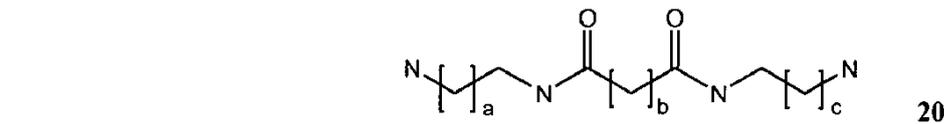
donde a es un número entero de 1 a 9, preferentemente 1 a 5;



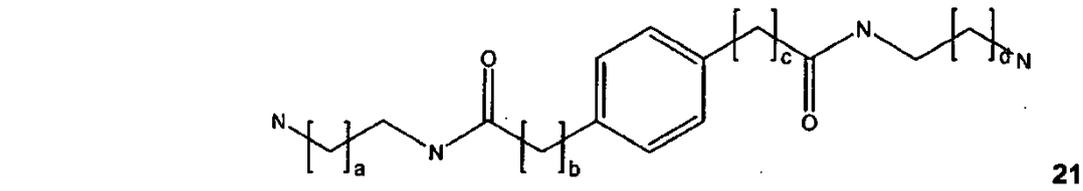
donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, y son números enteros de 1-5, y d es un número entero de 0-100;



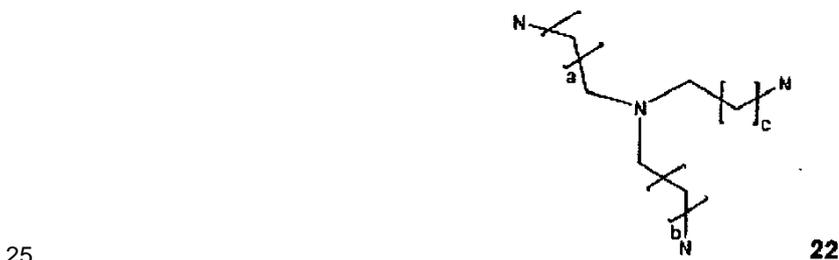
donde a y b, pueden ser iguales o diferentes, y son números enteros de 0 a 5;



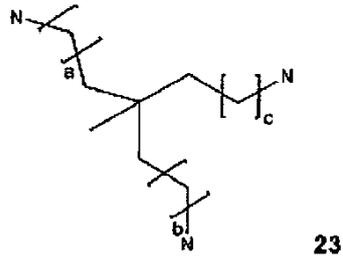
donde a y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6, y donde b es un número entero de 0 a 6;



donde a, y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6, y donde b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6;
un compuesto de triamina seleccionado de entre:

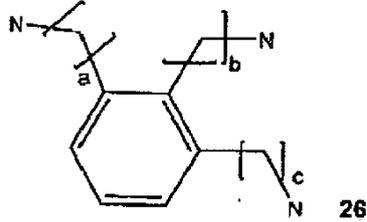
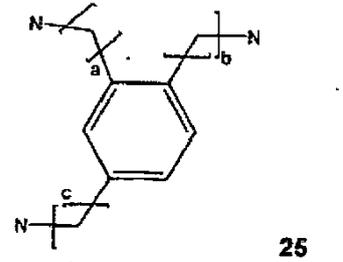
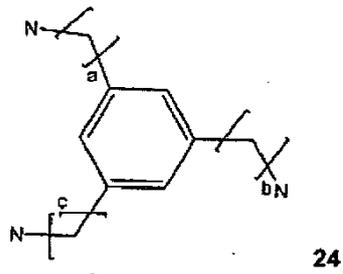


donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6;



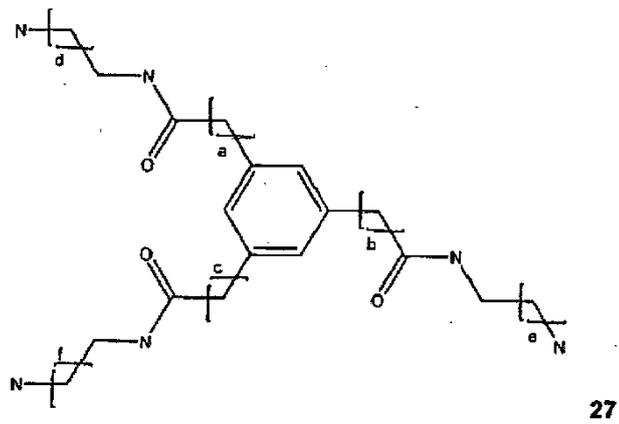
donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6;

5



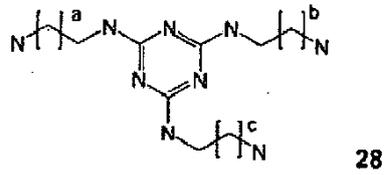
donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6;

10

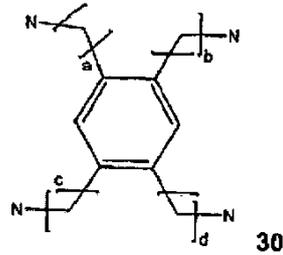
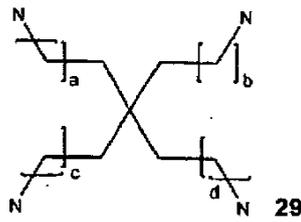


donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6, y donde e y f, que pueden ser

iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6.

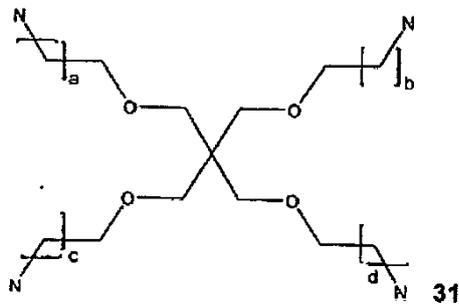


5 donde a, b y c, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6.
o un compuesto de tetraamina seleccionado de entre

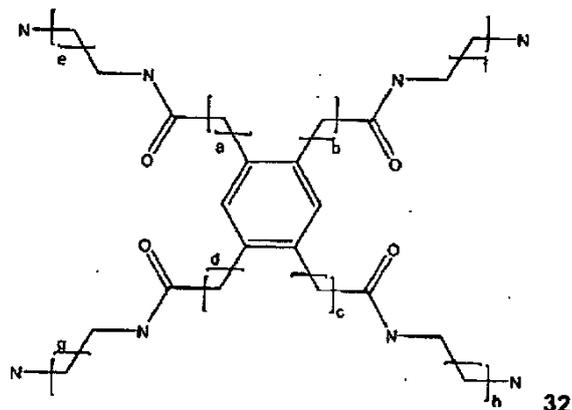


10

donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6



15 donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6



donde a, b, c y d, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 0 a 6, y e, f, g y h, que pueden ser iguales o diferentes, son números enteros de 1 a 6.

5

3. Una macromolécula de acuerdo con la reivindicación 2 que tiene la fórmula:

Núcleo $[[\text{Unidad estructural}]_m[\text{Unidad estructural superficial}]_n[\text{Restos funcionales}]_p]_q$

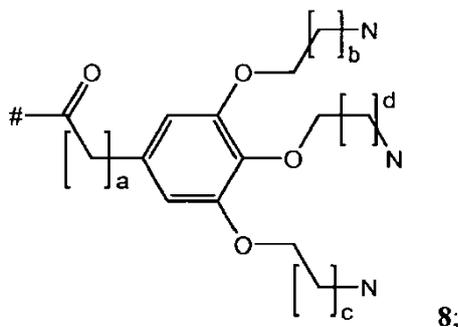
10 donde:

el **núcleo** es tal como se define en la reivindicación 2;

la **unidad estructural** se selecciona de entre Lisina 1, Glicil-Lisina 2, Análogos 3-7 y 9 tal como se definen en la reivindicación 1, y

15

Análogo 8, que tiene la estructura a continuación, donde a es un número entero de 0 a 5; b, c y d son iguales o diferentes y son números enteros de 1 a 5



20

la **unidad estructural superficial**, que puede ser igual que, o diferente de la unidad estructural se selecciona entre Lisina 1, Glicil-Lisina 2; Análogos 3-9 como anteriormente;

los **restos funcionales** incluyen dos o más restos funcionales diferentes seleccionados de entre grupos protectores; ligandos de restos con efecto biológico para receptores extracelulares; modificadores de propiedades; grupos de

25

direccionamiento biológico; grupos de señalización; materiales antigénicos; materiales genéticos; agentes farmacéuticamente activos; grupos adaptados para mediar en la unión a una segunda entidad, y enlazadores;

m representa la suma de unidades estructurales de la una o más capas subsuperficiales de la macromolécula y es un número entero de 1 a 64;

30

n representa el número de unidades estructurales superficiales de la macromolécula y es un número entero de 2 a 64;

p representa el número de restos funcionales en la capa superficial de unidades estructurales y es un número entero de 4 a 128.

q representa el número de motivos dendríticos en el núcleo de la macromolécula y es un número entero de 1 a 4;

4. Un motivo dendrítico de acuerdo con la reivindicación 1 o una macromolécula de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, donde la unidad estructural es lisina, glicil-lisina o Análogo 5, donde a es un número entero de 0 a 2.
- 5 5. Un motivo dendrítico de acuerdo con la reivindicación 1 o una macromolécula de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, donde la unidad estructural superficial es lisina.
6. Una macromolécula de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, donde el núcleo es BHA-Lisina.
- 10 7. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, donde los restos funcionales se seleccionan de entre el grupo que consiste en grupos protectores, modificadores de propiedades, agentes farmacéuticamente activos o precursores de los mismos, grupos para efectuar direccionamiento, grupos para efectuar señalización, material genético, grupos para mediar en la unión a una segunda entidad, y restos de detención en el extremo.
- 15 8. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende un agente farmacéuticamente activo seleccionado de entre grupo que consiste en preparaciones de acetonemia, agentes anabólicos, anestésicos, analgésicos, agentes antiácidos, agentes antiartríticos, anticuerpos, anticonvulsivos, antifúngicos, antihistamínicos, antiinfecciosos, antiinflamatorios, antimetabolitos, agentes antimicrobianos, antimitóticos, agentes antiparasitarios, antiprotozoos, agentes antiúlceras, un agente antitumoral, productos 20 farmacéuticos antivirales, fármacos de modificación del comportamiento, sustitutos de la sangre, broncodilatadores, expectorantes, terapia del cáncer, productos farmacéuticos cardiovasculares, productos farmacéuticos del sistema nervioso central, agentes de contraste, anticonceptivos, diuréticos, terapias para la diabetes, hormonas de crecimiento, productos farmacéuticos de fertilidad, hematínicos, promotores del crecimiento, terapias de reemplazo 25 hormonal, hemostáticos, supresores de inmunidad, hormonas, análogos de hormona, relajantes musculares, productos naturales, nutracéuticos, productos nutricionales, agentes terapéuticos para obesidad, productos farmacéuticos oftálmicos, fármacos para la osteoporosis, agentes terapéuticos para el dolor, proteínas, productos farmacéuticos respiratorios, sedantes, tranquilizantes, productos de trasplante, acidificantes urinarios, adyuvantes y vitaminas.
- 30 9. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende un agente farmacéuticamente activo que es un agente antitumoral seleccionado de entre el grupo que consiste en rituximab, oxaliplatino, docetaxel, gemcitabina, trastuzumab, irinotecán, paclitaxel, bevacizumab, carboplatino, cetuximab, doxorubicina , pemetrexed, epirubicina, bortezomib, topotecán, azacitidina, vinorelbina, mitoxantrona, fludarabina, 35 doxorubicina, alemtuzumab, carmustina, ifosfamida, idarrubicina, mitomicina, fluorouracilo, cisplatino, metotrexato, melfalán, arsénico, denileucina diftitox, citarabina, lefofolinato de calcio, ciclofosfamida, etopósido , Viscum album, mesna, gemtuzumab, ozogamicina, busulfán, pentostatina, cladribina, bleomicina, daunorrubicina, bendamustina, dacarbazina, raltitrexed, vincristina, fotemustina, fosfato de etopósido, porfímero sódico y vinblastina.
- 40 10. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende un agente farmacéuticamente activo que es un agente modulador de la respuesta inflamatoria seleccionado de entre el grupo consistente en diclofenaco, diflunisal, etodolac, fenoprofeno, floctafenina, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, meclofenamato, ácido menámico, mollicam, nabumentona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, sulindac, tenoxicam, ácido tiaprofénico, tolmetina, celecoxib, valdecoxib, rofecoxib, glucosamina, 45 glucocorticoides y corticoides.
11. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende un modificador de propiedad seleccionado de entre el grupo que consiste en un polímero hidrófilo, cadenas de polihidroxilo, oligosacáridos, grupos arilo, grupos heteroarilo, grupos alquilo de cadena larga, esteroides y grupos 50 superficiales cargados.
12. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende un polímero hidrófilo que es PEG.
- 55 13. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende un grupo protector seleccionado de entre el grupo que consiste en Boc, CBz, 4-nitrobenciloxicarbamato (4-NO₂-Nitro-CBz), Fmoc, Dde, CF₃CO₂, 2-halo-CBz, Alloc, Me₃SiEtSO₂, Troc, o-NO₂-PhSO₂, 2,4-dinitrobenceno-sulfonilo y t-butildimetilsililo.
- 60 14. Un motivo dendrítico o macromolécula de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende un resto

funcional que es un resto de detención en el extremo inerte a una reacción química posterior.

15. Una preparación de macromoléculas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-14, donde las macromoléculas muestran al menos un 10% de enriquecimiento en una estequiometría de resto funcional seleccionada en comparación con técnicas aleatorias.
16. Una composición que comprende una macromolécula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-14, junto con un transportador o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 17. Una composición de acuerdo con la reivindicación 16 para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de una infección de transmisión sexual, enfermedad inflamatoria o cáncer.
18. Un proceso para preparar un compuesto que incluye al menos un motivo dendrítico tal como se define en la reivindicación 1, proceso que incluye
- 15 i) proporcionar un primer compuesto estructural que incluye un grupo carbonilo del ápice, unido directa o indirectamente a al menos un grupo amina que porta al menos un resto funcional, que es un grupo protector; y un segundo compuesto estructural que incluye un grupo carbonilo del ápice, unido a al menos un grupo amina, portando el segundo compuesto estructural un primer y un segundo resto funcional uno de los cuales está unido al grupo amina;
- 20 ii) activar el grupo amina en el primer compuesto estructural retirando el grupo protector;
- 25 iii) activar el carbonilo del ápice del segundo compuesto estructural; y
- iv) hacer reaccionar el primer compuesto estructural desprotegido con el grupo carbonilo del ápice del segundo compuesto estructural; opcionalmente reiterar dichas etapas;
- 30 para preparar el motivo con la topología de resto funcional de capa superficial de la reivindicación 1.

Figura 1

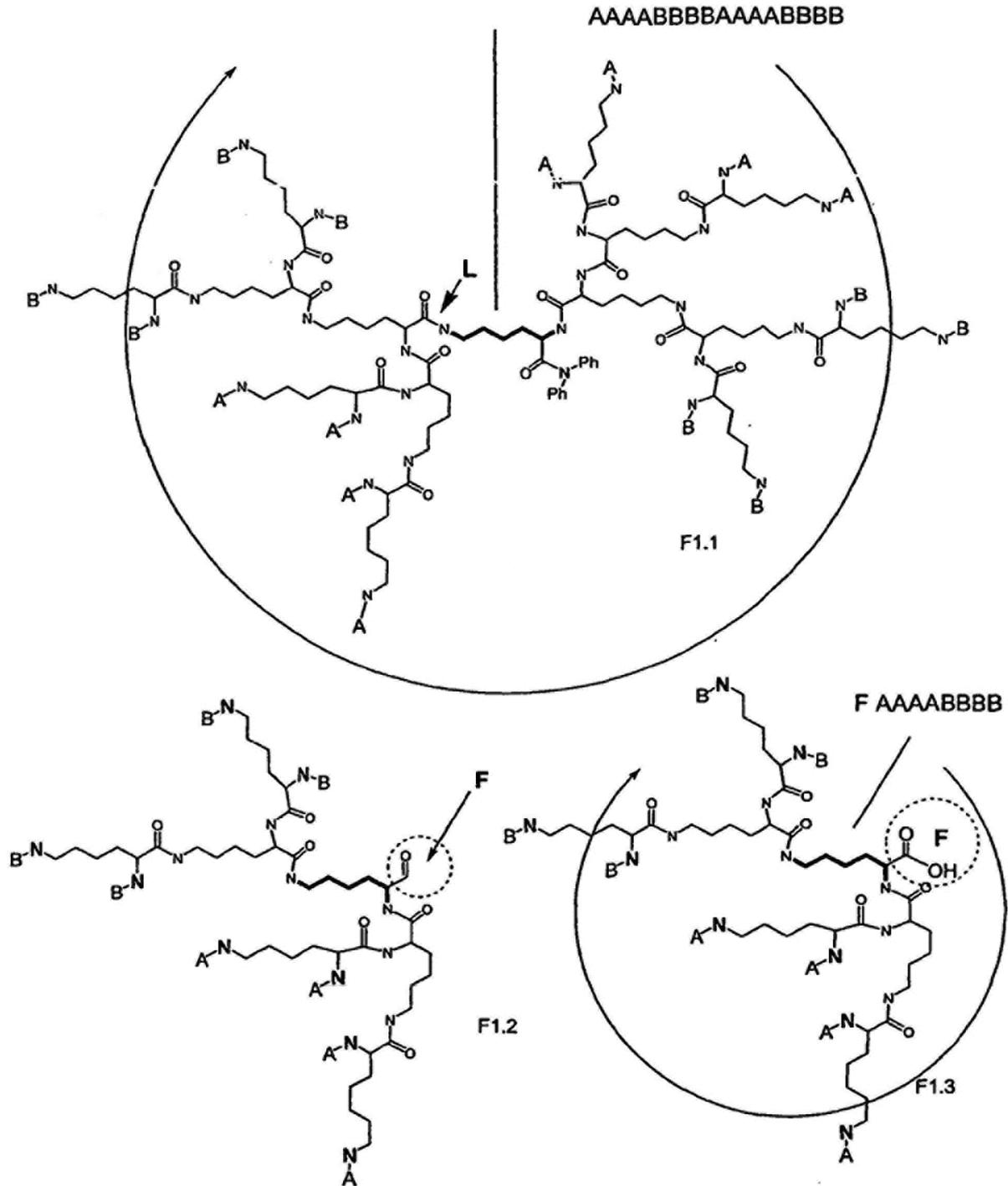
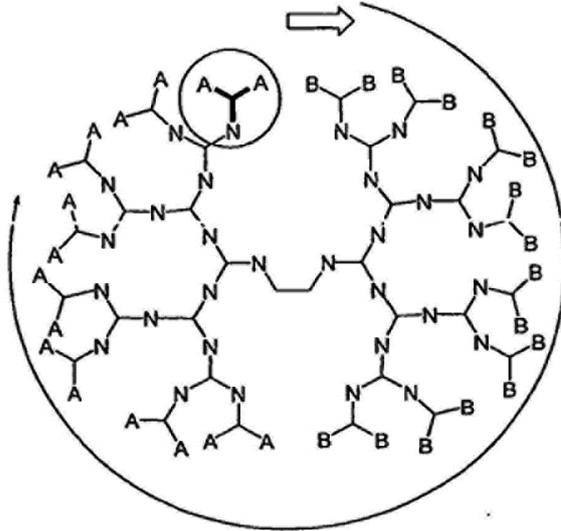
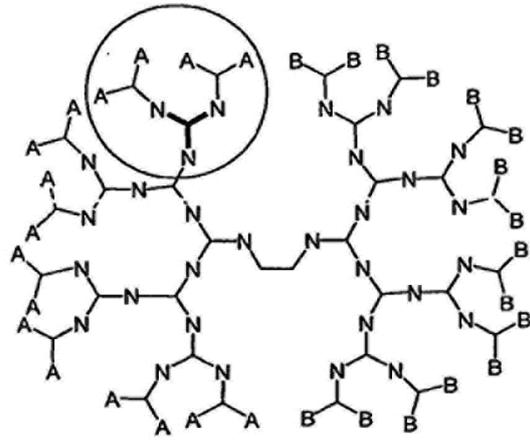


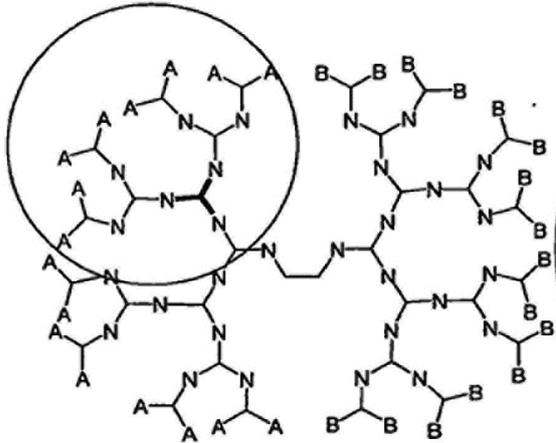
Figura 2



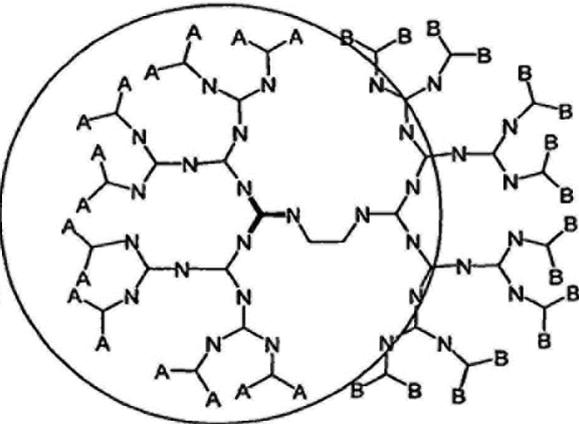
F2.1 $((BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB)(BB))$
 $((AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA)(AA))$



F2.2 $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$
 $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$



F2.3 $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$
 $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$



F2.4 $((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4((BB)(BB))^4$
 $((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4((AA)(AA))^4$

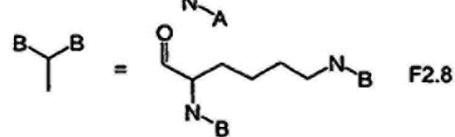
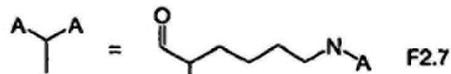
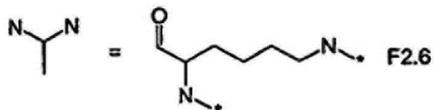
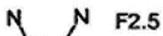
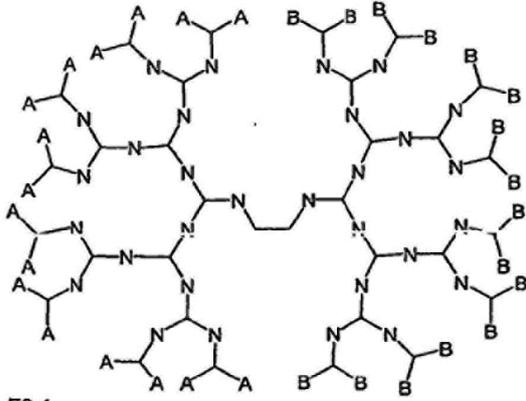
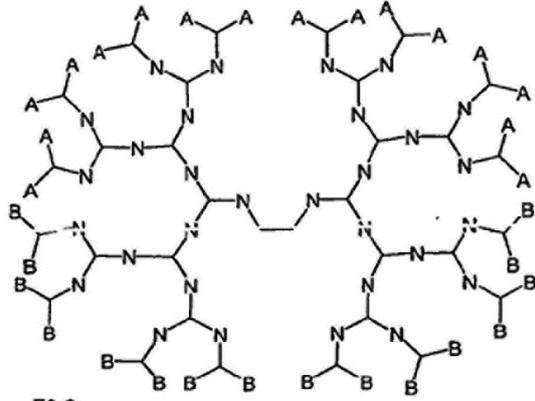
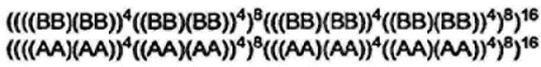


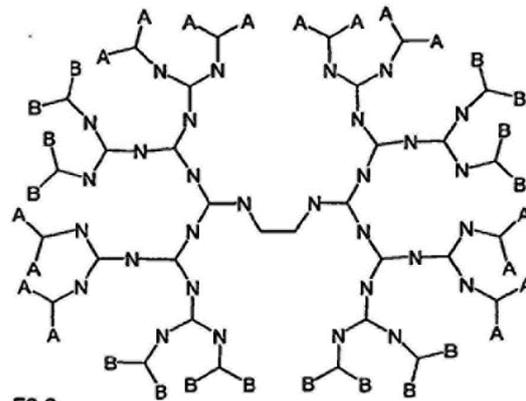
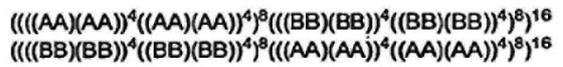
Figura 3



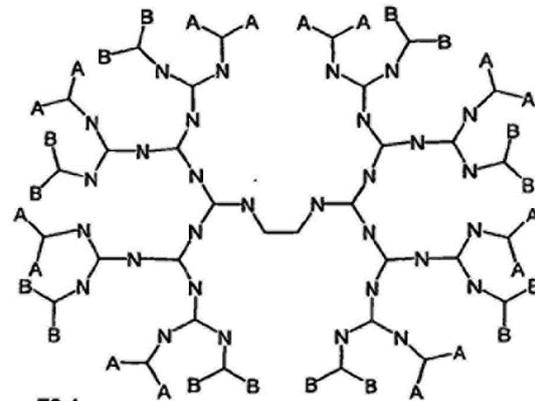
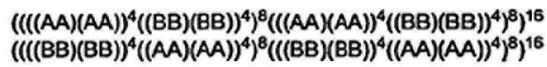
F3.1



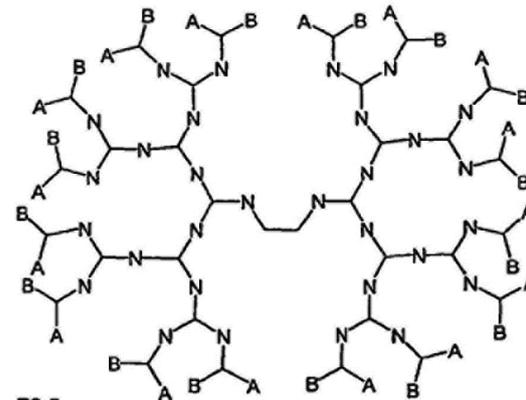
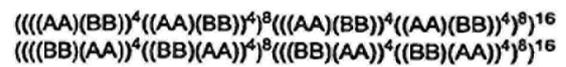
F3.2



F3.3



F3.4



F3.5

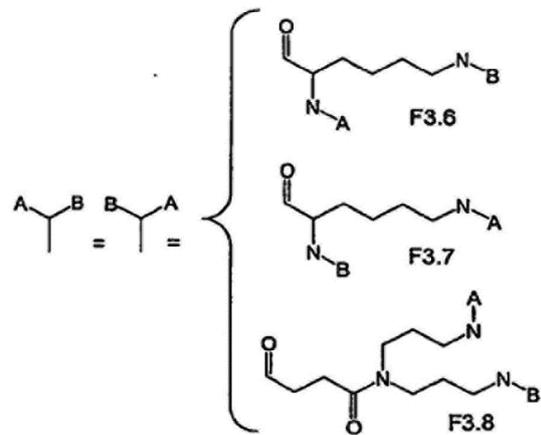
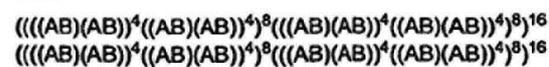
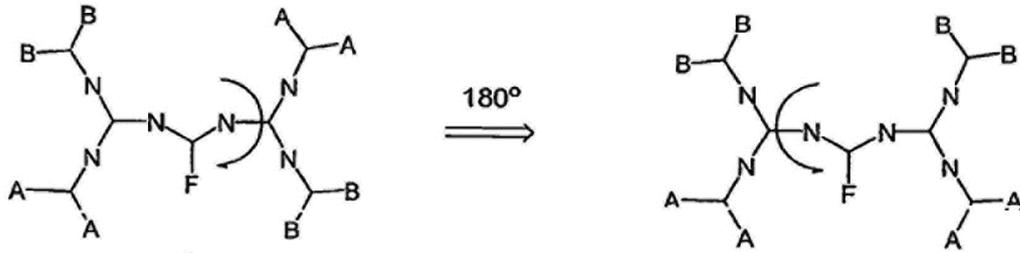
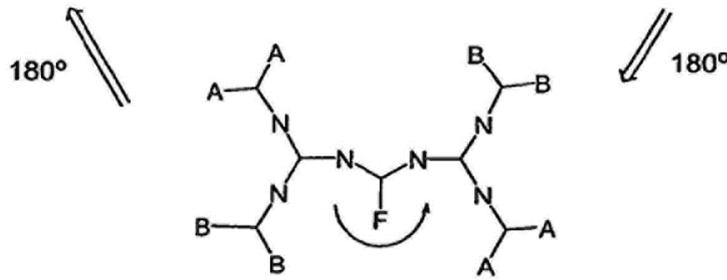


Figura 4

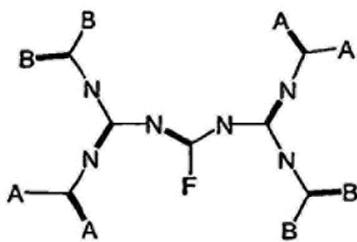


F4.1 $((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4)^8$

F4.2 $((BB)(AA))^4((AA)(BB))^4)^8$

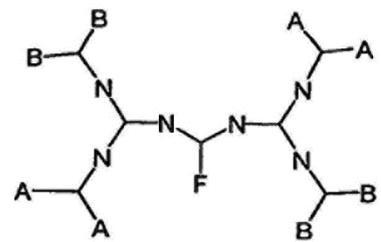


F4.3 $((BB)(AA))^4((BB)(AA))^4)^8$



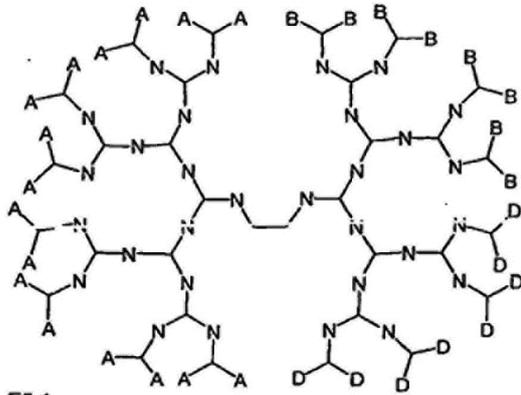
F4.4 $((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4)^8$

“Simetrización”

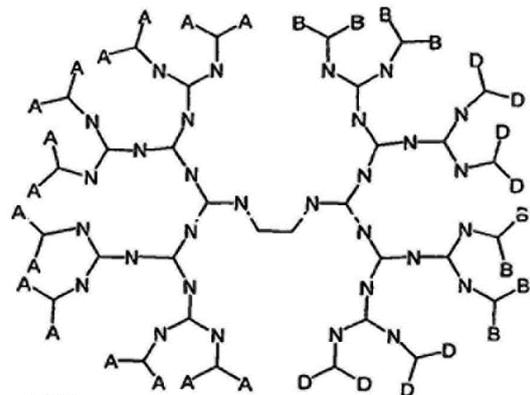
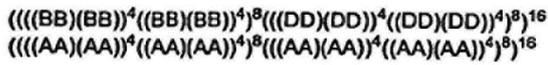


F4.5 $((AA)(BB))^4((AA)(BB))^4)^8$

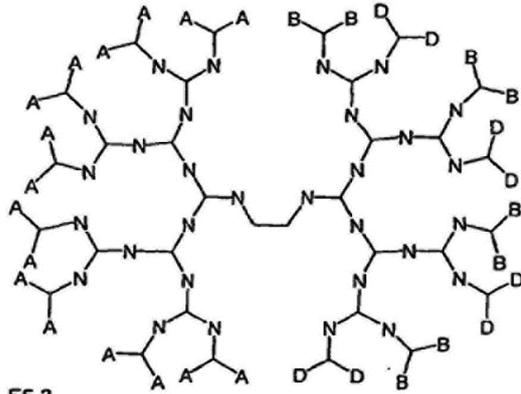
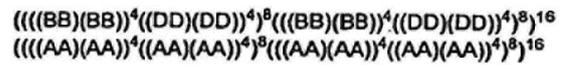
Figura 5



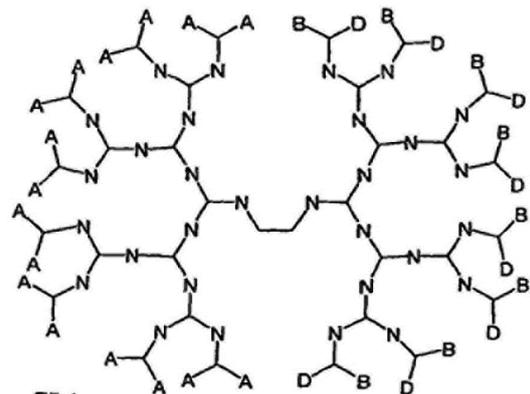
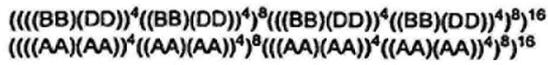
F5.1



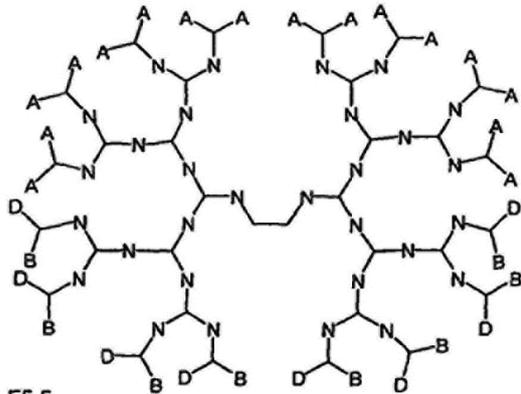
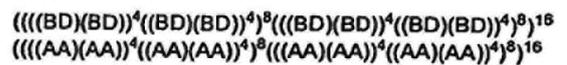
F5.2



F5.3



F5.4



F5.5

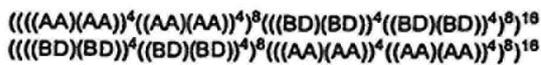
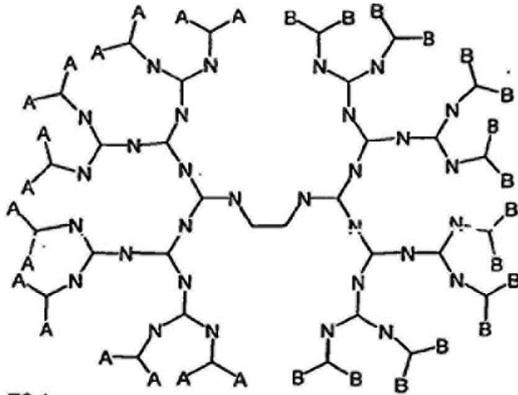
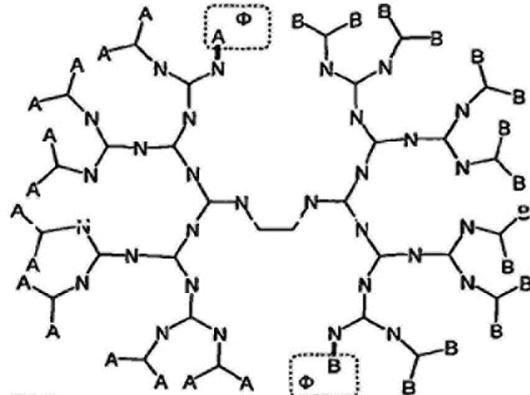


Figura 6



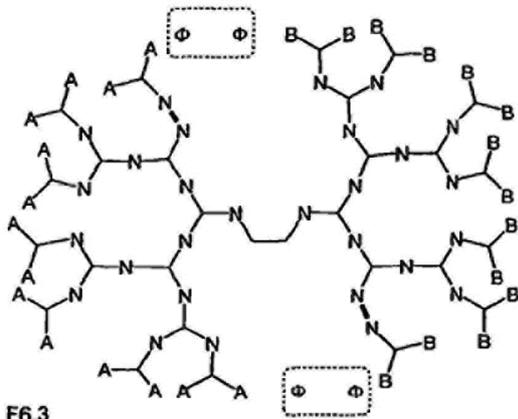
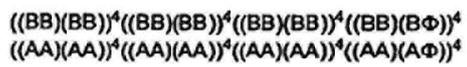
F6.1

$$FM_{Max} = FM_{Total} = 32$$



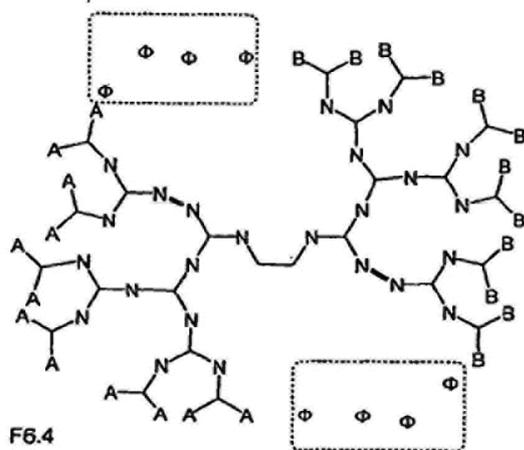
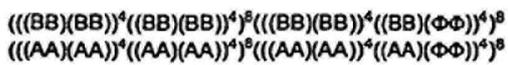
F6.2

$$FM_{Max} = FM_{Total} + \Sigma\Phi = 30 + 2 = 32$$



F6.3

$$FM_{Max} = FM_{Total} + \Sigma\Phi = 28 + 4 = 32$$



F6.4

$$FM_{Max} = FM_{Total} + \Sigma\Phi = 24 + 8 = 32$$



F6.5

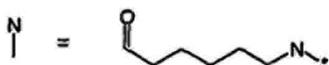
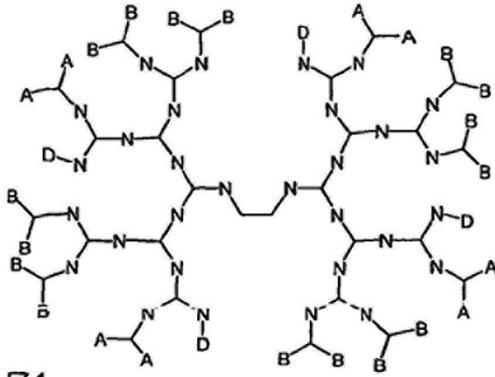
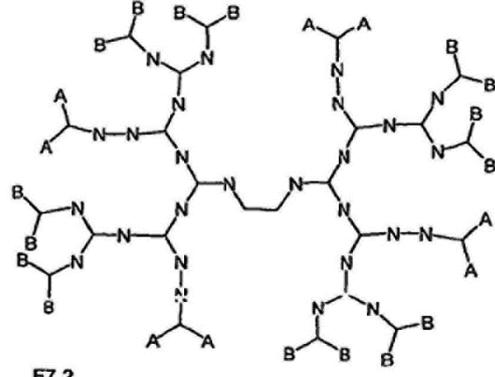
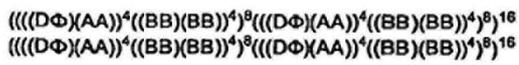


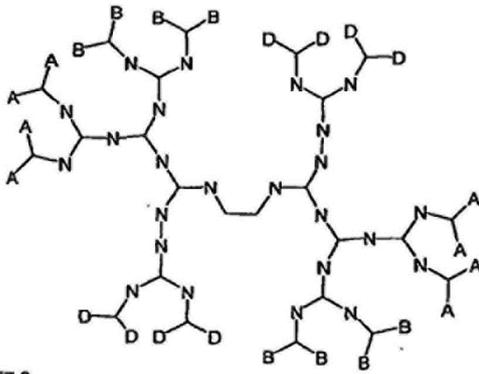
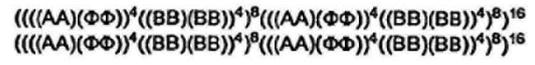
Figura 7



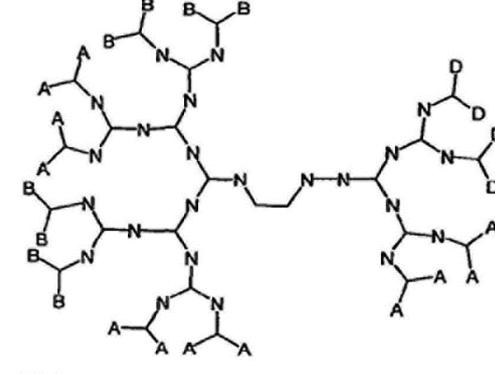
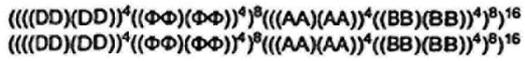
F7.1



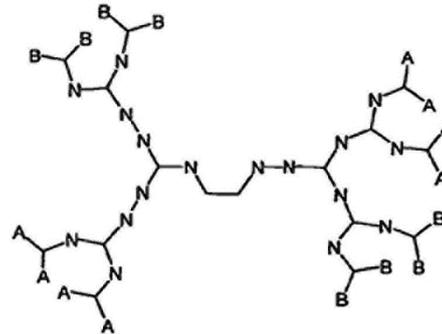
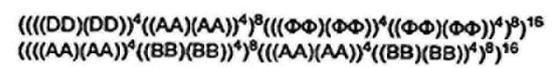
F7.2



F7.3



F7.4



F7.5

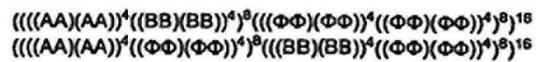
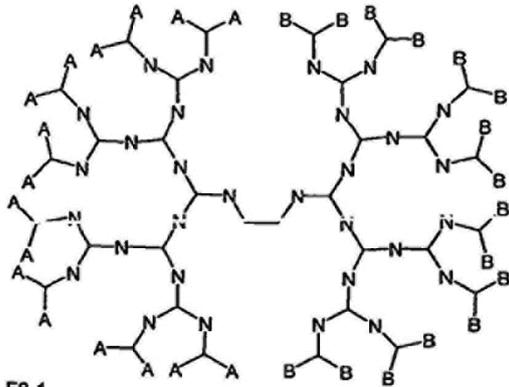
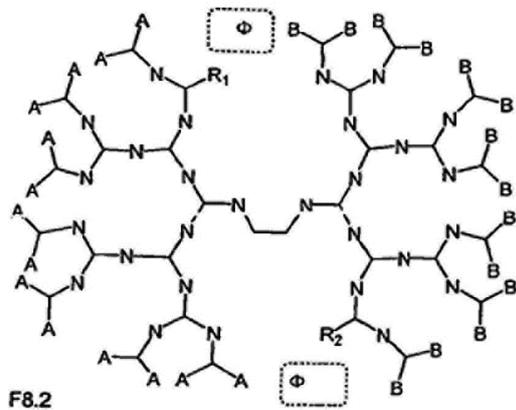


Figura 8



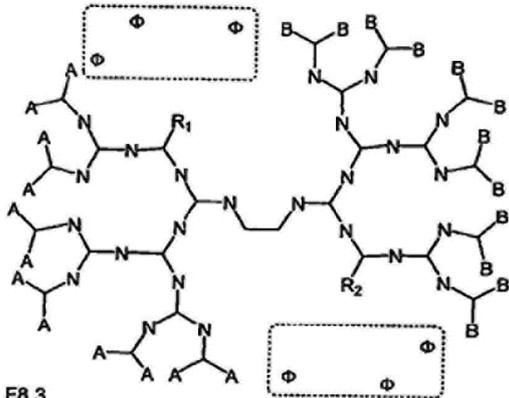
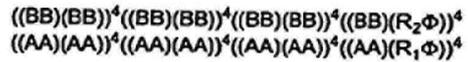
F8.1

$$N_{Max} = N_{Total} = 32$$



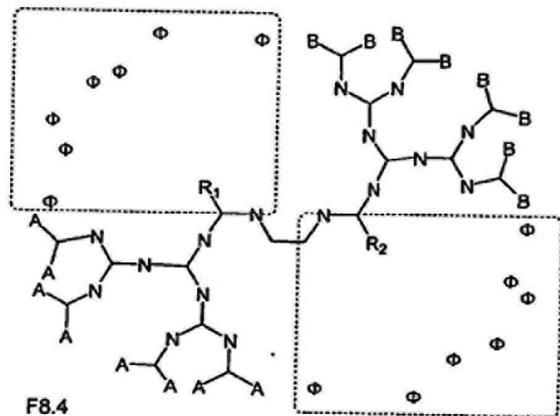
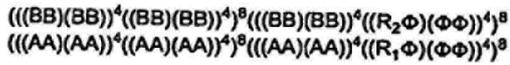
F8.2

$$N_{Max} = N_{Total} + \Sigma\Phi = 30 + 2 = 32$$



F8.3

$$N_{Max} = N_{Total} + \Sigma\Phi = 26 + 6 = 32$$



F8.4

$$N_{Max} = N_{Total} + \Sigma\Phi = 18 + 14 = 32$$

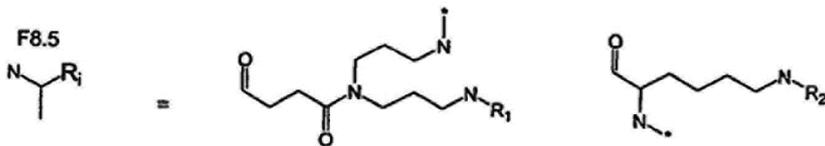
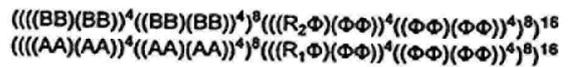


Figura 9

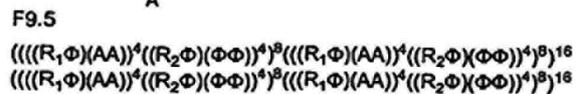
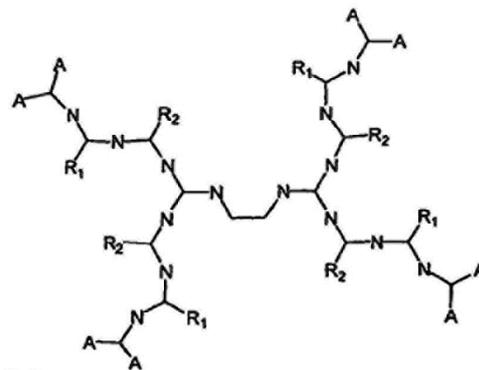
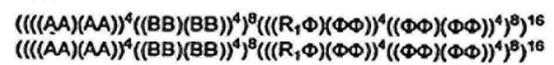
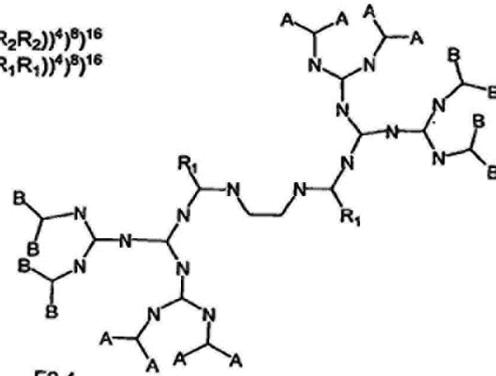
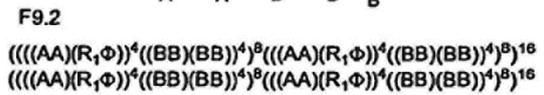
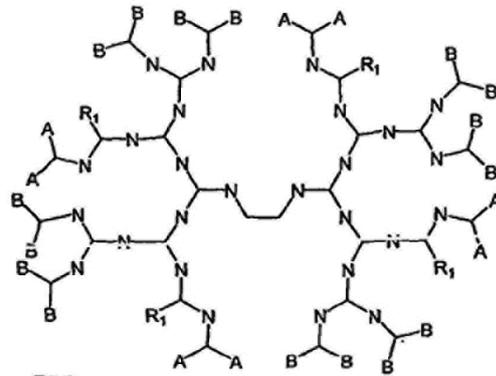
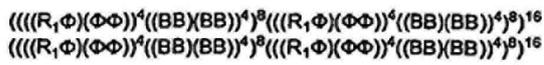
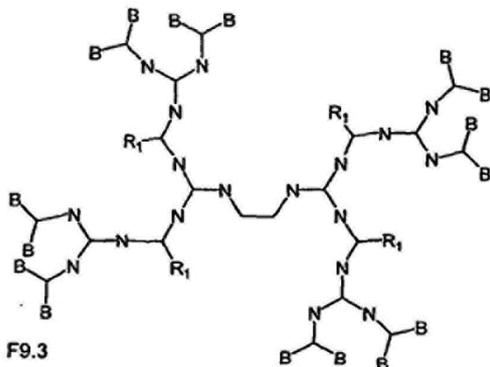
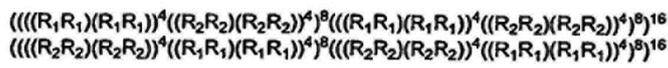
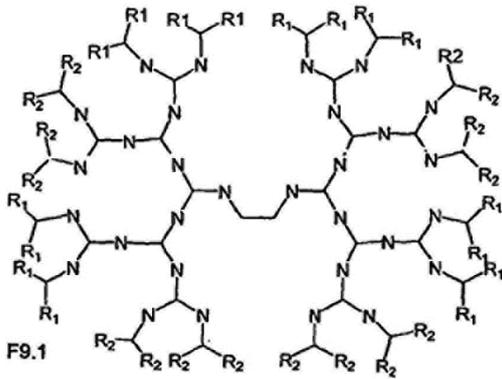


Figura 10

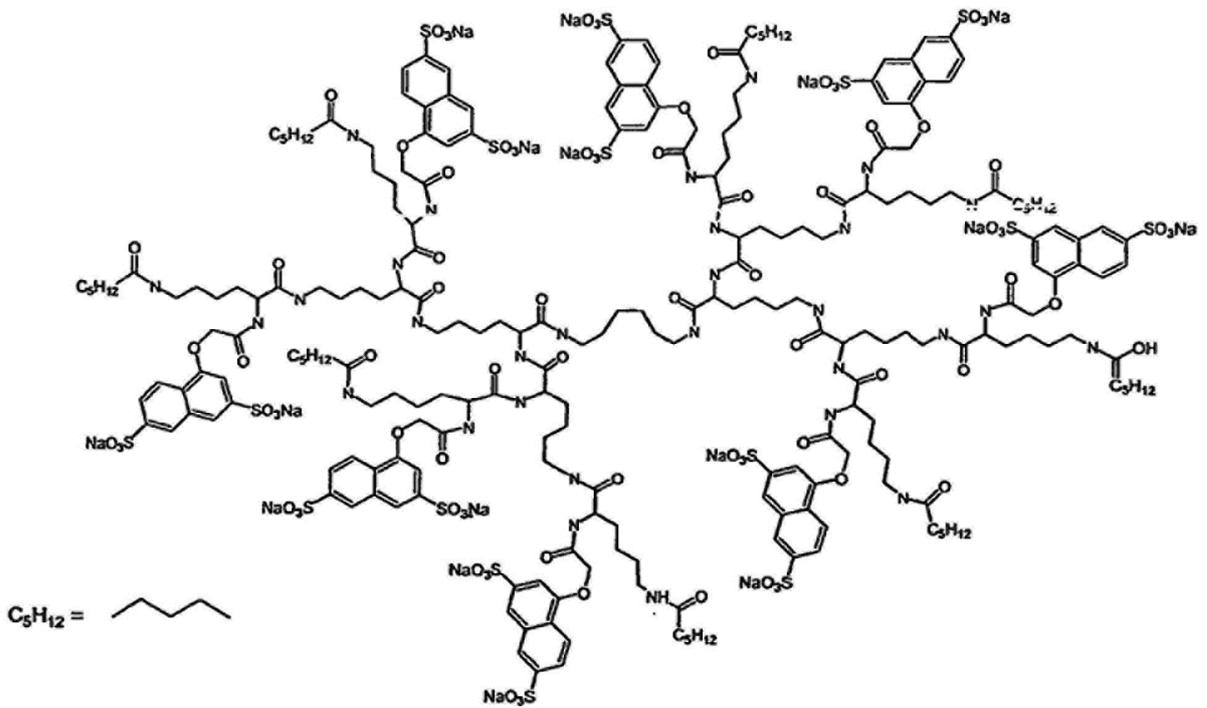


Figura 11

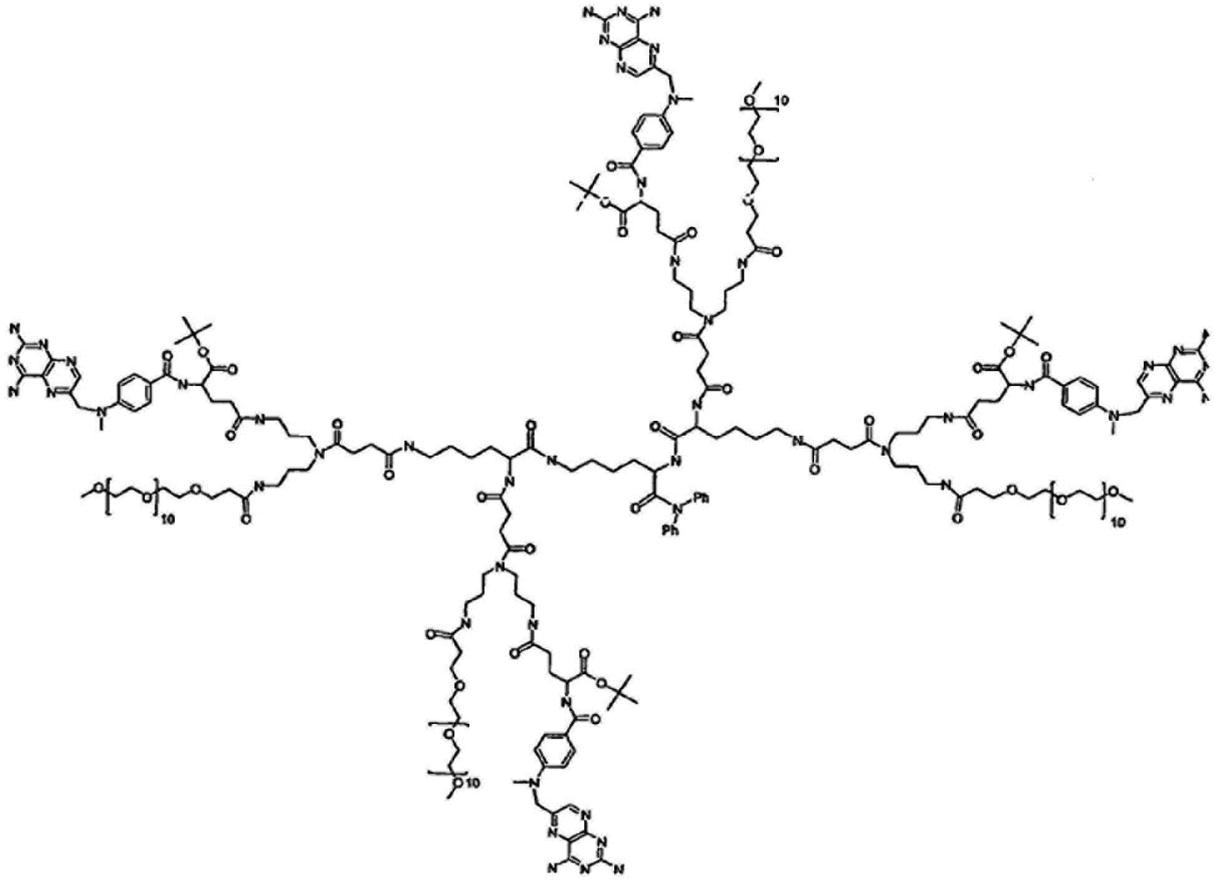


Figure 12

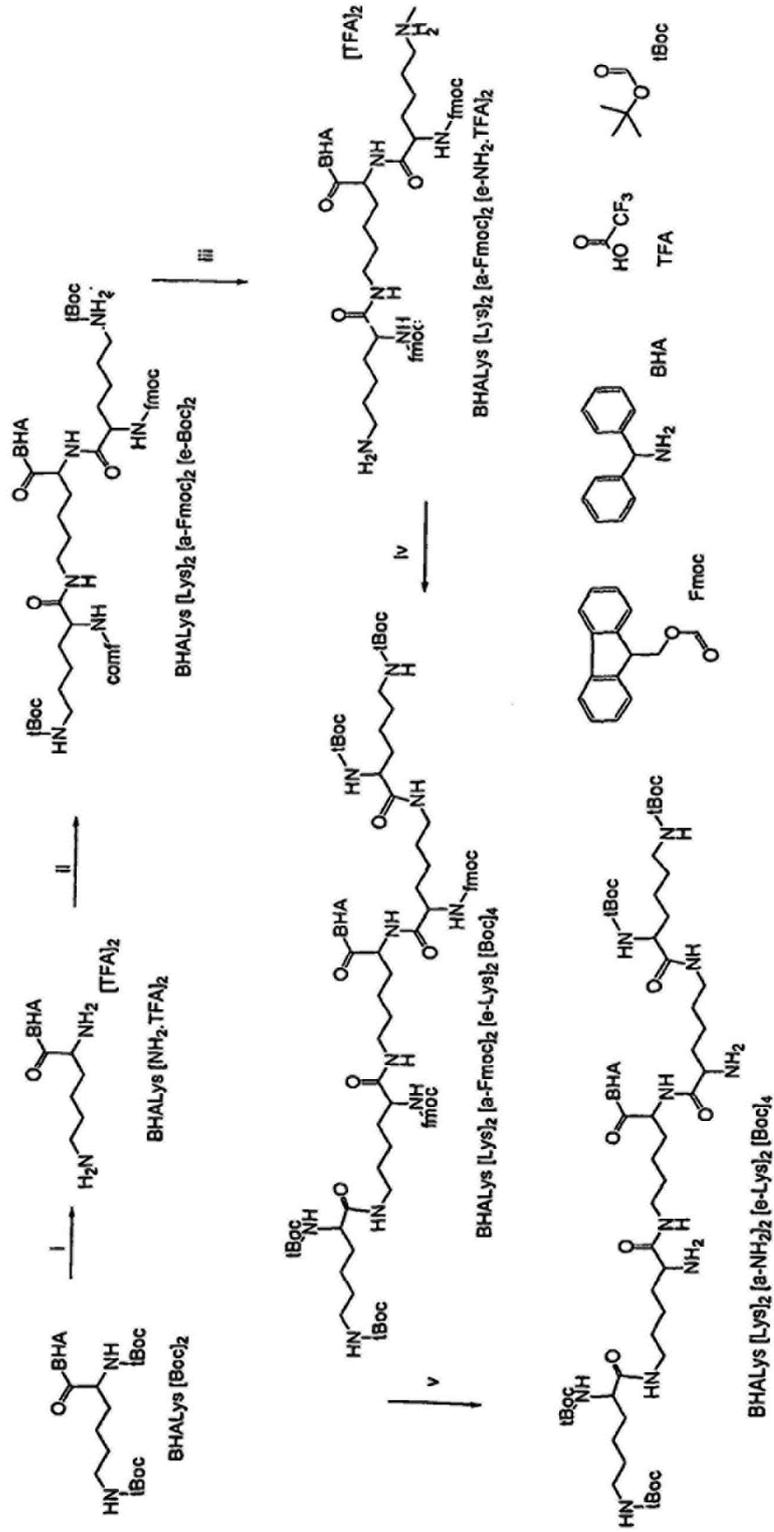


Figure 13

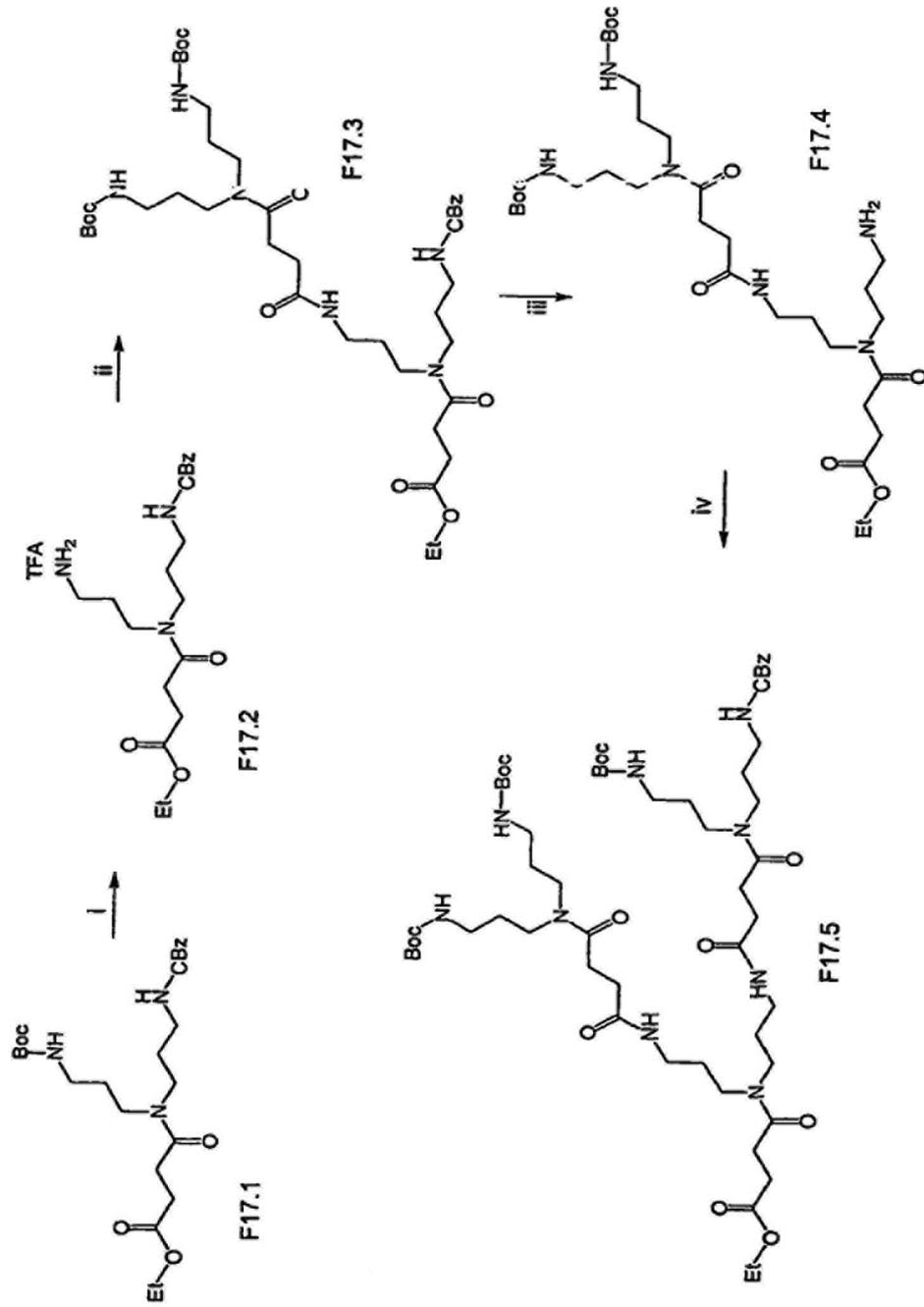


Figura 14A

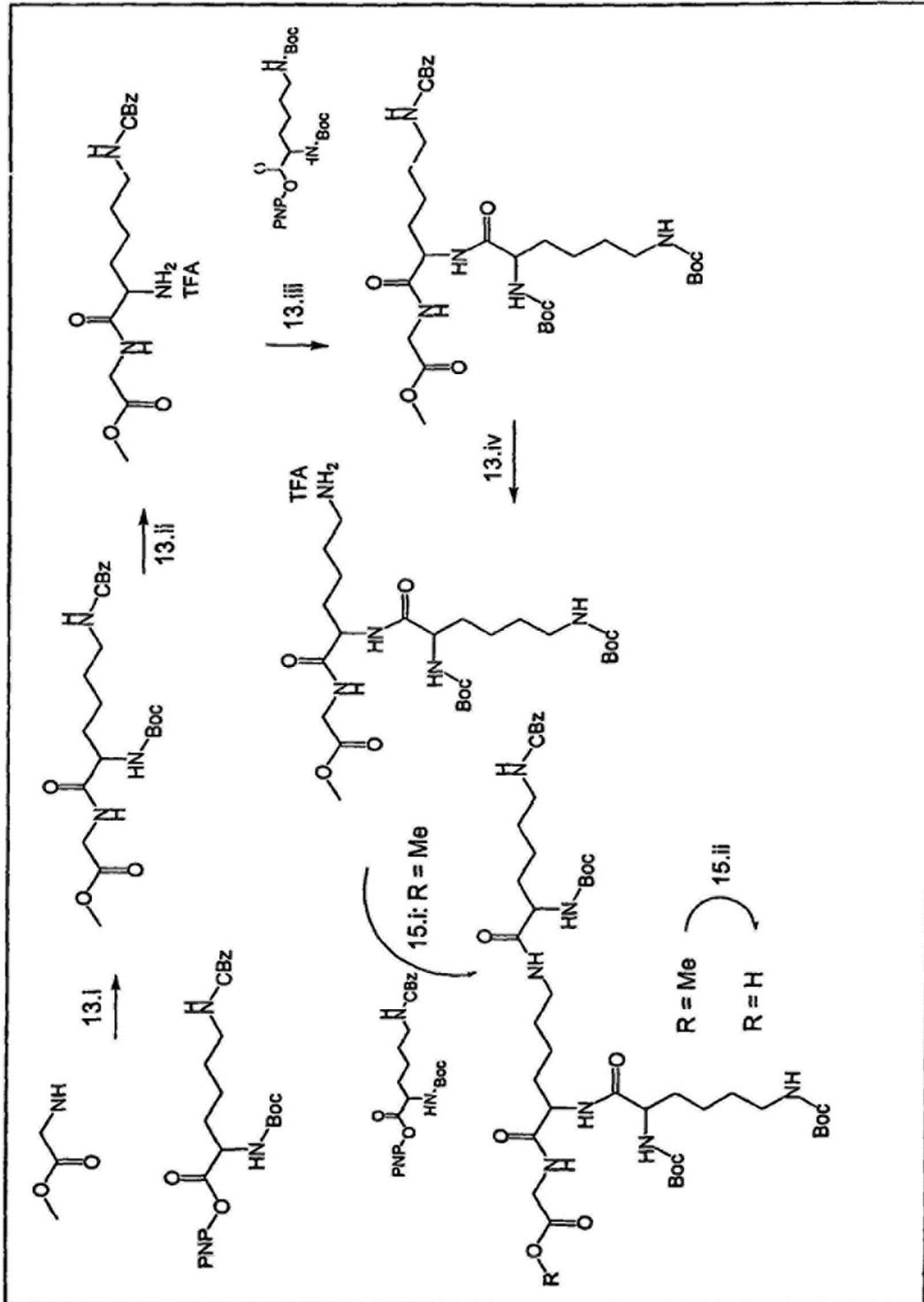


Figura 14B

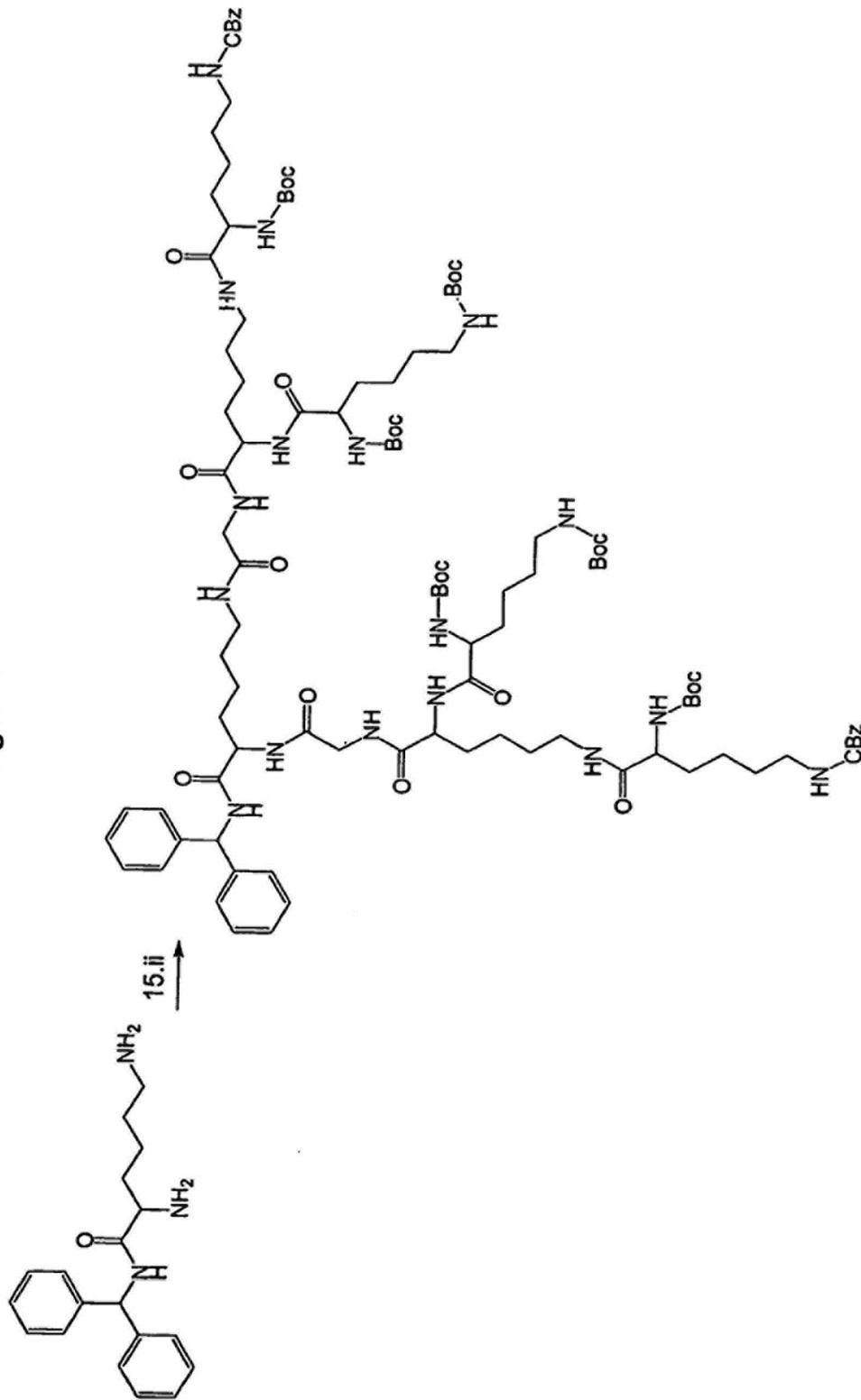


Figura 15A

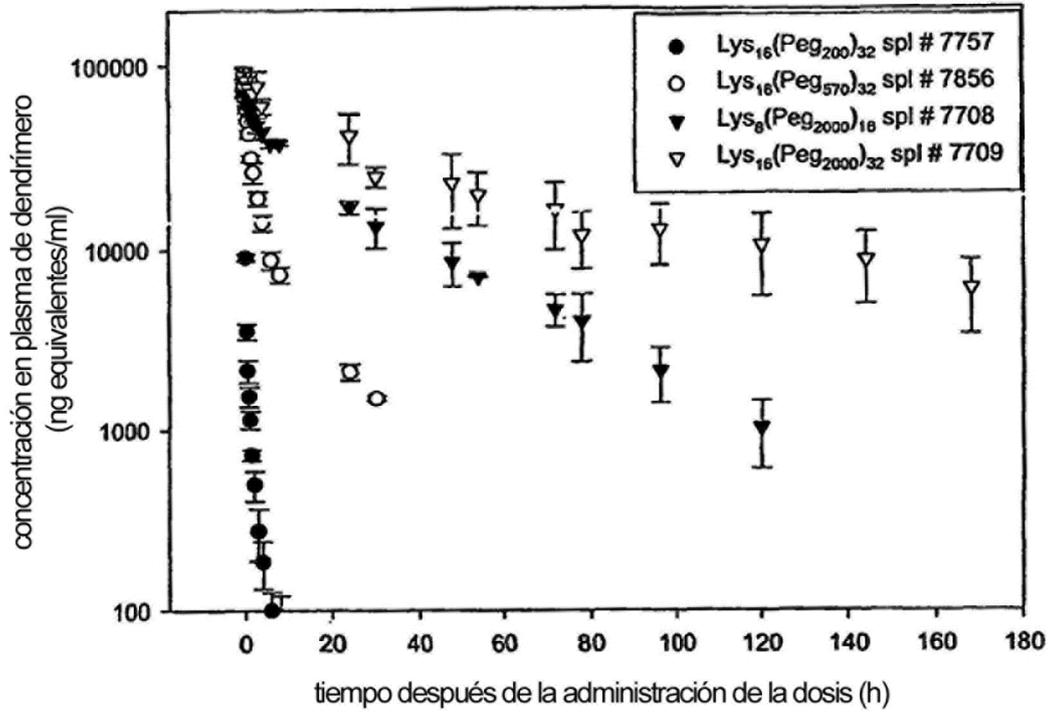


Figura 15B

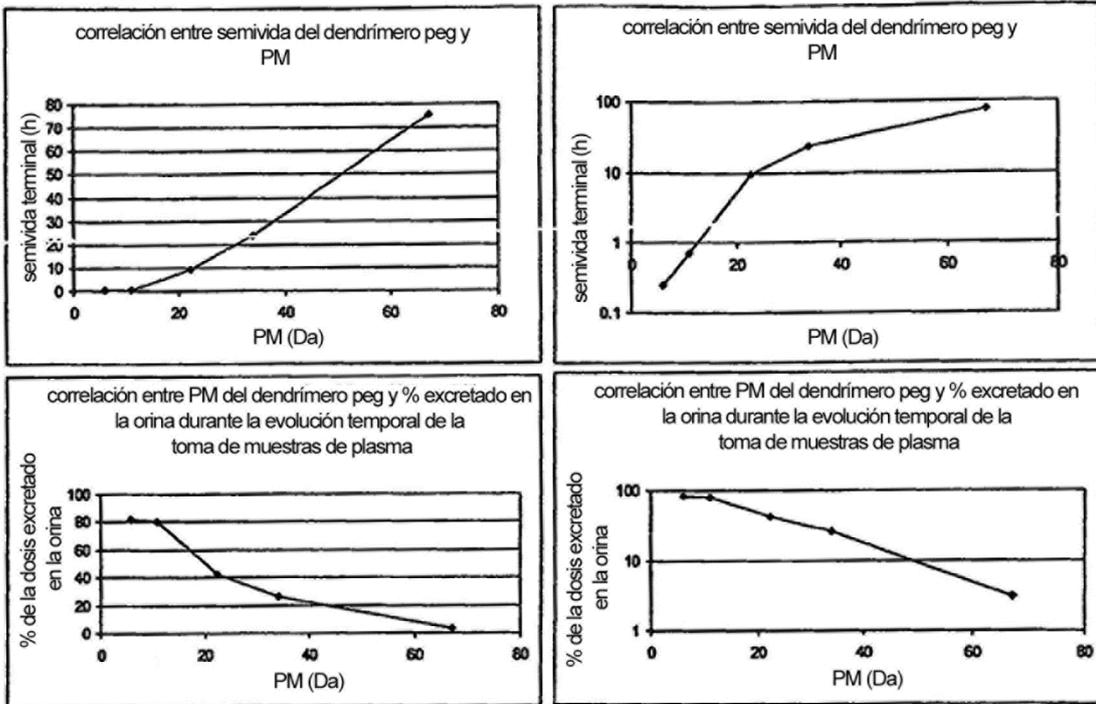
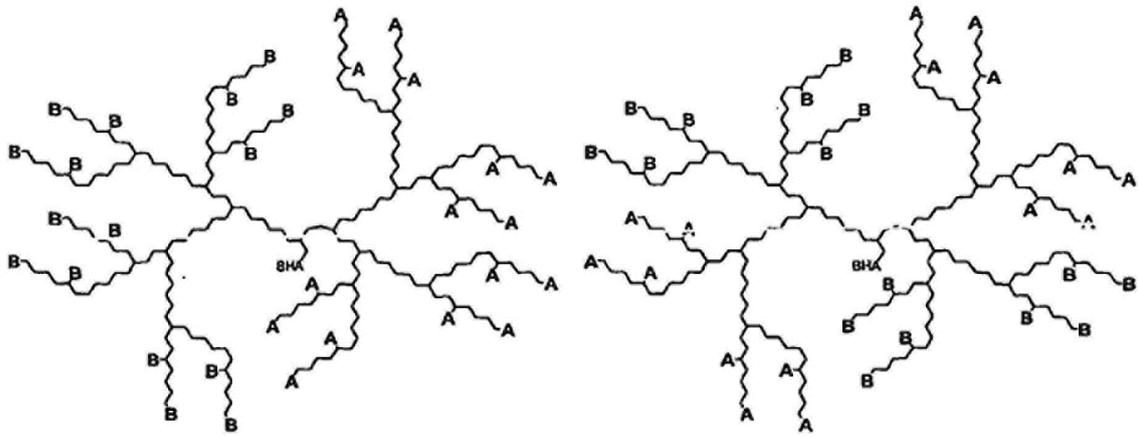
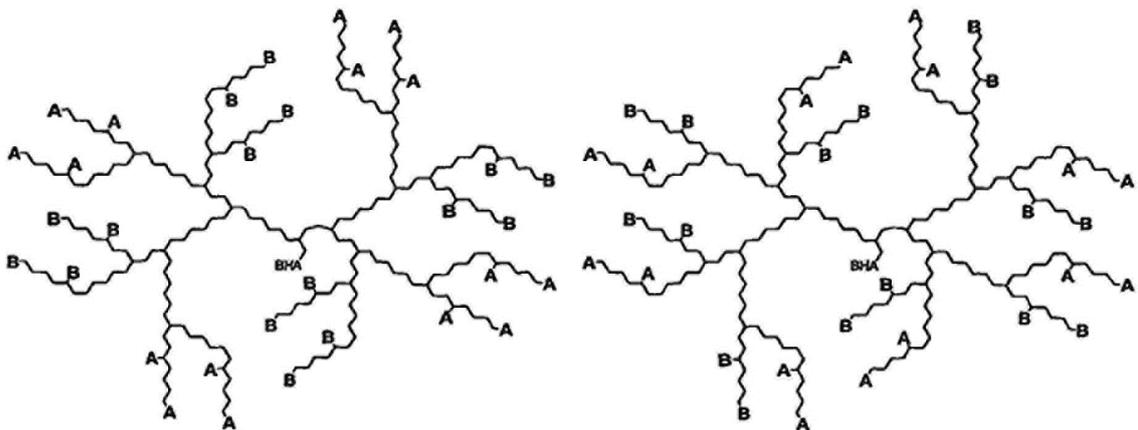


Figura 16



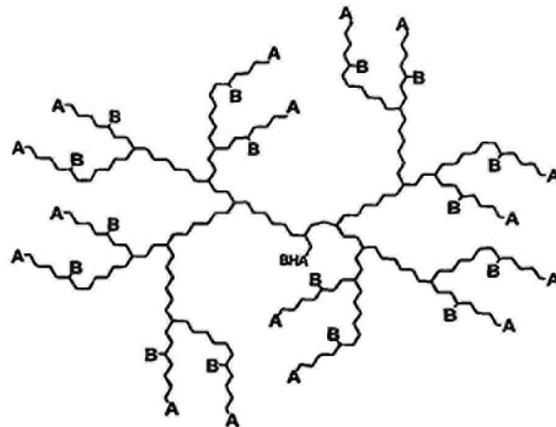
Ejemplo 65.1

Ejemplo 65.2



Ejemplo 65.3

Ejemplo 65.4

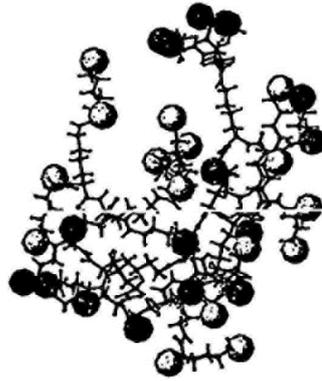


Ejemplo 65.5

Figura 17



(a) Ejemplo 65.1



(b) Ejemplo 65.2



(c) Ejemplo 65.3



(d) Ejemplo 65.4



(e) Ejemplo 65.5

Figura 18

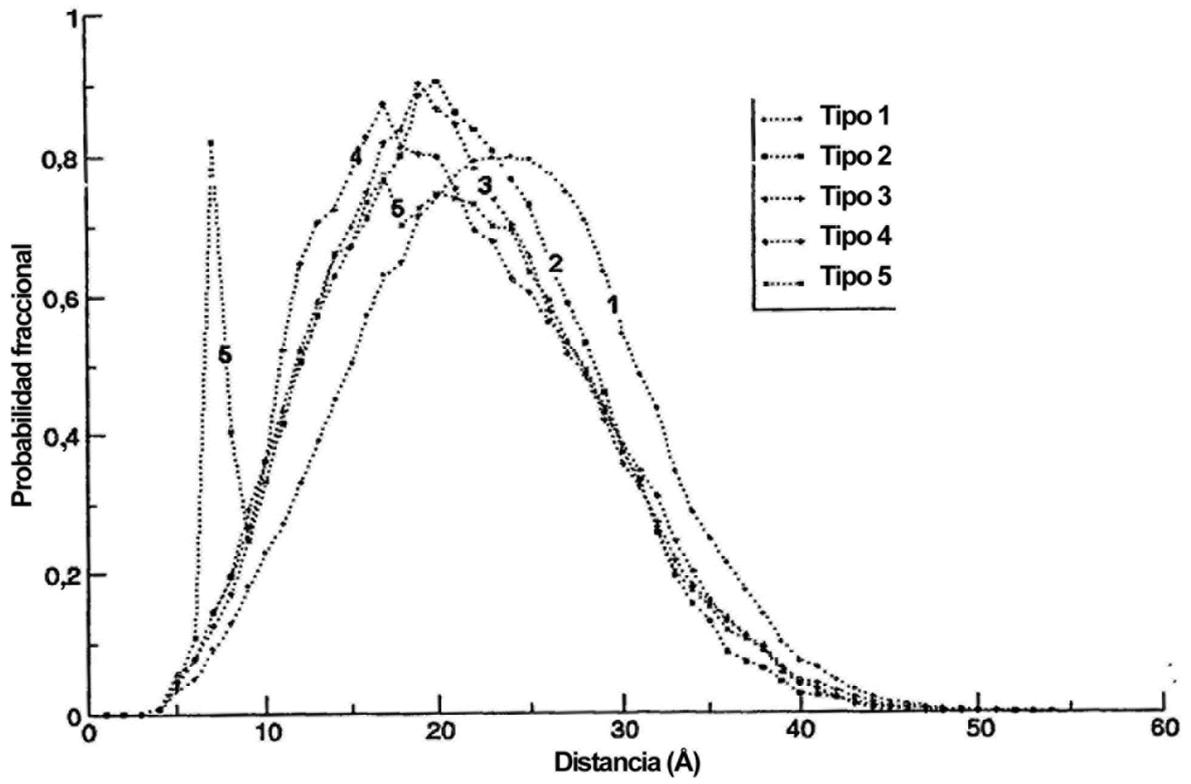


Figura 19

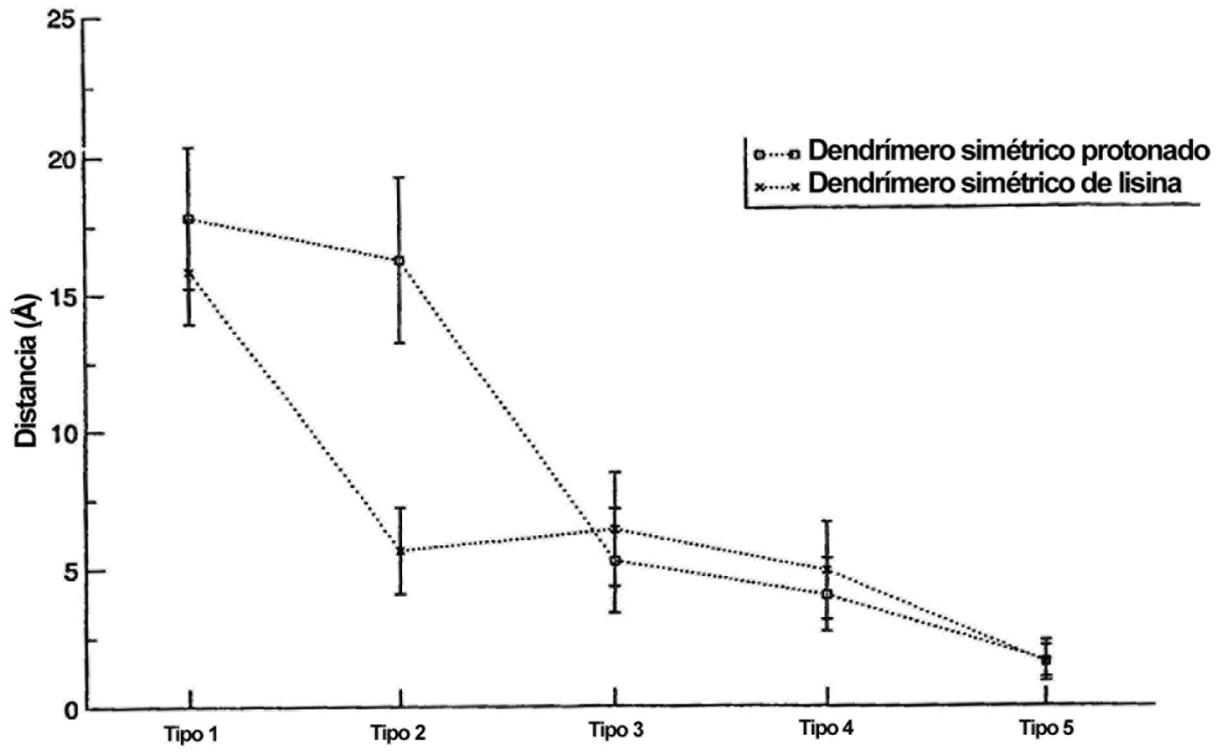


Figura 20

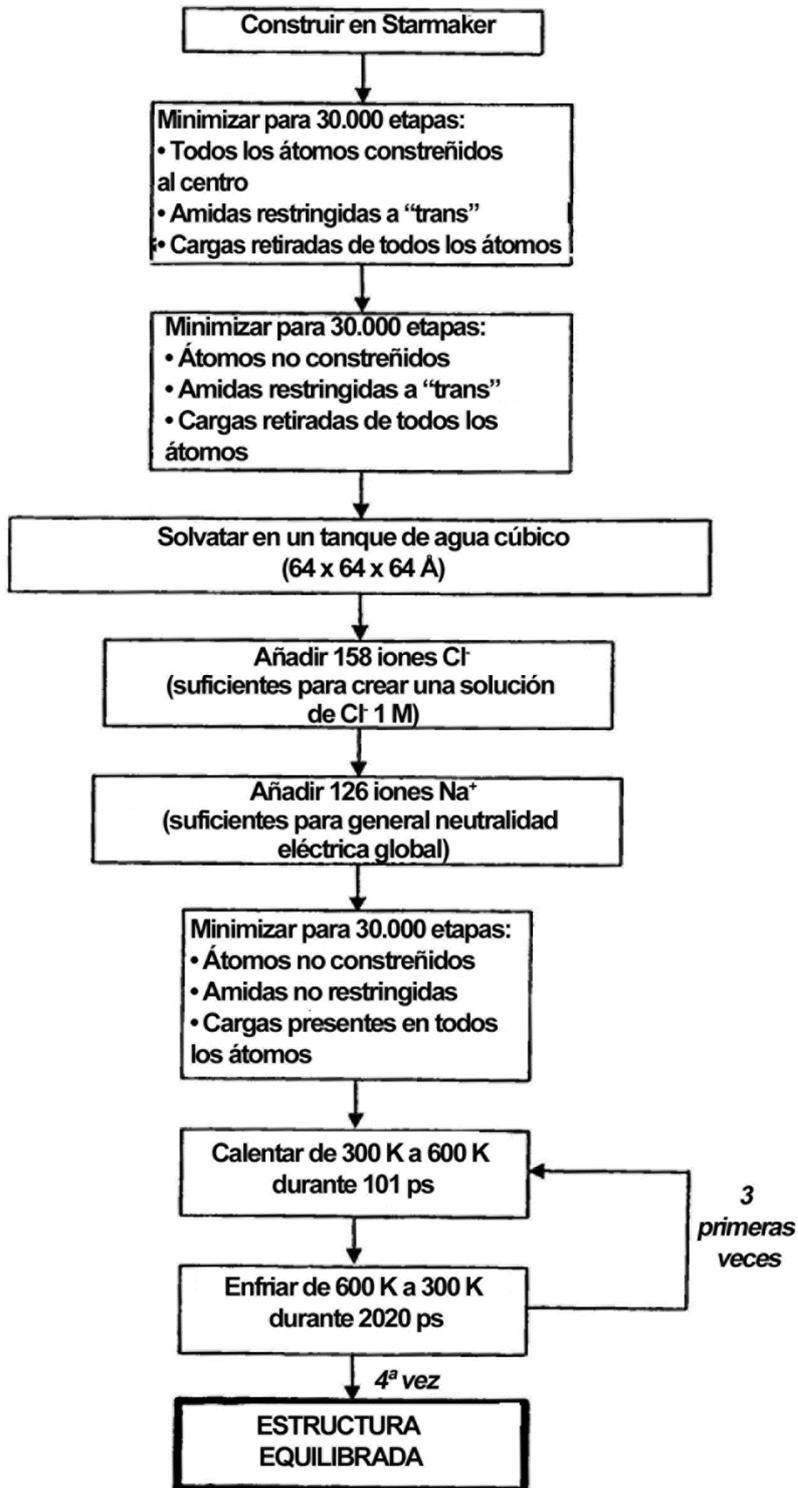


Figura 21

